

EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA *in vitro* DE
EXTRACTOS DE PLANTAS DEL SEMIDESIERTO
SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE
Rhizoctonia solani KUHN y *Phytophthora*
infestans (MONT) DE BARY.

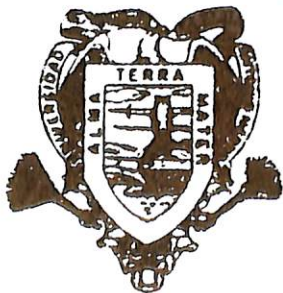


BIBLIOTECA
EGIDIO G. REBONATO
BANCO DE TESIS
U.A.A.A.N.

ROBERTO GAMBOA ALVARADO

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGIA AGRICOLA



Universidad Autónoma Agraria
"Antonio Narro"

PROGRAMA DE GRADUADOS

Buena Vista, Saltillo, Coah. T13508

JUNIO DE 2002

UAAAN
ESAAN

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA *IN VITRO* DE EXTRACTOS DE PLANTAS DEL
SEMIDESIERTO SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE *Rhizoctonia solani* KÜHN
y *Phytophthora infestans* (MONT.) DE BARY.

TESIS

POR

ROBERTO GAMBOA ALVARADO



BIBLIOTECA
EGIDIO G. REONATO
BANCO DE TESIS
U.A.A.A.N.

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada
Como requisito parcial para optar el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal:

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo

Asesor:

M.C. Abiel Sánchez Arizpe

Asesor:

Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez

Asesor:

Dr. Ricardo Hugo Lira Saldivar

713508
Dr. Ramiro Lopez Trujillo
Subdirector de Postgrado

713508

Buenavista, Saltillo, Coahuila, Junio del 2002.

Galileo Galilei, sabio italiano que nació hace más de cuatro siglos, escribió una vez:

"... Si la tierra fuera tan escasa como las joyas o los metales preciosos, no habría rey que no diera un montón de diamantes y rubíes y numerosos lingotes de oro sólo a cambio de la cantidad de tierra suficiente para llenar una maceta en qué plantar un jazmín o un naranjo para poder verlo germinar, crecer y cubrirse de graciosas hojas, de olorosas flores, de delicados frutos."

La perfección es enemiga del progreso; todo en sí, es un proceso de continua aproximación...

Anónimo

Agradecimientos

Al mi alma terra mater por la oportunidad de recibirme y formarme profesionalmente al lado de un fuerte pilar de calidad, al personal docente que, mientras me instruyó en el conocimiento, fue capaz de inculcar a mi vida valores profesionales tendientes hacia el servicio, trabajo y la mejora constante con responsabilidad de mis quehaceres y así, conseguir la culminación de mis estudios de postgrado.

Al CONACYT por brindarme el apoyo financiero para sostener mis estudios de maestría durante todo el programa de preparación profesional.

Al personal del Departamento de Parasitología Agrícola por brindarme la gentileza y bondad de servicio para hacer uso de las instalaciones y laboratorios donde desarrollé esta investigación.

Al comité de asesoría por su constante apoyo, motivación, conducción y revisión de este material de tesis que sin su intervención no hubiera sido posible darlo a conocer ante el gremio científico.

A todos mis compañeros de maestría por el ambiente de amistad que nos permitió compartir experiencias de formación, momentos de alegría, tensión, competencia sana, triunfos, fracasos y sueños que sin duda, serán mis recuerdos más apreciados en mi formación de postgrado.

Dedicatoria

Con todo mi cariño, respeto, amor y compromiso de entrega para mis padres

Por haberse comprometido con responsabilidad a conducir mis pasos y estar pendiente de mi desarrollo espiritual e intelectual dentro del núcleo familiar, social y profesional; su mejor técnica de enseñanza para enfrentarme a la vida fue una educación fundamentada en ejemplos y prácticas de la sencillez, respeto, humildad, responsabilidad; gracias por saber inculcar en mí y mis hermanos la templanza del saber luchar por los objetivos que nos planteamos en la vida. Porque su amor, cariño, apoyo y comprensión han sido demostrados siempre en forma incondicional y el sabio consejo otorgado en el momento que más me ha hecho falta.

Papá, mamá, los amo, gracias por ser los padres maravillosos que Dios me ha dado.

A mis hermanos.

Por su gran entusiasmo ejemplar de superación profesional que han sabido demostrar, les digo que son el orgullo y admiración de nuestra familia. Gracias por ser mis hermanos.

A mi esposa

Por su compañía, amor y paciencia en todo momento crucial de mi desenvolvimiento profesional y familiar.

Hija

Botón en crecimiento, tú que lo vales todo, eres la insignia y sentido de mi luz y vida.

COMPENDIO

Efectividad biológica *in vitro* de extractos de plantas del Semidesierto sobre el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary.

POR

ROBERTO GAMBOA ALVARADO

MAESTRÍA PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA; UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO; BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. JUNIO DEL 2002.

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo -Asesor-

Palabras clave: *Flourensia cernua*, *Origanum majorana*, *Bouvardia ternifolia*, *Larrea tridentata*, extractos fungicidas, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora infestans*.

Con base a ensayos preliