

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**



Inhibición *in Vitro* del Crecimiento Micelial de la Enfermedad Moho Gris (*Botrytis cinerea*) por Tres Diferentes Extractos Hidrosolubles de Gobernadora [*Larrea tridentata* (D.C.) Coville]

Por:

OSCAR GORDILLO MEZA

T E S I S

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila.

Octubre 18 del 2004

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO**

**INHIBICIÓN *InVitro* DEL CRECIMIENTO MICELIAL DE LA ENFERMEDAD MOHO
GRIS (*Botrytis cinerea*) POR TRES DIFERENTES EXTRACTOS HIDROSOLUBLES DE
GOBERNADORA [*Larrea tridentata* (D.C.) COVILLE]**

PRESENTADA POR:

OSCAR GORDILLO MEZA

T E S I S D E L I C E N C I A T U R A

**QUE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

APROBADA POR:

PRESIDENTE DEL JURADO

DRA. NORMA ANGELICA RUIZ TORRES

DIRECTOR DE TESIS (CIQA)

SINODAL

DR. RICARDO HUGO LIRA SALDIVAR

ING. ADRIANA ANTONIO BAUTISTA

SINODAL (SUPLENTE)

ING. JOSE A. DE LA CRUZ BRETON

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

M.C. ARNOLDO OYERVIDES GARCÍA

DEDICATORIAS.

A DIOS. Por permitirme la dicha de vivir, por fortalecer mi espíritu y fe para continuar, iluminando mi camino en los momentos difíciles por los cuales he pasado y guiarme por el camino del bien.

A MI HERMANO MACARIO GORDILLO MEZA. Quien con su ejemplo, dedicación logro hacer de mi un hombre de provecho y a quien debo lo que soy .

A MIS PADRES. Por estar conmigo en mis alegrías y no abandonarme en los momentos difíciles, por haber contribuido en mi formación como persona y el apoyo moral que siempre me han brindado.

A MI HERMANA MARINA GORDILLO MEZA . Por que a pesar de la distancia y el tiempo y el valor que representa su presencia en mi vida sigamos unidos como hasta hoy.

A MIS HERMANOS

Ma. Trinidad Gordillo Meza

Rocío Gordillo Meza

Claudia Gordillo Meza

Ezequiel Gordillo Meza.

Con quienes he compartido muchas experiencias en mi vida y que me han hecho sentir su cariño y amistad en todo momento.

A TI ADRIANA.

Con quien he vivido una experiencia agradable y por tu gran apoyo en todo momento

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO. Por haberme brindado la oportunidad de ser parte de ella por las facilidades que me otorgo en mi formación profesional y por otórgame el privilegio de ser un egresado de una mas de sus generaciones.

AL DR. R. HUGO LIRA SALDIVAR Por su amistad y confianza mis mas sincero agradecimiento y admiración, por ser un gran ejemplo de trabajo y dedicación y por las palabras de aliento y consejos que siempre tendré en cuenta y por haber confiando en mi para la realización de este trabajo.

DRA. NORMA A. RUIZ TORRES. Por todo su interés y dedicación que me brindo en la revisión para la realización de este trabajo.

ING. ADRIANA ANTONIO B. Por su colaboración en la revisión de este trabajo.

ING. JOSE A. DE LA CRUZ BRETON. Por su apoyo brindado en la revisión de este trabajo.

FAM. MEZA SÁNCHEZ. Doy un muy sincero agradecimiento pues gracias a sus consejos y palabras de aliento me hicieron sentir como en casa y por su apoyo incondicional.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS. con quienes compartí momentos de alegría y que en todo momento me apoyaron e hicieron que mi estancia en la Universidad fuera mas amena.

RESUMEN

Inhibición *in Vitro* del Crecimiento Micelial de la Enfermedad Moho Gris (*Botrytis cinerea*) por Tres Diferentes Extractos Hidrosolubles de Gobernadora [*Larrea tridentata* (D.C.) Coville]

A partir de la cosecha de follaje de gobernadora y de la utilización de dos solventes orgánicos: etanol y metanol, e hidróxido de sodio, se procedió a la extracción de la resina contenida en las hojas de este arbusto, para contar con el material biológico que se utilizó en la realización de nueve bioensayos que se realizaron por separado, para analizar bajo condiciones de laboratorio su efectividad antifúngica en una cepa del hongo *Botrytis cinerea*, causante de la enfermedad conocida como moho gris, la cual afecta a numerosos cultivos de gran importancia económica como vid, fresa, frambuesa, zarzamora, rosas, y muchos otros cultivos básicos y hortofrutícolas. Los tres extractos antes mencionados se evaluaron a tres concentraciones de sólidos totales o ingrediente activo (40, 30 y 20 %).

Los resultados obtenidos en este trabajo preliminar arrojaron evidencias claras y consistentes de que los tres extractos hidrosolubles evaluados (etanólico, metanólico y sódico), producidos a nivel de planta piloto en las instalaciones del CIQA, tienen un efecto inhibitorio en el crecimiento micelial de *B. cinerea*, lo que muestra su actividad antifúngica contra este importante hongo que afecta a numerosos cultivos durante pre y postcosecha.

Con el extracto etanólico a dosis relativamente bajas (500, 1000, 2000 y 4000 ppm), se obtuvieron los mejores resultados en cuanto a la inhibición del hongo, en cambio el extracto metanólico mostró la mayor efectividad antifúngica con dosis altas (8000, 12000 y 16000 ppm). En ambos casos, los extractos que mostraron mayor

efectividad fueron los que contenían el 40 % de ingrediente activo, siendo su efecto fungicida más notable que el del testigo químico comercialmente utilizado (Prozicar) para prevenir y controlar esta enfermedad.

Estos resultados sugieren con los extractos hidrosolubles de gobernadora producidos con los solventes antes mencionados, es factible producir a nivel comercial fungicidas orgánicos que pudieran ser empleados extensivamente en programas de agricultura orgánica o en métodos sustentables de producción agrícola de bajo impacto ambiental

ÍNDICE DEL CONTENIDO

Pag.

DEDICATORIAS.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
RESUMEN.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
ÍNDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO GENERAL.....	3
OBJETIVOS PARTICULARES.....	3
HIPÓTESIS.....	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
Importancia del moho gris como enfermedad de postcosecha.....	5
Extractos vegetales para el control de enfermedades de postcosecha.....	6
Características del hongo <i>Botrytis cinerea</i>	8
Importancia y distribución.....	8
Clasificación taxonómica.....	9
Síntomas de la enfermedad.....	9
Etiología de <i>B. Cinerea</i>	10
Epifitología.....	10
Epidemiología.....	11
Ciclo biológico.....	12
Métodos de control de <i>Botrytis cinerea</i>	13
Control físico.....	13
Control químico.....	14
Control biológico.....	15

Control cultural.....	15
Generalidades de <i>Larrea tridentata</i> (D. C. Coville).....	16
Descripción de <i>Larrea tridentata</i>	16
Distribución geográfica de la gobernadora en México y sur de los estados unidos.....	18
Efectos microbicidas de <i>Larrea tridentata</i>	18
MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
Equipos empleados.....	21
Material de laboratorio.....	21
Reactivos.....	22
Métodos.....	22
Realización de las actividades experimentales.....	22
Colecta del follaje de gobernadora.....	23
Secado del material vegetativo.....	23
Cribado de hojas secas.....	23
Extracción de resina por el método de inmersión en los dos solventes y la base.....	24
Evaporación del solvente.....	24
Aislamiento y purificación de la cepa del hongo <i>B. cinerea</i>	25
Preparación del medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA).....	25
Siembra de explantes del fitopatógeno.....	25
Período de incubación del hongo.....	26
Medición del crecimiento micelial del hongo.....	26
Diseño experimental.....	27
Determinación de la eficacia inhibitoria de <i>Larrea tridentata</i>	28
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
CONCLUSIONES.....	39
LITERATURA CITADA.....	40
APÉNDICE.....	45

INDICE DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1 Comparación de medias (%) de la efectividad antifúngica de <i>B. cinerea</i> debido al efecto de siete dosis y tres concentraciones de ingrediente activo de la resina etanólica de <i>L. Tridentata</i>	30
Cuadro 2. Comparación de medias (%) de la efectividad antifúngica de <i>B. cinerea</i> debido al efecto de siete dosis y tres concentraciones de ingrediente activo de la resina metanólica de <i>L. tridentata</i> .	31
Cuadro 3.. Comparación de medias (%) de la efectividad antifúngica de <i>B. cinerea</i> debido al efecto de siete dosis y tres concentraciones de ingrediente activo de la resina sódica de <i>L. Tridentata</i>	33
Cuadro 4. Eficacia de tratamientos (%) en la inhibición del crecimiento micelial de <i>B. cinerea</i> de tres extractos de resina de <i>Larrea tridentata</i> con 40 % de ingrediente activo.	34
Cuadro 5. Eficacia de tratamientos (%) en la inhibición del crecimiento micelial de <i>B. cinerea</i> de tres extractos de resina de <i>Larrea tridentata</i> con 30 % de ingrediente activo.	36
Cuadro 6. Eficacia de tratamientos (%) en la inhibición del crecimiento micelial de <i>B. cinerea</i> de tres extractos de resina de <i>Larrea tridentata</i> con 20 % de ingrediente activo.	38

INDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE

	Pag.
Cuadro 1 Análisis de varianza de la inhibición micelial del hongo <i>B. cinerea</i>, sometido a tratamientos con extracto metanólico de <i>L. tridentata</i> al 20 % de sólidos totales.	45
Cuadro 2. Análisis de varianza de la inhibición micelial de <i>B. cinerea</i>, sometido a tratamientos con extractos metanólicos de <i>L. tridentata</i> al 30 % de sólidos totales.	45
Cuadro 3 Análisis de varianza de la inhibición micelial de <i>B. cinerea</i>, sometido a tratamientos con extractos metanólicos de <i>L. tridentata</i> al 40 % de sólidos totales.	45
Cuadro 4 Análisis de varianza de la inhibición micelial de <i>B. cinerea</i>, sometido a tratamientos con extractos etanólicos de <i>L. tridentata</i> al 20 % de sólidos totales	45
Cuadro 5 Análisis de varianza de la inhibición micelial de <i>B. cinerea</i>, sometido a tratamientos con extractos etanólicos de <i>L. tridentata</i> al 30 % de sólidos totales	46
Cuadro 6 Análisis de varianza de la inhibición micelial de <i>B. cinerea</i>, sometido a tratamientos con extractos etanólicos de <i>L. tridentata</i> al 40 % de sólidos totales.	46
Cuadro 7. Análisis de varianza de la inhibición micelial de <i>B. cinerea</i>, sometido a tratamientos con extractos sódicos de <i>L. tridentata</i> al 20 % de sólidos totales.	46
Cuadro 8. Análisis de varianza de la inhibición micelial de <i>B. cinerea</i>, sometido a tratamientos con extractos sódicos de <i>Larrea tridentata</i> al 30 % de sólidos totales.	46
Cuadro 9. Análisis de varianza de la inhibición micelial de <i>B. cinerea</i>, sometido a tratamientos con extractos sódicos de <i>L. tridentata</i> al 40 % de sólidos totales.	46

INDICE DE FIGURAS		Pag.
Figura. 1	Ciclo biológico de la enfermedad moho gris en el cultivo de fresa causada por el hongo <i>Botrytis</i>.	12
Figura 2	(a) Ilustración de una planta de gobernadora (<i>Larrea tridentata</i>) y (b) corte transversal del folíolo de <i>L. tridentata</i> donde se aprecia la resina contenida en las células adyacentes a la epidermis superior e inferior.	17
Figura 3.	Inhibición del crecimiento micelial de <i>B. cinerea</i> con siete dosis del extracto etanólico de <i>L. tridentata</i> a diferentes concentraciones de ingrediente activo.	30
Figura 4.	Inhibición del crecimiento micelial de <i>B. cinerea</i> con siete dosis del extracto metanólico de <i>L. tridentata</i> a diferentes concentraciones de ingrediente activo	32
Figura 5	. Inhibición del crecimiento micelial de <i>B. cinerea</i> con siete dosis del extracto sódico de <i>L. tridentata</i> a diferentes concentraciones de ingrediente activo	33
Figura 6	. Inhibición del crecimiento micelial de <i>Botrytis cinerea</i> con tres extractos de <i>Larrea tridentata</i> al 40 % de sólidos totales.	35
Figura 7	Inhibición del crecimiento micelial de <i>Botrytis cinerea</i> con tres extractos de <i>Larrea tridentata</i> al 30 % de sólidos totales.	36
Figura 8	Inhibición del crecimiento micelial de <i>Botrytis cinerea</i> con tres extractos de <i>L. tridentata</i> al 20 % de sólidos totales.	38

INTRODUCCIÓN

Una gran cantidad de productos agropecuarios mexicanos llevan muchos años llegando al mercado exterior debido a la creciente demanda por parte de los socios del TLC a fin de complementar su consumo durante el periodo invernal. Desde 1950, fecha en que se iniciaron las primeras exportaciones, estos productos han ayudado a satisfacer la demanda de uno de los mercados más grandes del mundo.

Durante este tiempo, el proceso de comercialización ha traído muchos beneficios económicos a una gran cantidad de agricultores, pero sus productos en muchas ocasiones, ya sean frutas u hortalizas se han visto severamente afectados por enfermedades que se presentan en pre o postcosecha; entre ellas destaca por su importancia económica la enfermedad conocida como moho gris o podredumbre blanca de la uva, siendo el agente causante de dicha enfermedad el hongo *Botrytis cinerea*, el cual ataca también a muchos otros cultivos de exportación y para consumo nacional como: fresa, uva, frambuesa, cítricos, tomate, claveles y rosas, entre muchos otros.

Este hongo ejerce una acción muy compleja y perjudicial en la mayor parte de los casos en que se presenta, ya que afecta significativamente la calidad y la vida de anaquel de los productos agrícolas. *B. cinerea* es uno de los principales agentes causales de las pérdidas pre y poscosecha de rosas producidas en invernaderos y en cielo abierto en todo el mundo. Las mermas económicas por este hongo están asociadas principalmente con los síntomas o manchas que parecen quemaduras en los pétalos de las flores antes y después de haberse cosechado, y que están almacenadas, o en tránsito, lo que ocasiona graves pérdidas para su valor comercial.

En México y en todas las áreas productoras de rosas, este hongo también produce lesiones necróticas en hojas, tallos y cañas de renuevo. *B. cinerea* es un patógeno omnipresente que causa una de las enfermedades fungosas más comunes en los invernaderos y ha sido reportado como un verdadero problema en EUA, Japón, India, Canadá, Colombia, Holanda y muchos otros países (Lira *et al.*, 2003a).

Funguicidas sintéticos de alto riesgo para la salud y el medio ambiente son comúnmente usados para el manejo de esta enfermedad, pero a menudo no son efectivos, esto se debe principalmente a la rápida evolución de la resistencia de *B. cinerea* a los agroquímicos sintéticos (Lira, 2003c), lo que desgraciadamente ha ocasionado un inevitable incremento en las dosis empleadas por los productores para su control. Una buena alternativa a esta problemática lo constituyen los biopesticidas con base en compuestos orgánicos, debido a su biodegradabilidad, ya que son inocuos para humanos y animales, y además desaparecen rápidamente del medio ambiente después de su aplicación.

La agricultura en las últimas décadas se ha visto muy desfavorecida debido al uso indiscriminado de productos químicos, esto se ha reflejado en la resistencia que han adquirido los diversos organismos patógenos, es decir, para controlar las diferentes enfermedades agrícolas cada vez las concentraciones son mayores y por ende los gastos para el agricultor van en aumento, así como la contaminación hacia la flora y fauna es cada vez mayor, también los daños en la salud que causan a la raza humana la cual se refleja en enfermedades que son cada vez más fuertes.

Actualmente se requiere una agricultura sustentable, en donde los productos de control para patógenos que se usen sean de origen vegetal, con gran potencial de degradación y propiedades capaces de controlar las enfermedades que causan problemas económicos al hombre en la agricultura, sin causar daño en la salud del ser humano. Un caso típico lo representa la gobernadora *Larrea tridentata*, de la familia Zygophyllaceae cuya planta es nativa y se encuentra en abundancia en las zonas áridas de México, desarrollándose principalmente en los desiertos Chihuahuense y Sonorense.

Esta especie se encuentra particularmente en Baja California, Coahuila, Durango, Tamaulipas, Nuevo León, Querétaro, entre otros estados, de aquí se deriva su nombre por ser la dominante de las demás especies de los desiertos, habita en climas seco, semiseco y templado, crece asociada a la selva tropical caducifolia, matorral xerófilo, bosques de encino y pino; esta planta arbustiva posee en hojas y tallos resina con contenido de biopolímeros fenólicos y ácido nordihidroguaiaretico (NDGA), los cuales presentan características antisépticas y bioquímicas que repelen a diferentes microorganismos.

OBJETIVO GENERAL

Con base en lo antes citado el objetivo general de este trabajo de investigación fue evaluar los extractos etanólico, metanólico y sódico de resina de *L. tridentata* a las concentraciones del 20, 30 y 40 % de sólidos totales o ingrediente activo, bajo condiciones *in vitro*, en el crecimiento micelial del hongo *B. cinerea*, causante del moho gris, enfermedad que ataca a una gran cantidad de cultivos hortícolas, frutícolas y florícolas durante pre y postcosecha.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar bajo condiciones *in vitro* el efecto antifúngico en el hongo *B. cinerea* de los extractos hidrosolubles de resina de gobernadora obtenidos con tres solventes orgánicos: metanol, etanol e hidróxido de sodio.
2. Analizar el efecto antifúngico en *B. cinerea* de tres concentraciones (20, 30 y 40 %) de sólidos totales o ingrediente activo, de los tres extractos de resina antes mencionados.
3. Comparar el efecto antifúngico de los tres extractos hidrosolubles a los tres niveles de ingrediente activo, contra un fungicida sintético utilizado ampliamente para la prevención y control de *B. cinerea*.

4. Establecer las bases experimentales para que posteriormente bajo condiciones *in vivo*, ya sea en invernadero o campo se valide el efecto antifúngico de los resultados obtenidos *in vitro*.

HIPÓTESIS

Los componentes de la resina hidrosoluble de los extractos metanólico, etanólico y sódico obtenidos de las hojas de gobernadora provocan un efecto inhibitor en el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno causante de la enfermedad moho gris (*B. cinerea*), promoviendo de esta manera un efecto fungicida. Con base en esta hipótesis se plantearon los siguientes objetivos específicos:

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia del Moho Gris Como Enfermedad de Poscosecha

Todas las enfermedades de productos agrícolas destinadas al almacenamiento, ocurren después de la cosecha, pasando posteriormente por las etapas de transporte, empaque, almacenamiento y la comercialización que es donde llega el producto al consumidor final. Durante todo este proceso el producto va sufriendo varios cambios, ocasionando condiciones propicias para las enfermedades, las cuales se reflejan en pudrición de una porción del fruto bajando el valor nutritivo del producto, y en algunos casos, cuando los patógenos secretan sustancias tóxicas hacen que el resto del fruto no pueda ser consumido, teniendo de esta manera un precio demasiado bajo.

El ataque de microorganismos patógenos durante el proceso natural de maduración de las frutas y hortalizas antes y después de ser cosechadas puede ser muy severo, ocasionando serias enfermedades y por lo tanto, cuantiosas pérdidas económicas. Agrios (1985) en su clásico libro sobre fitopatología menciona que las pérdidas debidas a las enfermedades de poscosecha se estiman en un 10 a 30 % de la producción total de los cultivos, y en algunos productos perecederos no son raras las perdidas superiores al 30 %, sobre todo en países en vías de desarrollo. Generalmente estas pérdidas son directas, es decir, disminuyen la calidad y cantidad de los productos afectados.

El mismo autor menciona que las enfermedades de poscosecha como el moho gris son causadas generalmente por hongos de los órdenes de *Ascomycetes*, *Deuteromycetes*, *Oomycetes* y *Basidiomycetes* y algunas especies de bacterias. Señalando a los *Deuteromycetes* como la causa más común e importante de las pudriciones de poscosecha en uvas, fresas, rosas y muchos otros cultivos.

Extractos Vegetales Para el Control de Enfermedades de Poscosecha

Tradicionalmente en la actualidad los agroquímicos sintéticos siguen siendo los más utilizados para el control de hongos de pre y poscosecha debido a su rapidez y eficacia con que actúan sobre los fitopatógenos. Sin embargo, la revista *Postharvest News & Information* (1996), hace mención que al convertirse en casi el único método utilizado, se han generado varios problemas a nivel mundial, siendo los más importantes los siguientes: a) resistencia generada en el microorganismo que se trata de controlar; b) daños al medio ambiente, principalmente contaminación del suelo y agua; c) daños a la salud y d) persistencia del pesticida en la cadena alimenticia, por lo tanto, efectos cancerígenos no solo en el consumidor sino también en el trabajador agrícola que esta en contacto directo con el agroquímico sintético.

Diversas plantas a través de los años han adquirido mecanismos de defensa contra organismos patógenos, algunos de ellos son: alelopatía contra otro tipo de plantas y el desarrollo de metabolitos secundarios con acción antimicrobiana, entre otros mecanismos. Hernández y Granados (1992) mencionan que el descubrimiento de plantas con propiedades fungicidas o fungistáticas pueden considerarse como una alternativa de uso para el control de enfermedades en poscosecha, ya que el uso constante de productos químicos puede originar resistencia en los patógenos y algunos por toxicidad pueden ocasionar daños a la salud y/o al medio ambiente. Estos dos mismos autores en sus estudios realizados sobre extractos de leguminosas a nivel *in vitro*, detectaron que estos no inhiben el desarrollo de los hongos que atacan en postcosecha como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Monilia*, *Btryodiplodia* y *Rhizopus*.

Diversos autores se han dedicado al estudio de plantas con características tan importantes dentro del ámbito agrícola con tal de controlar a las diferentes enfermedades a través de extractos vegetales. Recientemente Abril *et al.* (2003), estudiaron un producto experimental natural derivado del chile (capsicina) con acción fungicida, producido por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) el cual se ha catalogado como FD141. Siete de sus análogos químicos y siete funguicidas

comercialmente disponibles fueron evaluados por su habilidad de inhibir la germinación en seis hongos: *B. cinerea*, *Colletotrichum acutatum*, *C. fragariae*, *C. Gloeosporioides*, *Phomopsis obscurans*, y *P. viticola*. Los resultados del USDA indican que el producto FD141 y los siete fungicidas comercialmente disponibles, fueron eficaces inhibidores de la germinación de esporas, mientras que la mayoría de los análogos de FD141 mostraron una menor eficacia. Sin embargo, uno de los análogos experimentales, el FD142, ocasionó desarrollo anómalo en los tubos germinales de tres de los seis hongos.

Las investigaciones de extractos de plantas para el control de enfermedades agrícolas van en aumento. Según los estudios realizados por Gerardo *et al.* (1995), en el que evaluaron *in vitro* el extracto de semillas de toronja contra patógenos del tomate en postcosecha a concentraciones de 1,000 a 5,000 ppm de ingrediente activo, se encontró que *Geotrichum candidum* fue inhibido en un 94 y 100 % a concentraciones de 2,000 y 3,000 μ L/L respectivamente, *Alternaria alternata* en 94 y 100 % a 1,000 y 2,000 μ L/L; mientras que *Rhizopus stolonifer* fue inhibido en 87 % a 5,000 μ L/L.

Los extractos de *Larrea tridentata* han sido estudiados desde diferentes puntos de vista como son el medicinal y agrícola entre otros. Lira *et al.* (2003a) concluyeron que tanto los extractos solos de *L. tridentata* como el quitosan mostraron tener un claro efecto sobre *B. cinerea*, además las formulaciones quitosan-*Larrea* revelaron poseer un efecto antifúngico superior cuando se mezclaron, ya que su actividad fungicida se incrementó marcadamente impidiendo no solamente el crecimiento micelial del hongo, sino también la intensidad de esporulación del mismo.

Numerosas especies de plantas han sido estudiadas como una opción de control de patógenos sin dañar el medio ambiente. Gamboa-Alvarado *et al.* (2003), hacen hincapié en otra importante especie de las zonas áridas conocida comúnmente con el nombre de hojaseén (*Flourensia cernua*), y mencionan que extractos de esta planta han mostrado su acción antifúngica contra diversos patógenos tales como *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans*.

Características del hongo *Botrytis cinerea*

Importancia y Distribución

B. cinerea es un hongo fitopatógeno importante desde el punto de vista de sus efectos devastadores en numerosos cultivos, ya que infecta una amplia variedad de plantas y que puede hacer uso de diferentes mecanismos de infección. El patógeno puede atacar en cualquier estado de desarrollo del cultivo, infectando diferentes partes de las plantas, o bien en productos agrícolas almacenados formándose en la cutícula de la fruta o flor un moho gris. Debido a la considerable incidencia del patógeno y a las repercusiones económicas que tiene en cultivos de importancia tales como vid, tomate, fresa y ornamentales es necesario encontrar fuentes alternativas de control. Este hongo fitopatógeno de amplia distribución en la mayoría de las regiones agrícolas del mundo y causante de importantes enfermedades sobre varios cultivos alimenticios y ornamentales, también se ha reportado como un patógeno de plántulas de coníferas cultivadas en vivero (Agrios, 1958).

Por su parte, Kitinoja (1995) reporta que este hongo es el principal agente causal de enfermedades en plantas de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Will. ex Klotzch) cultivadas bajo condiciones de invernadero, durante la propagación, también en el follaje en la etapa de crecimiento, o sobre las bracteas en el periodo de floración que ocurre durante la etapa de venta. Sin embargo, la utilización de fungicidas es cada vez menos recomendable y más restringida debido a los problemas de contaminación ambiental que de su aplicación se derivan y por la frecuente aparición de cepas del patógeno resistentes a los fungicidas utilizados.

Clasificación Taxonómica

De acuerdo con Alexopoulos y Mims (1996) esta es la clasificación taxonómica vigente para el hongo *Botrytis cinerea*.

Reino:	Mycetae
División:	Eumycota
Subdivisión:	Deuteromycotina
Clase:	Hyphomycetes
Orden:	Moniliales
Familia:	Moniliaceae
Género:	<i>Botrytis</i>
Especie:	<i>B. cinerea</i>

Síntomas de la Enfermedad

De acuerdo a lo citado por Mendoza y Pinto (1985), este hongo ocasiona pudriciones y tizones en frutos, flores y hojas en cultivos como fresa, berenjena, cártamo, haba, chile, jitomate, lechuga, cebolla, zanahoria, y en frutales como cerezo, ciruelo y manzano. También causa pudriciones en muchas plantas ornamentales como rosal, crisantemo y noche buena. En todas ocasiona pérdidas en calidad y cantidad, tanto en el campo como en el transporte y almacenamiento.

En su libro de diagnóstico de enfermedades fungosas Mendoza (1991) hace mención señalando que en los frutos en maduración, el síntoma típico es una lesión café claro, oval o redondeada, ligeramente blanda, pero no acuosa que después se torna café rojizo y cubierta por un crecimiento grisáceo y polvoso, que al avanzar la enfermedad puede llegar a cubrir todo el fruto y posteriormente secarlo y momificado.

Por su parte, Powelson (1960) recalca que a la enfermedad moho gris también se le conoce como pudrición seca; es una enfermedad altamente destructiva que se puede manifestar en el fruto en dos formas características: una es comenzando a atacar por el

extremo del pedúnculo y la otra es en la parte apical del fruto. El tejido del fruto, cuando comienza a ser atacado, es ligeramente de color café y blando.

En el trabajo realizado por Martínez y del Río (1975) se consigna que el ataque de *B. cinerea* ocurre durante el estado de flor o fruta muy pequeña, generalmente la infección se extiende hacia el cáliz y pedúnculo, produciendo una deshidratación total y posteriormente la muerte. En frutos desarrollados, próximos a madurar, los síntomas empiezan con la pérdida de su firmeza y posteriormente aparecen manchas descoloridas y opacas

Etiología de *B. cinerea*

En el libro de Agrios (1985) se menciona que el agente causal del moho gris del cultivo de fresa, está ubicado dentro de la familia Moniliaceae. El hongo produce abundante micelio gris y varios conidióforos largos y ramificado, cuyas células apicales redondeadas producen racimos de conidios ovoides, unicelulares, de color gris, los racimos de conidios se asemejan a un racimo de uva.

El trabajo reportado por Mendoza (1991) indica que *B. cinerea* produce conidióforos septados, grandes y gruesos (más o menos 10 μ de diámetro), de color café oscuro, ramificados en la parte distal, con ápices hinchados y pequeños esterigmas productores de conidios lisos, unicelulares, café claro, de elipsoidales a ovoides de un promedio de 13 x 7.4 micras.

Epifitología

Agrios (1985) describe que el hongo causante del moho gris muestra mayor severidad en ambientes húmedos y moderadamente fríos (18 a 23°C) para que se desarrolle adecuadamente, esporule, libere y germinen sus esporas, y para que produzca la infección. También este patógeno muestra actividad a bajas temperaturas y produce pérdidas considerables en cosechas que se han de almacenar durante largos periodos, aun cuando las temperaturas estén entre 0 y 10°C.

Epidemiología

De acuerdo con Devaux (1978) quien es citado por Paulus (1990), reporta que la humedad ambiental es el factor más importante que regula la presencia del moho gris. Las lluvias frecuentes inducen la máxima incidencia de la enfermedad. Las condiciones optimas en campo para el desarrollo de esta son de un ambiente de 15 a 20°C y con 90% de humedad relativa.

Los resultados de Deacon (1988) señalan que el agente causal del moho gris en fresa se conoce mejor como un parásito de las frutas blandas, no especializado que ataca a una amplia gama de plantas, pero solo si sus tejidos comienzan a envejecer o han sido dañados, con frecuencia coloniza los pétalos de las flores en proceso de envejecimiento y los puntos donde éstas se desprenden del fruto subyacente (es decir, “heridas naturales”). Este mismo autor en otro apartado de su libro señala que se ha demostrado que las esporas de *B. cinerea* no germinan en presencia del micelio progenitor. Esto se puede interpretar como un medio de asegurar que sean dispersadas antes de germinar y se considera como un invasor secundario común de los tejidos dañados por parásitos primarios.

Por su parte Martínez y Del Río (1975) mencionan que la infección causada por el patógeno se lleva acabo de diferentes maneras: por acarreo de esporas por el viento y agua, por el contacto de los frutos con el suelo o con otros que estén enfermos. Si las condiciones son favorables el daño ocurre, no importa en qué estado de desarrollo se encuentre el fruto. En el trabajo realizado por Sommer (1981) se señala que si la fruta de fresa entra en contacto con el suelo, esta se puede invadir por el micelio del hongo y si esta fruta se empaca, los micelios invaden a una fresa sana adyacente. El estudio realizado por Funt *et al.* (1997) se reporta que la infección por el hongo *B. cinerea* ocurre realmente durante floración, entra a la fruta en formación y desarrollo a través de las partes florales donde es inactiva y cuando el fruto se madura generalmente el hongo llega a ser activo y ocurre la descomposición.

Ciclo Biológico

En el libro de Agrios (1985) se advierte que el hongo inverna como micelio y esclerocios sobre o dentro de los residuos de cosechas y en el suelo, estos germinan y producen conidióforos que después forman conidios que al ser liberados pueden atacar plantitas al nivel del cuello, también infectan flores (pétalos), hojas y frutos.

Mendoza (1991) añade que en donde los conidios germinan, penetran e invaden los tejidos, desintegrando las células en su alcance, ocasiona las pudriciones sobre las cuales se desarrollan conidióforos y conidios que forman la capa o moho gris, se liberan de nuevo y atacan otras plantas; cuando las condiciones son favorables forman sobre las pudriciones los esclerocios de los cuales le sirven como estructuras de supervivencia.

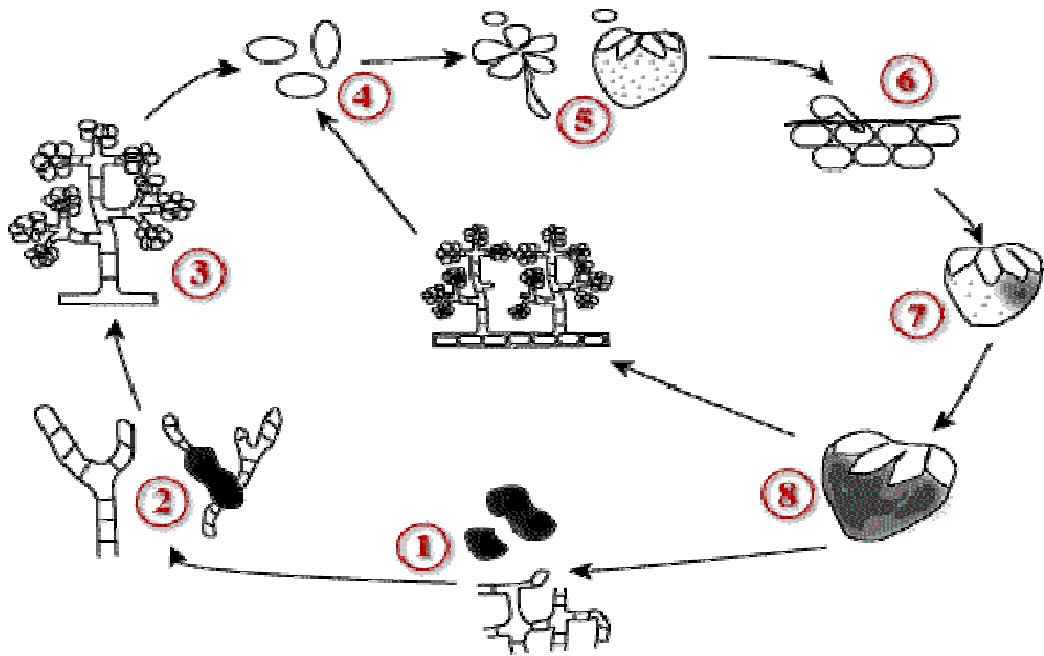


Figura. 1. Ciclo biológico de la enfermedad moho gris en el cultivo de fresa causada por el hongo *Botrytis cinerea* (Tomado de Agrios, 1985).

Métodos de Control de *Botrytis cinerea*

En los resultados experimentales de Henz (1992) se menciona que el control de las enfermedades en postcosecha causadas por diversos hongos como *B. cinerea* debe empezar en el campo. Un manejo adecuado durante la cosecha y en las etapas subsecuentes puede disminuir los daños mecánicos y consecuentemente la incidencia de enfermedades. Varios tratamientos físicos y químicos han sido usados en el control de enfermedades en postcosecha, y más recientemente el control biológico. A continuación se describen brevemente los métodos más usados para su prevención y control.

Control Físico

Diversos tratamientos tales como los comentados por Cheah *et al.* (1993), que son el uso de agua caliente, la radiación ultravioleta, inductores de resistencia, microorganismos antagonistas, se han venido empleando para tener métodos opcionales de control físico contra un rango amplio de microorganismos como hongos, bacterias, virus y nemátodos.

García *et al.* (1996) en sus experimentos realizados afirman que los tratamientos por inmersión en agua a una temperatura 45°C producen el mejor control del patógeno *B. cinerea* y no afecta la calidad de la fruta. Otros investigadores como Kitinoja y Kader (1995), citan que los tratamientos con aire caliente forzado a una temperatura de 43°C y humedad relativa al 98% por 30 minutos, se obtiene un buen control de este hongo durante pre y postcosecha.

En los resultados de Saks *et al.* (1996) se señala que el uso de luz blanca fluorescente a 2°C retrasa los síntomas de *B. cinerea* en fruta de fresa, mientras que el tratamiento con luz normal no elimina el desarrollo del hongo, sino que retarda su emergencia. En el estudio realizado por Sommer (1988) se hace mención del uso de atmósferas modificadas mediante altos niveles de bióxido carbónico (entre 10 y 15%), bien sea para transportación aérea o terrestre. Este tipo de atmósferas pueden lograrse en el interior del

camión o vagón, mediante la introducción directa de dicho gas o por sublimación de hielo seco.

Control Químico

En la ponencia presentada por Bosques-Molina (1999) se señala que las continuas restricciones para el uso de fungicidas sintéticos como medida de control para reducir los patógenos ha provocado que la tendencia actual para el manejo de las enfermedades de poscosecha sea la aplicación de tratamientos alternativos que excluyan el uso de fungicidas sintéticos o bien que su uso se reduzca al mínimo, principalmente en los productos de exportación.

Mass (1971) citado por Pantástico (1979), menciona que el fungicida químico sintético Benomyl a concentraciones de 340 y 680 ppm, controló de manera efectiva a *B. cinerea* cuando se sumergieron los frutos 24 horas antes de hacer la inoculación, pero no cuando se sumergieron 24 horas después. Con base en estos resultados y otros muchos más realizados en campo queda claro que el Benomyl es un producto preventivo y eficaz contra este hongo.

Por su parte Agrios (1985) hace la indicación de que esta enfermedad requiere de tratamientos preventivos para reducir los daños en postcosecha evitando que los frutos tengan escasa o nula toxicidad para el hombre, por lo que se recomienda las aspersiones o espolvoraciones al inicio de la floración con Captán, Thiram o Benomyl.

En las investigaciones realizadas por Gleason *et al.* (1997), se concluye que después de evaluar varios productos en campo contra el moho gris en fresa, tomando como referencia de su evaluación las infecciones del cáliz tres días después de la cosecha, se obtuvieron buenos resultados con cinco aspersiones de Gray Gold y Gray Gold alternado con Harpin, dieron un control perceptiblemente mejor que el control convencional de fungicidas sintéticos como Ronilan + Captán.

Debido a la creciente resistencia adquirida por los hongos fitopatógenos al uso indiscriminado de los funguicidas sintéticos, Agrios (1985) señala que se han encontrado cepas de *Botrytis* spp. que son resistentes a los funguicidas Benomyl, Dicloran, Iprodione e incluso al Captán en varios cultivos, incluyendo a la fresa, es por ello que es recomendable utilizar diferentes funguicidas o diferentes combinaciones de ellos para disminuir la aparición y el establecimiento de cepas resistentes.

Control Biológico

En los últimos 20 años debido a los problemas recurrentes de contaminación de los ecosistemas y los problemas que se han presentado en humanos y animales por el uso de pesticidas sintéticos, se ha venido utilizando cada vez más el control biológico de esta enfermedad y de muchas otras. En el libro de Agrios (1985) se señala que aplicando varias aspersiones de esporas del hongo *Trichoderma* sobre flores y frutos jóvenes de plantas de fresa reducen las pudriciones de precosecha y postcosecha causadas por *B. cinerea*.

En el trabajo de investigación realizado por Lima *et al.* (1997), se señala que los microorganismos *Aurebasidium pullulans* y *Candida oleophila* son efectivos antagonistas de *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* cuando estos son aplicados en floración en los cultivares de fresa, Chandler y Pájaro.

Control Cultural

En el estudio realizado por Branzanti (1989) se cita que para reducir considerablemente la incidencia de *Botrytis cinerea* es recomendable realizar diversas prácticas culturales para minimizar o reducir el efecto de este hongo como son las siguientes:

1. Surcos altos para promover una buena aireación.
2. Tener un buen cuidado de los drenes para evitar los encharcamientos en el campo.

3. Acolchado con películas plásticas para evitar el contacto de los frutos con el terreno.
4. Eliminar después de la cosecha los residuos vegetales tales como hojas viejas y frutos afectados.
5. Retirar de los contenedores los frutos en los que haya empezado la infección o los lesionados.
6. En cultivos protegidos en invernaderos se deberá tener una adecuada ventilación durante todo el ciclo.

Por otra parte, en el reporte realizado por Sommer (1981) se señala que para tener buenos resultados en el control de enfermedades posteriores a la cosecha, es recomendable lo siguiente:

1. Tener el máximo cuidado para no empacar frutas infectadas.
2. Tener cuidado de no dañar la fruta durante el corte y el manejo de empaque.
3. El rápido enfriamiento a temperaturas cercanas a 0°C.
4. El uso de camiones refrigerados, de gran velocidad, para la entrega de la fruta a los mercados norteamericanos o aviones para embarques transoceánicos.

Generalidades de *Larrea tridentata* (D.C.) Coville.

Descripción de *Larrea tridentata*

Brinker (1993) comenta que la gobernadora (*Larrea tridentata*) es una de las especies pertenecientes a la familia de las Ziygophyllaceae, arbusto nativo, perenne, ecológicamente dominante en los desiertos Chihuahuense y Sonorense de Baja California y norte de México y en las zonas semiáridas del sur de California, Nuevo México, Texas y Arizona en Estados Unidos. Se estima que el 25 % (500,000 km²) de la República Mexicana esta cubierta con este arbusto del semidesierto, el cual ha desarrollado diversas adaptaciones anatómicas y fisiológicas para tolerar condiciones prolongadas de sequía y altas temperaturas.

Lira-Saldivar *et al.* (2003b) en una reciente revisión sobre el estado actual del

conocimiento sobre las propiedades biocidas de la gobernadora, señala que los arbustos de gobernadora contienen en sus hojas una espesa resina que se acumula en las células epidermales del haz y el envés de los folíolos, la cual puede llegar a formar parte del 20 al 25 % o más del peso seco de las hojas de esta planta. En la Figura 2(a) se presenta una fotografía en la que se puede apreciar las características de un arbusto de gobernadora en su hábitat natural, y en la Figura 2(b) se muestra un corte transversal de un folíolo de este arbusto en el que se observan las células adyacentes a la epidermis cargadas de la resina, la cual le confiere propiedades antiherviboras y antitranspirantes.



Figura 2. (a) Ilustración de una planta de gobernadora (*Larrea tridentata*) y (b) corte transversal del folíolo de *L. tridentata* donde se aprecia la resina contenida en las células adyacentes a la epidermis superior e inferior (Tomado de Lira-Saldivar *et al*, 2003b).

Los principales componentes de la resina de la gobernadora es el antioxidante conocido como ácido nordihidroguaiaretico (NDGA), además de 19 aglicon-flavonoides y diversos lignanos, así como algunas sapogeninas y ceras (Brinker, 1993). Yang (1970) describe a la gobernadora como un arbusto perenne, muy ramificado, de 0.6 a 3.0 m de altura; sus hojas están formadas por dos folíolos unidos entre sí en la base, las hojas miden de 4 a 15 mm de largo por 3 a 8 mm de ancho; sus flores miden 2.5 cm de diámetro y sus pétalos son de color amarillo fuerte; su raíz es un sistema radical superficial, poco profundo y muy extenso. Llega a ocupar casi el total del espacio que hay entre un arbusto y el otro.

Distribución Geográfica de la Gobernadora en México y Sur de los Estados Unidos

Este arbusto xerófito se distribuye abundantemente en el norte de país, de la Península de Baja California a Tamaulipas e Hidalgo, a una altitud de 400 a 1800 msnm. Por los estados de Baja California norte, Baja California Sur, Coahuila, Chihuahua, Durango Guanajuato Hidalgo, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas y Zacatecas, así como en los estados de California, Arizona, Nevada, Nuevo México y Texas, en el sur de los Estados Unidos (Downum *et al.* 1988).

Efectos Microbicidas de *Larrea tridentata*

En un interesante y reciente artículo publicado por Lira-Saldivar (2003b), se resumieron las propiedades antifúngicas de la gobernadora *L. tridentata* o creosote bush, la cual es una especie perenne, en sus hojas contienen una espesa resina, la cual se comporta como un antitranspirante ideal debido a que forma una barrera que disminuye mas la transpiración que la tasa de asimilación de CO₂. Los metabolitos secundarios de la resina son: fenoles, lignanos y flavonoides, resultan ser defensas bioquímicas para repeler la agresión de animales herbívoros, hongos y otros microorganismos, ya que no se conocen plagas, enfermedades o animales que ataquen esta planta. Numerosos estudios han demostrado que los extractos de gobernadora tienen acción antifúngica bajo condiciones *in vitro* en al menos 17 hongos fitopatógenos de importancia económica; de igual manera, extractos y material vegetativo molido en polvo e incorporado al suelo han confirmado inhibir o controlar *in vivo* 6 hongos en cultivos agrícolas. Algunos trabajos también han consignado el efecto nematicida o nematostático de *L. tridentata* contra 9 géneros de nemátodos y repelencia en una especie de insectos.

Las hojas del arbusto de gobernadora también pueden ser importantes por su contenido de proteínas, lo que pudiera permitir ser utilizarlas para consumo animal. Para lograr esto se requiere de la eliminación previa de las resinas para incrementar su digestibilidad y palatabilidad. La resina que se extrae de las hojas contiene ácido

nordihidroguaiarético, que se utiliza como antioxidante en la industria alimenticia, en la elaboración de grasas (calzado), aceites, lubricantes, barnices como desincrustante de materias salinas en calderas, productos farmacéuticos, hule (Brinker, 1993)

Los extractos obtenidos a partir de la resina de hojas de gobernadora han mostrado actividad fungicida contra *Alternaria solani*, *Pythium* sp, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, por diversos autores (Sánchez, 2002; Balvantin, 2002, Lira *et al.* 2003; Lira *et al.* 2002), pero en ninguno de los artículos realizados se presentan resultados con los extractos de este arbusto contra hongos de postcosecha y específicamente ninguno realizado con *B. cinerea*.

Salazar *et al* (1992) probaron residuos de las plantas de Gobernadora (*Larrea tridentata* L.) y/o Epazote (*Chenopodium ambrosioides* L.) en suelos infestados por *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani*, en la germinación y crecimiento de plantas bajo condiciones de invernadero, encontrando que los residuos incrementaron la germinación de la semilla en 76 y 72 % y el peso fresco de las plantas de frijol en 86.7 % y 81.3 % respectivamente, en presencia de *Rhizoctonia solani*. La germinación de semilla aumentó en 56 y 48 % y el peso fresco de las plantas en 91.2 y 87.5 % con la adición de residuos de gobernadora y epazote respectivamente, comparado con los tratamientos testigo, en donde las plantas crecieron expuestas a los patógenos y sin ninguna protección.

El efecto de la resina de gobernadora como nematicida ha sido reportado por Huerta (1986), el cual consignó las siguientes conclusiones: en pruebas *in vitro*, la resina de gobernadora presenta una tendencia para actuar como nematicida a las dosis de 100 ppm, sobre todo en los géneros *Tylenchus* spp., *Ditylenchus* spp., y *Rhabditis* spp., concluyendo que con *Pratylenchus* spp., *Aphelenchus* spp., *Helicotylenchus* spp., y *Xiphinema* spp., no hubo una consistencia en los datos, debido al bajo número de nemátodos encontrados en las muestras. Para los primeros géneros se encontró que a las dosis de 1000 y 2000 ppm el número de nematodos se elevaba, este autor sugiere que este efecto se debe a que la resina se encuentra demasiado concentrada a estas dosis, y se

forman conglomerados que no logran pasar a través de los poros del suelo, por lo tanto, no se difunde y no tiene contacto con los nematodos.

De acuerdo a esta información que resume gran cantidad de estudios, se concluye que este arbusto de las zonas áridas tiene un gran potencial para la elaboración comercial de productos orgánicos vegetales derivados de su resina, que ayuden a promover una agricultura sostenible y de menor impacto ambiental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo y puesta en marcha de este trabajo experimental que consistió en realizar nueve bioensayos que se efectuaron por separado para analizar la actividad antifúngica de tres extractos (etanólico, metanólico y sódico) hidrosolubles de gobernadora, así como las tres concentraciones (40, 30 y 20%) de sólidos totales o ingrediente activo, se utilizaron una serie de equipos y materiales que a continuación se describen.

Equipos

- Autoclave vertical, marca Boekel, modelo 106 CEA-049.
- Balanza analítica con sensibilidad de 0.0001 g. marca Scientech, modelo SA410.
- Balanza de determinación de humedad marca OHAUS, modelo 6010PC.
- Campana de flujo laminar horizontal equipada con circulación de agua.
- Incubadora de baja temperatura con pantalla digital, marca Precision Scientific, modelo 815.
- Parrilla eléctrica, marca Corning, modelo PC-500.
- Reactor de vapor de agua con agitación de turbina, de velocidad variable marca Brighton.

Material de laboratorio

- Aguja de disección (1)
- Algodón
- Bulbo de succión para pipetas (1)
- Cajas Petri desechables (405)
- Cubetas de plástico de 20

- Encendedor
- Guantes de carnaza
- Matraces Erlen Meyer de 500ml (6)
- Frascos de 100 ml (60)
- Mechero Fisher
- Microscopio óptico
- Papel aluminio
- Papel estraza
- Pissetas (2)
- Probeta graduada de 100 ml (2)
- Recipientes de 500 ml para la resina
- Sacabocados
- Termómetros escala de 0 a 400° C (2)
- Vasos de Precipitado de 100 0ml (2)
- Vernier

Reactivos.

- Etanol
- Metanol
- Hidróxido de Sodio
- Medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA)

Métodos

Realización de las Actividades Experimentales.

Este trabajo se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA). Las actividades de secado, cribado, pesado de las muestras de follaje; extracción de la resina; preparación de los medios de cultivo, lectura del crecimiento micelial y análisis estadístico de la información se realizó en la Gerencia de Biopolímeros.

La extracción de la resina con los diferentes solventes con la técnica de inmersión, la determinación de sólidos en las resinas, el proceso evaporación de los solventes y la alcalinización de los extractos se realizó en la Gerencia de Ingeniería de Reacciones de Polimerización.

Por otro lado, las actividades inherentes a la ejecución de los bioensayos como esterilización, vaciado del medio de cultivo y siembra de los explantes en las cajas petri, se hicieron en la campana de flujo laminar y en la incubadora de la Gerencia de Estudios Ambientales.

Colecta del Follaje de Gobernadora.

Para evaluar la efectividad de los extractos de gobernadora las muestras de hojas y ramas pequeñas de *Larrea tridentata* fueron colectadas en su hábitat natural en el km. 20 de la carretera Saltillo Ramos Arizpe, tratando de obtener sólo ramas y hojas jóvenes del tercio final de las ramas de los arbustos de *Larrea*.

Secado del Material Vegetativo.

El material colectado se secó al aire libre en un cuarto de trabajo y después se guardó en bolsas de papel para ser llevadas a una estufa con recirculación de aire en donde se mantuvieron a temperatura constante de 65°C por un período de 5 días a una humedad relativa de 2 %.

Cribado de Hojas Secas.

El material secado en la estufa se desfolió y se cribó con una malla metálica con orificios de 0.5 cm², con lo que se obtuvo el material vegetativo listo para ser utilizado en el proceso de extracción de la resina con los solventes metanol y etanol a través del reactor de vapor marca Brighton así como con la base hidróxido de sodio mediante el proceso de inmersión.

Extracción de Resina por el Método de Inmersión en los Dos Solventes y la Base

Para la obtención de material de trabajo en volumen suficiente y poder realizar los bioensayos en el laboratorio, se utilizó la técnica de extracción de la resina por inmersión del follaje seco y cribado en cada uno de los 2 solventes (etanol y metanol) y la base (hidróxido de sodio); por lo que se introdujo el follaje de gobernadora en contenedores de 20 L en las que se agregó el solvente, dejando reposar el material vegetativo dentro del solvente durante 24 h a temperatura ambiente; posteriormente se separó el follaje de *Larrea* de cada uno de los solventes y de la base en los cuales se encontraba disuelta la resina.

La separación del material vegetativo del solvente y la base se hizo con una tela de manta para separar las hojas y ramas pequeñas de la resina en solución, esto nos permitió dejar únicamente el licor con el solvente que después se llevaría al proceso de evaporación a través del reactor de vapor marca Brighton para la obtención de la resina; el licor del hidróxido de sodio se dejó así como salió.

Evaporación del Solvente

Una vez separado el follaje del solvente que contenía la resina, se procedió a la determinación del porcentaje de sólidos en una balanza de determinación de humedad, en la que se agrega 1 ml de la resina, dando un valor determinado, que al evaporarse la resina y quedar los sólidos se restaba la cantidad resultante para así obtener la cantidad de sólidos totales contenidos en la resina, luego se procedió a la separación del solvente que sobró de la resina.

Aislamiento y Purificación de la Cepa del Hongo *B. cinerea*.

La cepa del hongo fue aislada de partes vegetativas de rosal infectadas con este hongo las cuales se encontraban en un almácigo dentro de un invernadero; después se realizó la siembra del material infectado en un medio de cultivo PDA. Posteriormente, cuando se observó el crecimiento micelial que caracteriza un moho gris, se sembró el material obtenido en el medio de cultivo PDA y se incubó a 25°C por 5 días, después se realizaron montajes para su identificación microscópica utilizando lactofenol para fijar la muestra en el portaobjetos, para así comprobar microscópicamente la identidad del fitopatógeno. Con el material obtenido e identificado se procedió a realizar resiembras subsecuentes para mantener viable y juvenil el patógeno que finalmente se utilizó en los bioensayos.

Preparación del Medio de Cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA).

A partir del medio de cultivo agar dextrosa y papa que comercialmente lo produce la compañía Becton Dickinson con la marca Bioxon, se prepararon aproximadamente 900 ml del medio de cultivo PDA para cada uno de los bioensayos. Para lograr esto se suspendieron 70.2 g de PDA en polvo en 1800 ml de agua destilada, se mezcló y calentó hasta que quedó completamente disuelto. Con el medio de cultivo así preparado se vaciaron 100 ml en frascos de 125 ml los cuales se taparon con papel aluminio; por último, los frascos con el PDA se pusieron a esterilizar en una autoclave automática a 121°C durante 15 min.

Siembra de Explantes del Fitopatógeno.

Los frascos conteniendo el medio de cultivo PDA ya estéril se sacaron de la autoclave y se abrieron en la campana de flujo laminar la cual previamente había sido desinfectada con alcohol metílico al 99.9%; después se les agregó a cada matraz el peso correspondiente de la dosis de resina de gobernadora hidrosoluble a una temperatura aproximada de 50 a 55°C. La resina suspendida en el medio PDA se agitó

vigorosamente para homogenizarla, luego, se procedió a vaciar el PDA con la resina de *Larrea* en las cajas Petri desechables estériles, en las cuales se vaciaron 20 ml por caja con cinco repeticiones por dosis de resina y se esperó a que solidificara el medio de cultivo.

Mientras se esperaba que solidificara el medio PDA, se procedió a cortar los explantes que contenían el hongo *B. cinerea*, ya una vez que había solidificado el medio de cultivo, se colocaron los explantes en la parte central de la caja Petri, las mismas que se sellaron con una cinta Kleen Pack, para prevenir la contaminación de las cajas ya sembradas con el fitopatógeno. Las cajas Petri fueron previamente etiquetadas con el nombre del hongo, solvente a evaluar, dosis aplicada, número de la repetición, concentración aplicada y fecha de la siembra.

Período de Incubación del Hongo.

Las cajas Petri debidamente etiquetadas y selladas en los bordes para evitar deshidratación del medio PDA que contenía al hongo *B. cinerea*, se colocaron en una incubadora a 25°C durante 120 h para que en estas condiciones se lograra el crecimiento y desarrollo micelial en el medio de cultivo que se había previamente tratado con las dosis de cada uno de los extractos de *L. tridentata*.

Medición del Crecimiento Micelial del Hongo.

Una vez que transcurrió el período de incubación que fue de 120 h, las cajas Petri se sacaron de la incubadora y se procedió a determinar el grado del desarrollo del hongo, para lo cual se utilizó un vernier con el que se midió el crecimiento radial en milímetros de la masa micelial; posteriormente se incorporaron los datos en la computadora, para proceder a la realización del análisis estadístico.

Diseño Experimental

El diseño experimental que se utilizó para el siguiente trabajo fue un completamente al azar cuyo modelo estadístico es:

$$Y_{ij} = \mu + \sigma_j + \varepsilon_{ij}$$

En donde

Y_{ij} = Variable de Respuesta.

i . = Tratamientos.

j = Repeticiones.

μ = Efecto promedio de la media general.

σ_j = Efecto del i -ésimo tratamiento.

ε_{ij} = Error experimental.

Para el análisis de la información se utilizó el paquete de diseños experimentales de la Universidad Autónoma de Nuevo León, versión V2.5 de la Facultad de Agronomía, procesando los datos mediante un diseño completamente al azar con 9 tratamientos [0, 500, 1000, 2000, 4000, 8000, 12000 y 16000, además del testigo químico (Prozicar a 2000 ppm)], cada tratamiento tuvo 5 repeticiones. En este trabajo experimental se realizaron por separado 9 bioensayos:

1. Extracto metanólico de resina de gobernadora a 40 % de ingrediente activo
2. Extracto metanólico de resina de gobernadora a 30 % de ingrediente activo
3. Extracto metanólico de resina de gobernadora a 20 % de ingrediente activo
4. Extracto etanólico de resina de gobernadora a 40 % de ingrediente activo
5. Extracto etanólico de resina de gobernadora a 30 % de ingrediente activo
6. Extracto etanólico de resina de gobernadora a 20 % de ingrediente activo
7. Extracto sódico de resina de gobernadora a 40 % de ingrediente activo
8. Extracto sódico de resina de gobernadora a 30 % de ingrediente activo
9. Extracto sódico de resina de gobernadora a 20 % de ingrediente activo

Para la comparación de medias se utilizó la prueba mínima diferencia significativa (DMS).

Determinación de la Eficacia Inhibitoria de *Larrea tridentata*

La eficacia de los extractos metanólico, etanólico y sódico, a las concentraciones porcentuales de 20, 30 y 40 % de sólidos totales o ingrediente activo (IA), así como a las siete dosis por evaluar más el testigo absoluto (medio de cultivo PDA) y el testigo químico en el crecimiento micelial del fitopatógeno *B. cinerea* se determinó después de que el tratamiento testigo absoluto alcanzó su máximo crecimiento micelial dentro de las cajas Petri. La eficacia de los tratamientos con base en los extractos de resina de gobernadora obtenida con los tres solventes antes señalados, fue determinada mediante la fórmula de Abbott (1925), la cual se presenta a continuación:

$$ET = \frac{RT - rt}{RT}(100)$$

En donde: **ET** = Eficacia de los tratamientos (extractos de *L. tridentata*).

RT = Diámetro en mm de cada uno de los aislamientos que crecieron por completo en las cajas Petri del testigo absoluto (PDA).

rt = Diámetro en mm de cada uno de los aislamientos en los medios envenenados con los tres extractos evaluados de gobernadora.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se observa que en las dosis 2000, 4000, 8000, 12000 y 1600 ppm en las concentraciones al 20, 30 y 40 % existe un efecto inhibitorio del 100 % siendo superior al testigo químico, en lo que respecta a la dosis 1000 ppm solo en la concentración del 40 % se obtuvo un 100 % de inhibición. En las concentraciones del 20 y 30 % en las dosis 500 y 1000 ppm se obtuvieron resultados por arriba del 60 %, en la dosis 500 ppm en la concentración del 40 % se obtuvo un 81 % de efecto inhibitorio. Cabe mencionar que estadísticamente este dato es igual, es decir no hay significancia entre este resultado y el resultado del testigo químico. Estos mismos resultados se presentan gráficamente en la Figura 3.

Los resultados antes señalados son similares a los obtenidos por (Balvantín, 2002) en su investigación relacionada con extractos hidrosolubles de *L. tridentata* y su efecto inhibitorio en el crecimiento *in vitro* del hongo *Pythium* sp. En este trabajo se consigna que los extractos orgánicos vegetales de *L. tridentata*, independientemente del solvente usado o región geográfica donde se haya colectado, son altamente eficaces para inhibir el crecimiento *in vitro* de *Pythium* sp. ya que en el caso del Sonorense con dosis de 500 ppm se logró una inhibición total, y en el caso del Chihuahuense se logró a partir de 2000 ppm.

En el trabajo realizado por Vargas-Arispuro *et al.* (1997) sobre la actividad antiaflatoxigenica *in vitro* de diez extractos vegetales, se destaca el efecto del extracto de *L. tridentata* obtenido con el solvente diclorometano, ya que inhibió en 92 y 86 % el crecimiento de los hongos *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* respectivamente; en cambio los extractos metanólicos tuvieron poco efecto inhibitorio sobre dichos patógenos.

Cuadro 1. Comparación de medias (%) de la efectividad antifúngica de *B. cinerea* debido al efecto de siete dosis y tres concentraciones de ingrediente activo de la resina etanólica de *L. tridentata*.

Tratamientos ($\mu\text{L/L}$)	Porcentaje de Ingrediente Activo de la Resina Etanólica		
	20 %	30 %	40 %
*Testigo Absoluto	0.00 e	0.00 e	0.00 d
**Testigo Químico	89.33 b	89.33 b	89.33 b
500	62.43 d	69.07 c	81.27 c
1000	69.39 c	74.96 c	100.00 a
2000	100.00 a	100.00 a	100.00 a
4000	100.00 a	100.00 a	100.00 a
8000	100.00 a	100.00 a	100.00 a
12000	100.00 a	100.00 a	100.00 a
16000	100.00 a	100.00 a	100.00 a
DMS	5.14	4.96	3.21

*agua destilada; **Prozicar a 2000 $\mu\text{L/L}$.

Resultados con la misma literal son estadísticamente iguales ($P \leq 0.05$).

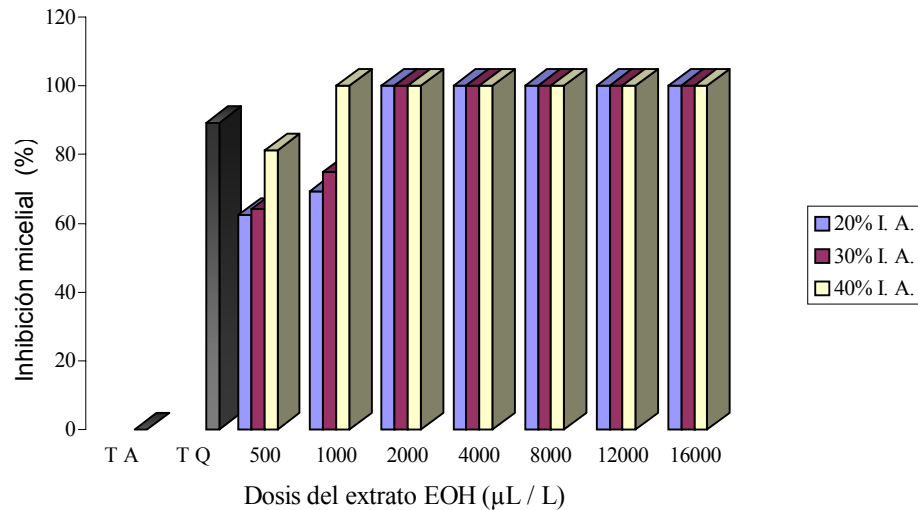


Figura 3. Inhibición del crecimiento micelial de *B. cinerea* con siete dosis del extracto etanólico de *L. tridentata* a diferentes concentraciones de ingrediente activo.

En el Cuadro 2 se puede apreciar que con las dosis 4000, 8000, 12000 y 16000 $\mu\text{L/L}$ se logró una inhibición de un 100 % en las concentraciones 20, 30 y 40 % de ingrediente activo; también se logró un 100 % de inhibición con 1000 y 2000 $\mu\text{L/L}$, con la concentración al 40 %. Igualmente se obtuvo un efecto inhibitorio por arriba del 60 % en 500, 1000 y 2000 ppm en concentraciones 40 y 30 %, respectivamente. Por lo que respecta al testigo químico, su acción fungicida estuvo por debajo de las dosis 4000, 8000, 12000 y 16000 $\mu\text{L/L}$ en las tres concentraciones del extracto metanólico, esto indica claramente el potencial antifúngico de los extractos. Esto se aprecia de igual manera en la figura 4. Resultados divergentes en relación con el extracto metanólico de gobernadora son los publicados por Vargas-Arispuro *et al.* (1997) sobre la actividad antiaflatoxigenica *in vitro* de diez extractos vegetales, ya que estos autores destacan el efecto del extracto de *L. tridentata* obtenido con el solvente diclorometano por que inhibió en 92 y 86 % el crecimiento de los hongos *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, respectivamente; en cambio los extractos metanólicos tuvieron poco efecto en estos hongos.

Cuadro 2. Comparación de medias (%) de la efectividad antifúngica de *B. cinerea* debido al efecto de siete dosis y tres concentraciones de ingrediente activo de la resina metanólica de *L. tridentata*.

Tratamientos ($\mu\text{L/L}$)	Porcentaje de Ingrediente Activo de la Resina Metanólica		
	20 %	30 %	40 %
*Testigo Absoluto	0.00 d	0.00 e	0.00 d
**Testigo Químico	89.33 a	89.33 b	89.33 b
500	14.43 c	46.73 d	64.39 c
1000	23.39 c	65.36 c	100.00 a
2000	43.81 b	68.06 c	100.00 a
4000	100.00 a	100.00 a	100.00 a
8000	100.00 a	100.00 a	100.00 a
12000	100.00 a	100.00 a	100.00 a
16000	100.00 a	100.00 a	100.00 a
DMS	11.90	9.29	2.98.

*agua destilada; **Prozicar a 2000 $\mu\text{L/L}$.

Resultados con la misma literal son estadísticamente iguales ($P \leq 0.05$).

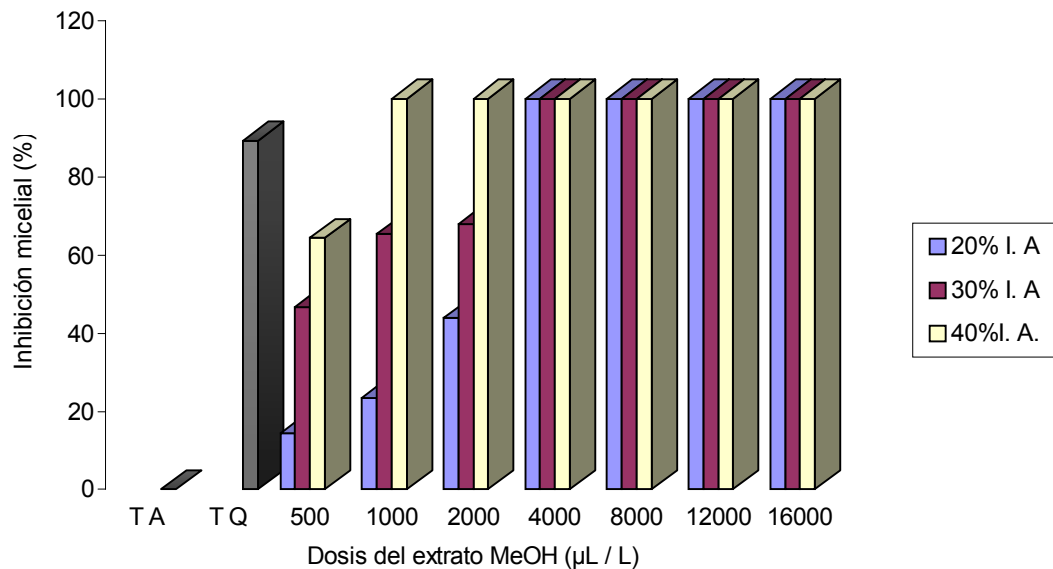


Figura 4. Inhibición del crecimiento micelial de *B. cinerea* con siete dosis del extracto metanólico de *L. tridentata* a diferentes concentraciones de ingrediente activo.

En el cuadro 3 se puede observar claramente que en el extracto sódico los resultados comparados con el testigo químico (Prozicar), fueron superiores a partir de la dosis 12000 µL/L en las concentraciones al 20, 30 y 40 %. También se puede observar que en la concentración al 40 % en las diferentes dosis se expresó un efecto inhibitorio no así con las dosis 500 y 1000 µL/L al 20 y 30 % de concentración. Por otra parte en la dosis 2000 µL/L la concentración al 20 % es el resultado mas bajo pero rebasa a los resultados obtenidos en la concentración al 40 % en las dosis de 500 y 1000 µL/L. Lo mencionado anterior se observa en la Figura 5. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por (Guzmán, 2002) en su investigación titulada, efecto antifúngico de extractos etanólicos y clorofórmicos de resina de gobernadora (*L. tridentata*) de los Desiertos Chihuahuense y Sonorense sobre *Rhizictonia solani* y *Fusarium oxysporun*, en la que explica que su mayor efecto inhibitorio en el crecimiento micelial *in vitro* fue representado por el extracto etanólico sobre el hongo *R. solani*.

Cuadro 3. Comparación de medias (%) de la efectividad antifúngica de *B. cinerea* debido al efecto de siete dosis y tres concentraciones de ingrediente activo de la resina sódica de *L. tridentata*.

Tratamientos ($\mu\text{L/L}$)	Porcentaje de Ingrediente Activo de la Resina Sódica		
	20 %	30 %	40 %
*Testigo Absoluto	0.00 d	0.00 f	0.00 g
**Testigo Químico	89.33 a	89.33 a	89.33 b
500 ppm	0.00 d	0.00 f	6.37 f
1000 ppm	0.00 d	0.00 f	9.87 f
2000 ppm	16.29 c	32.68 e	35.38 e
4000 ppm	50.13 b	54.00 d	69.34 d
8000 ppm	61.27 b	66.53 c	73.85 c
12000 ppm	92.94 a	93.84 a	96.66 a
16000 ppm	100.00 a	100.00 a	100.00 a
DMS	12.53	9.08	4.40

*agua destilada; **Prozicar a 2000 $\mu\text{L/L}$.

Resultados con la misma literal son estadísticamente iguales ($P \leq 0.05$).

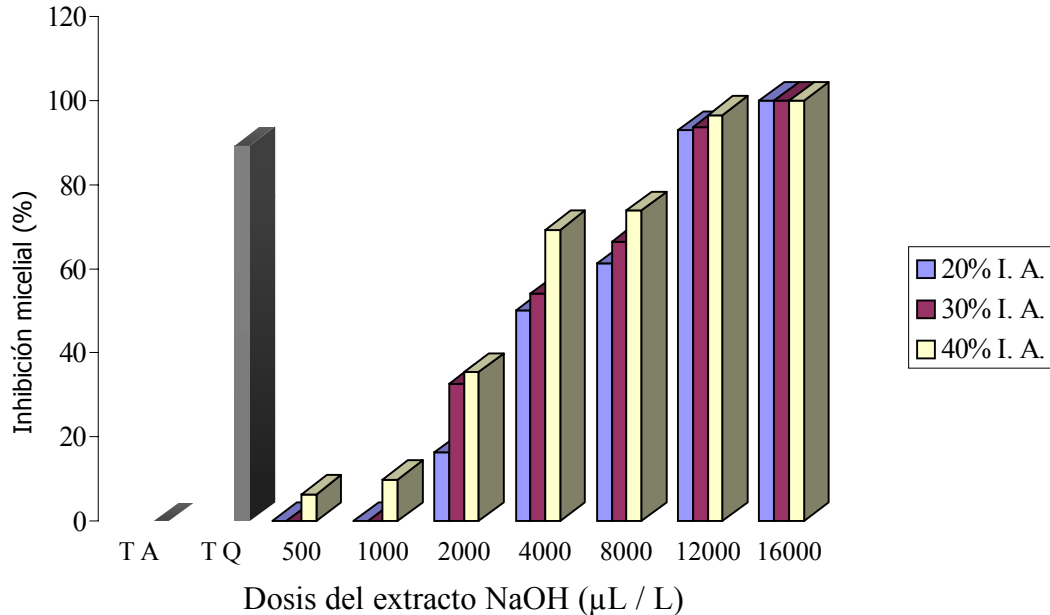


Figura 5. Inhibición del crecimiento micelial de *B. cinerea* con siete dosis del extracto sódico de *L. tridentata* a diferentes concentraciones de ingrediente activo.

En el cuadro 4 se puede observar que para la concentración al 40 % los extractos etanólicos y metanólicos tuvieron un efecto inhibitorio del patógeno y fue de un 100 % en las dosis 1000, 2000, 4000, 8000, 12000 y 16000 $\mu\text{L/L}$, en el extracto sódico en las dosis 12000 $\mu\text{L/L}$ se tuvo un efecto inhibitorio de 94.48 % siendo superior al testigo químico. Para la dosis a 16000 $\mu\text{L/L}$ del extracto sódico se obtuvo un efecto inhibitorio del 100 %, también se puede observar que para el extracto etanólico en la dosis 500 ppm se obtuvo un 81.26 % de inhibición, muy similar al testigo químico, que fue de 88.71 %. Esto mismo se observa en la Figura 6. Los resultados antes mencionados concuerdan con los de Sánchez, (2002), ya que en su investigación orientada a determinar la acción antifúngica *in vitro* sobre *Alternaria solani* de cuatro extractos hidrosolubles de *L. tridentata* de los Desiertos Chihuahuense y Sonorense, se demostró que los extractos clorofórmicos obtenidos del Desierto Sonorense fueron los más eficaces, ya que desde la dosis 2000 $\mu\text{L/L}$ se logró inhibir al 100 % el crecimiento micelial de *Alternaria solani*.

Cuadro 4. Eficacia de tratamientos (%) en la inhibición del crecimiento micelial de *B. cinerea* de tres extractos de resina de *Larrea tridentata* con 40 % de ingrediente activo.

Tratamientos ($\mu\text{L/L}$)	Extractos Aplicados		
	Metanólico	Etanólico	Sódico
*Testigo Absoluto	0.00 d	0.00 d	0.00 g
**Testigo Químico	89.33 b	89.33 b	89.33 b
500	64.39 c	81.27 c	6.37 f
1000	100.00 a	100.00 a	9.87 f
2000	100.00 a	100.00 a	35.38 e
4000	100.00 a	100.00 a	69.34 d
8000	100.00 a	100.00 a	73.85 c
12000	100.00 a	100.00 a	96.66 a
16000	100.00 a	100.00 a	100.00 a
DMS	2.98	3.21	4.40

*agua destilada; **Prozicar a 2000 $\mu\text{L/L}$.

Resultados con la misma literal son estadísticamente iguales ($P \leq 0.05$).

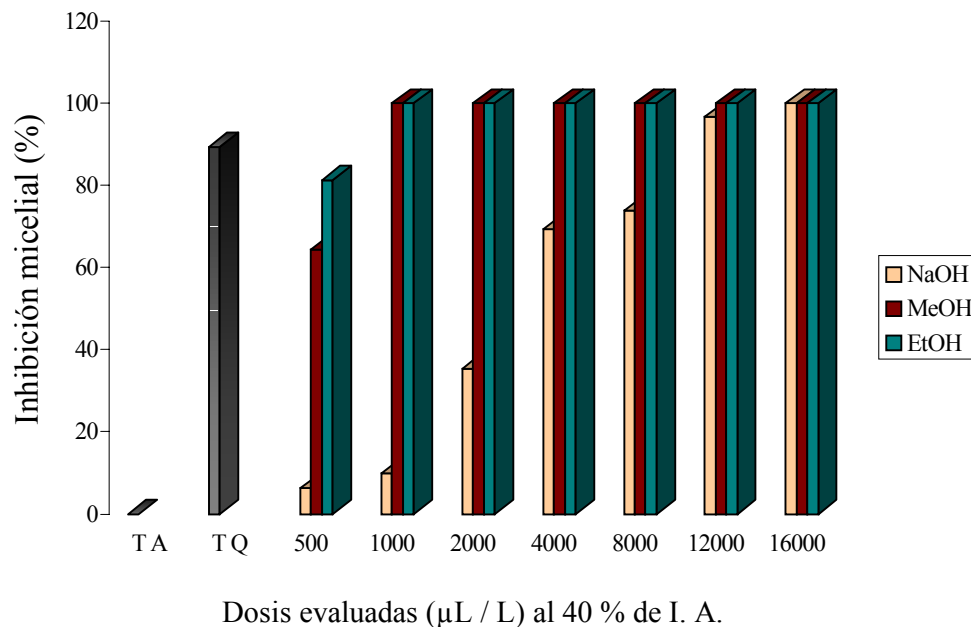


Figura 6. Inhibición del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* con tres extractos de *Larrea tridentata* al 40 % de sólidos totales.

Como se puede observar en el cuadro 5 que para la concentración al 30 %, los tres extractos tuvieron igual comportamiento en la dosis 16000 µL/L, para las dosis 4000, 8000, 12000 µL/L, los extractos metanólico y etanólico tuvieron un 100 % de inhibición, estando estos por arriba del testigo químico. El extracto sódico en la dosis 12000 µL/L tuvo un comportamiento similar al testigo químico y en las dosis 500 y 1000 µL/L se obtuvo un resultado inferior al testigo químico. Para los extractos metanólico y etanólico se obtuvo un porcentaje de inhibición del 50 % en la dosis 1000 µL/L y en la dosis 500 µL/L solo el extracto etanólico obtuvo un resultado superior al 50 % de efecto inhibitorio. Lo anterior también se aprecia en la Figura 7. Estos resultados se pueden comparar con los encontrados por (Rivera-Castañeda *et al.*, 2001) en donde el efecto inhibitorio del hongo *Tilletia indica* de varios extractos de plantas indican que la inhibición total *in vitro* del hongo ocurrió con 500 mg/ml del extracto de *L. tridentata* obtenido con diclorometano.

Cuadro 5. Eficacia de tratamientos (%) en la inhibición del crecimiento micelial de *B. cinerea* de tres extractos de resina de *Larrea tridentata* con 30 % de ingrediente activo.

Tratamientos($\mu\text{L/L}$)	Extractos Aplicados		
	Metanólico	Etanólico	Sódico
*Testigo Absoluto	0.00 e	0.00 e	0.00 f
**Testigo Químico	89.33 b	89.33 b	89.33 a
500	46.73 d	69.07 c	0.00 f
1000	65.36 c	74.96 c	0.00 f
2000	68.06 c	100.00 a	32.68 e
4000	100.00 a	100.00 a	54.00 d
8000	100.00 a	100.00 a	66.53 c
12000	100.00 a	100.00 a	93.84 a
16000	100.00 a	100.00 a	100.00 a
DMS	9.29	4.96	9.08.

* agua destilada; **Prozicar a 2000 $\mu\text{L/L}$.

Resultados con la misma literal son estadísticamente iguales ($P \leq 0.05$).

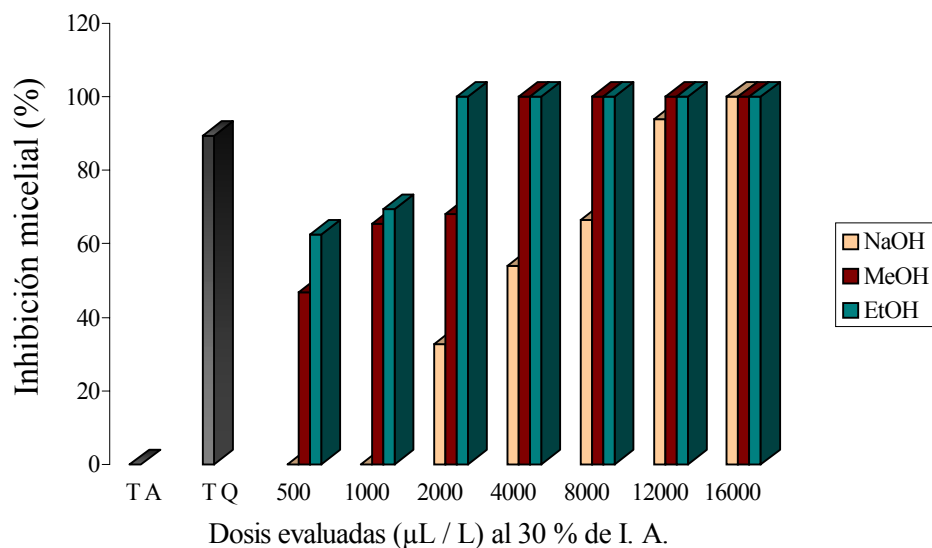


Figura 7. Inhibición del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* con tres extractos de *Larrea tridentata* al 30 % de sólidos totales.

En el Cuadro 6 se observan los resultados obtenidos en relación con la inhibición de *B. cinerea* por los diferentes tratamientos y extractos de *L. tridentata* con una concentración de 20 % de ingrediente activo. Se aprecia claramente que el extracto etanólico obtuvo los mejores resultados en comparación con los extractos metanólico y

sódico, ya que el etanólico mostró un mayor efecto inhibitorio en las dosis estudiadas de 2000, 4000, 8000, 12000 y 16000 $\mu\text{L/L}$; debido a que logró un 100 % de inhibición, lo mismo sucedió con el extracto metanólico a las dosis de 4000, 8000, 12000 y 16000 $\mu\text{L/L}$, porque produjeron los mejores porcentajes de inhibición. Lo anterior se aprecia claramente en la Figura 6. Resultados similares han sido consignados por (Lira-Saldívar *et al.*, 2003c) quienes encontraron que el crecimiento micelial del hongo *Alternaria solani* que ataca al cultivo de la papa entre muchos otros cultivos, también fue significativamente afectado a partir de 2000, 4000 y 8000 $\mu\text{L/L}$.

En este trabajo experimental también se detectó que el extracto sódico solo obtuvo los mejores resultados en la dosis 16000 $\mu\text{L/L}$. De acuerdo a los resultados obtenidos en el testigo químico con la dosis a 2000 $\mu\text{L/L}$ los extractos metanólico y sódico tuvieron un comportamiento inferior al testigo químico. En las dosis antes mencionadas se observa que el mejor efecto inhibitorio (70 %) sobre el patógeno, se obtuvo con el extracto etanólico. La información antes expuesta también se puede apreciar gráficamente en la Figura 6. Resultados similares en cuanto a la actividad antifúngica a los aquí presentados, pero utilizando extractos crudos de gobernadora, y no los hidrosolubles que se emplearon en este trabajo, Velásquez, (1981) encontró que el extracto que mejor efecto manifestó en sus estudios *in vitro* fue el etanólico a dosis de 2000 $\mu\text{L/L}$.

Cuadro 6. Eficacia de tratamientos (%) en la inhibición del crecimiento micelial de *B. cinerea* de tres extractos de resina de *Larrea tridentata* con 20 % de ingrediente activo.

Tratamientos($\mu\text{L/L}$)	Extractos Aplicados		
	Metanólico	Etanólico	Sódico
*Testigo Absoluto	0.00 d	0.00 e	0.00 d
**Testigo Químico	89.33 a	89.33 b	89.33 a
500	14.43 c	62.43 d	0.00 d
1000	23.39 c	69.39 c	0.00 d
2000	43.81 b	100.00 a	16.29 c
4000	100.00 a	100.00 a	50.13 b
8000	100.00 a	100.00 a	61.27 b
12000	100.00 a	100.00 a	92.94 a
16000	100.00 a	100.00 a	100.00 a
DMS	11.90	5.14	12.53.

*agua destilada; **Prozicar a 2000 $\mu\text{L/L}$.

Resultados con la misma literal son estadísticamente iguales ($P \leq 0.05$).

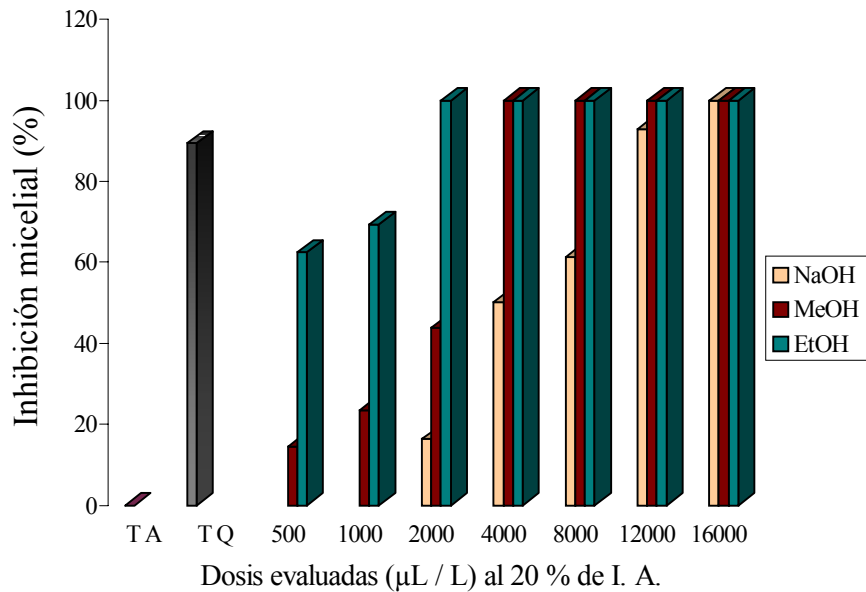


Figura 8. Inhibición del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* con tres extractos de *L. tridentata* al 20 % de sólidos totales.

CONCLUSIONES

- ❖ Con los tres extractos de resina de gobernadora se detectó un claro efecto antifúngico sobre el hongo *B. cinerea*.
- ❖ Con el extracto etanólico a bajas dosis (500, 1000, 2000 y 4000 $\mu\text{L/L}$), se obtuvieron los mejores resultados en cuanto a la inhibición del crecimiento micelial de *B. cinerea*.
- ❖ El extracto metanólico mostró mejores resultados en la inhibición del hongo a las concentraciones relativamente altas de 8000, 12000 y 16000 $\mu\text{L/L}$.
- ❖ La concentración a 40 % de sólidos totales o ingrediente activo de los extractos etanólico y metanólico, mostró la mayor eficacia inhibidora sobre *B. cinerea*.
- ❖ Con la dosis de 16000 $\mu\text{L/L}$ se obtuvieron los mejores resultados en los tres extractos (etanólico, metanólico y sódico), a las tres concentraciones de ingrediente activo estudiadas.
- ❖ El efecto fungicida del testigo químico sintético utilizado (Prozicar) fue inferior al reportado por las concentraciones de 20, 30 y 40 % de IA a la dosis de 16000 $\mu\text{L/L}$.
- ❖ Los resultados generados sugieren que los extractos hidrosolubles de gobernadora tienen el potencial de constituirse en un fungicida orgánico, el cual pudiera ser empleado en programas de agricultura orgánica o de bajo impacto ambiental.

LITERATURA CITADA

- Abril M., J. K. Curry, E. D. Wedge. 2003. Efecto del fungicida FD141 y sus análogos en la germinación y morfología de seis hongos patógenos de plantas. Conferencia Panamericana de Fitopatología. South Padre Island, Texas, U. S. A. Abril 5-10. pp. 263.
- Agrios, N. G. 1985. Fitopatología. Editorial Limusa. Primera edición. México, DF. Pp. 838.
- Alexopoulos, C. J., C. W. Mims and M. Blackwell. 1996. Introductory Micology. John Wiley Sons, Inc. Fourth edition. New York, U.S.A. pp. 865.
- Balvantín, G. F. 2002. Extractos Hidrosolubles de *Larrea tridentata* y su Efecto Inhibitorio en el Crecimiento *in vitro* del Hongo *Pythium* sp. Tesis de Licenciatura de la Universidad Autónoma de Coahuila. pp. 59.
- Bosques-Molina, E. 1999. Situación actual de las medidas de control de las enfermedades poscosecha en las frutas y hortalizas. First International Congress and Exhibition of Horticulture, Septiembre 1-4, Mazatlán, Sin., México. pp. 28.
- Branzanti, E. C. 1989. La Fresa. Ediciones Mundi-Prensa. Primera edición. Madrid, España. pp. 386.
- Brinker, F. 1993. *Larrea tridentata* (D.C.) Coville (chaparral o cerosote Bush). *British Journal of Phytotherapy*. 3:10-31.
- Cheah, L. H., D. Irving and A. Hunt. 1993. Hot water treatment for control of *Botrytis* storage rot in kiwifruit: A review. Proceedings of the Australasian Postharvest Conference. Gatton College, Queensland, Australia. pp. 85-86.
- Coyier, D. L. 1997. Testing procedures to determine the volatile activity of fungicides for control of sugar beet seedling diseases in laboratory and greenhouses. In Hinckey K. D. (Ed.). Methods for evaluating pesticides for control of plant pathogens. ASP Press, St. Paul Minnesota. pp. 102-105.
- Downun, K. R., J. Dole and E. Rodriguez. 1988. Nordihydroguaiaretic Acid: Inter- and Intrapopulational Variation in the Sonoran Desert Creosote Bush (*Larrea tridentata*). pp. 12-13.

- Deacon J. W. 1988. Introducción a la micología moderna. Editorial Limusa. Primera edición, México, DF. pp. 350.
- Funt, R. C., M. A. Ellis, and C. Welty. 1997. Midwest Small Fruit Pest Management Handbook, Bulletin 861. The Ohio State University.
- Gamboa-Alvarado, R., F. D. Hernández, E. Guerrero, A. Sánchez y R. H. Lira. 2003. Inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Khün y *Phytophthora infestans* Mont. (De Bary) con extractos vegetales metanólicos de hojaseñ (*Flourensia cernua* D. C.), mejorana (*Origanum majorana* L.) y Trompetilla [*Bouvardia ternifolia* (Ca.) Schlecht] Revista Mexicana de Fitopatología. 21:13-18.
- Gamboa-Alvarado R, FD Hernández, E. Guerrero, A. Sánchez, L. A. Villarreal, R. G. López, F Jiménez, R. H. Lira Saldivar. 2003. Antifungal effect of *Larrea tridentata* extracts on *Rhizoctonia solani* Kühn and *Phytophthora infestans* Mont (De Bary). *PHYTON International Journal of Experimental Botany*. 2003:119-126.
- García, J. M., C. Aguilera and A. M. Jiménez. 1996. Gray mold and quality of strawberry fruit following postharvest heat treatment. *HortScience* 31 (2):255-257.
- Gerardo, A.M., S. A. Apodaca., y B. J. Quintero. 1995. Control de patógenos del tomate en postcosecha con extracto de semilla toronja. XXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología A. C. Guadalajara, Jalisco. Méx. Resumen. pp. 87.
- Gleason, M. L., N. Zriba, and G. R. Nonnecke. 1997. Evaluation of biological products for control of gray mold (*Botrytis cinerea*) on june-bearing strawberries in Iowa, The Iowa State University, Ames.
- Guzman G., L. J. 2002. Efecto antifúngico de extractos etanólicos y clorofórmicos de resina (*Larrea tridentata*) de los Desisertos Chihuahuense y Sonorense sobre *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo Coahuila, México. 45p.
- Henz, G. P. 1992. Patología postcosecha de hortalizas. Memorias de la I Reunión Latinoamericana de Tecnología Postcosecha. Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapala. México, D.F. pp. 225.
- Hernández H., L. U. y A. N. Granados. 1992. Actividad de extractos de leguminosas sobre hongos causantes de enfermedades en frutos de postcosecha en condiciones de laboratorio. XIX Congreso Nacional de Fitopatología, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 162 p.
- Huerta de la P., A. 1986. Acción nematocida de la resina de gobernadora *Larrea*

- tridentata* Coville en Guayule *Pharthenium argentatum* Gray bajo cultivo. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo Coahuila, México. 94 p.
- Kitinoja, L. and A. A. Kader. 1995. Small-scale postharvest handling practices – A manual for horticultural crops. 3rd edition. UC Davis. California. pp 70-78
- Lima, G., A. Ippolito., F. Nigro, and M. Selerno. 1997. Effectiveness of *Aureobasidium pulluans* and *Candida oleophila* against postharvest strawberry rots. *Universita degli studi de Bari, Postharvest Biology and Technology*, 10:2, 169-178; Bari, Italy.
- Lir, H. and Yun, T. 2000. Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *Journal of Food Science and Agriculture* 81:269-274.
- Lira-Saldivar, R. H. R. Gamboa-Alvarado, L. A. Villarreal-Cárdenas, R. G. López-Campos, F. Jiménez-Díaz. 2002. Hydrosoluble extracts of *Larrea tridentata* from two desertic zones in the north of México and their inhibitory effect on *Fusarium oxysporum*. *PHYTON*. 2002:167-172.
- Lira-Saldivar H. R., Peña-Rodríguez F., Hernández-Castillo D., Lara-Victoriano F. 2003a. Inhibición del crecimiento micelial in vitro de *Botrytis cinerea*, una importante enfermedad de rosas con formulaciones Quitosan-Larrea. X Congreso nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícola, IX Congreso Nacional y II Internacional de Horticultura Ornamental. Texcoco, México, México. Octubre 20 -24. pp 1893.
- Lira Saldivar., R. H., G.F Balvantin., C.F.D Hernández., y Jiménez-Díaz, D. Jasso de R. 2003b. Evaluation of resin content and the antifungal effect of *Larrea tridentata* Sesse and Moc. Ex. DC) Coville extracts from two Mexican deserts against *Pythium* sp. pringsh. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:115-119.
- Lira, S., R.H. 2003c. Estado actual del conocimiento sobre las propiedades biocidas de la gobernadora [*Larrea tridentata* (D.C.) Coville]. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21:214-222.
- Lira-Saldivar, R. H., Sánchez, M. R., Gamboa R., D. Jasso, and R. Rodríguez, 2003d. Fungitoxic effect of *Larrea tridentata* resin extracts from the Chihuahua and Sonoran Mexican deserts on *Alternaria solani*. *Agrochimica*. pp. 47:55.
- Martínez, A. J. y A. O. Del Río. 1975. Principales enfermedades del cultivo de la fresa en Valle de Zamora, Mich. México. INIA. pp. 22. (Folleto Misc. No. 27).
- Mendoza, Z. C. y C. B. Pinto. 1985. Principios de fitopatología y enfermedades causadas por hongos. UACH. Chapingo, México. pp. 311.

- Mendoza, Z. C. 1991. Diagnostico de enfermedades fungosas. 1ra. Edición. UACH. Chapingo, México. pp. 168.
- Pantástico, E. B. 1979. Fisiología de Postrecolección, Manejo y Utilización de Frutos y Hortalizas Tropicales y Subtropicales. Editorial CECSA, Primera edición, México, D.F.
- Paulus, A. O. 1990. Fungal diseases of strawberry. HortScience 25 (8): 885-889.
- Postharvest News & Information. 1996. Thiabendazole resistance in ware tubers 7(6):66N.
- Powelson, R. L. 1960. Initiation of Strawberry Fruit Rot caused by *Botrytis cinerea*.; Phytopathology 50:491-494.
- Rivera-Castañeda, G., M. A. Martínez-Téllez, S. Vallejo-Cohen, Alvarez-Manzanilla, G., I. Vargas-Arispuro, P. Moya-Sanz., and E. Primo-Yúfera, 2001. *in vitro* inhibition of mycelial growth of *Tilletia indica* by extracts of native plants from Sonora, México. Revista Mexicana de Fitopatología. 19:214-217.
- Salazar, F., J. García, R. E. y Tlapal, B., B. 1991. Efectos de la incorporación de residuos de Gobernadora (*Larrea tridentata*) D.C. (Coville) y Epazote (*Chenopodium ambrosioides* L.) en suelos infestados con *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani*, en la germinación y crecimiento de plantas de frijol. Revista Mexicana de Fitopatología 9:102-104.
- Sánchez O. M. R. 2002. Acción Antifúngica *in vitro* sobre *Alternaria solani* de Cuatro Extractos Hidrosolubles de *Larrea tridentata* de los Desiertos Chihuahuense y Sonorense. Universidad Autónoma de Coahuila. Tesis de Licenciatura. Saltillo Coahuila, México. 39 p.
- Saks, Y., A. Copel., and R. Barkai-Golan. 1996. Improvement of harvest strawberry quality by illumination: Colour and *Botrytis* infection. Postharvest Biology and Technology. 8(1):19-27.
- Sommer, N, F. 1981. Enfermedades de postcosecha de las frutas. Memorias del seminario sobre manejo y conservación de frutas, hortalizas y flores. FIRA y Banco de México, pp. 56.
- Vargas-Arispuro, I., S. Araujo-Bernal, M. A. Martínez-Téllez, y M. Ortega-Nieblas 1997. Efecto de extractos de plantas sobre el crecimiento y producción de aflatoxinas de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. Revista Mexicana de Fitopatología. 15:91-95.
- Velásquez, M. J. L. 1983. Evaluación del poder bactericida o bacteriostático de la fracción etanólica de la resina de gobernadora contra las bacterias fitopatógenas

Erwinia amylovora, *E. atroseptica* y *Pseudomonas solanacearum*. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 57p.

Yang, T., W. 1970. Major chromosome races of *Larrea divaricata* in North América. J. Ariz. Acad. Sci.6:41-45.

APÉNDICE

Cuadro 1. Análisis de varianza de la inhibición micelial del hongo *B. cinerea*, sometido a tratamientos con extracto metanólico de *L. tridentata* al 20 % de sólidos totales.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT.	8	72161.890625	9020.236328	104.9569	0.000
ERROR	36	3093.921875	85.942276		

C.V. = 14.61 %.

Cuadro 2. Análisis de varianza de la inhibición micelial de *B. cinerea*, sometido a tratamientos con extractos metanólicos de *L. tridentata* al 30 % de sólidos totales.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT.	8	46338.171875	5792.271484	110.5447	0.000
ERROR	36	1886.312500	52.397568		
TOTAL	44	48224.484375			

C.V. = 9.73 %.

Cuadro 3. Análisis de varianza de la inhibición micelial de *B. cinerea*, sometido a tratamientos con extractos metanólicos de *L. tridentata* al 40 % de sólidos totales.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT.	8	45021.812500	5627.726563	1042.4733	0.000
ERROR	36	194.343750	5.398438		
TOTAL	44	45216.156250			

C.V. = 2.77 %.

Cuadro 4. Análisis de varianza de la inhibición micelial de *B. cinerea*, sometido a tratamientos con extractos etanólicos de *L. tridentata* al 20 % de sólidos totales.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT.	8	44541.593750	5567.699219	346.7959	0.000
ERROR	36	577.968750	16.054688		
TOTAL	44	45119.562500			

C.V. = 5.00 %.

Cuadro 5. Análisis de varianza de la inhibición micelial de *B. cinerea*, sometido a tratamientos con extractos etanólicos de *L. tridentata* al 30 % de sólidos totales.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT.	8	43060.843750	5382.605469	360.4046	0.000
ERROR	36	537.656250	14.934896		
TOTAL	44	43598.500000			

C.V. = 4.74 %

Cuadro 6. Análisis de varianza de la inhibición micelial de *B. cinerea*, sometido a tratamientos con extractos etanólicos de *L. tridentata* al 40 % de sólidos totales.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT.	8	43021.000000	5377.625000	857.7990	0.000
ERROR	36	225.687500	6.269097		
TOTAL	44	43246.687500			

C.V. = 2.92 %.

Cuadro 7. Análisis de varianza de la inhibición micelial de *B. cinerea*, sometido a tratamientos con extractos sódicos de *L. tridentata* al 20 % de sólidos totales.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT.	8	72385.593750	9048.199219	94.8658	0.000
ERROR	36	3433.640625	95.378906		
TOTAL	44	75819.234375			

C.V. = 21.44 %.

Cuadro 8. Análisis de varianza de la inhibición micelial de *B. cinerea*, sometido a tratamientos con extractos sódicos de *Larrea tridentata* al 30 % de sólidos totales.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT.	8	70192.156250	8774.019531	175.0761	0.000
ERROR	36	1804.156250	50.115452		
TOTAL	44	71996.312500			

C.V. = 14.60 %.

Cuadro 9. Análisis de varianza de la inhibición micelial de *B. cinerea*, sometido a tratamientos con extractos sódicos de *L. tridentata* al 40 % de sólidos totales.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT.	8	66448.468750	8306.058594	705.4134	0.000
ERROR	36	423.890625	11.774739		
TOTAL	44	66872.359375			

C.V. = 6.42 %.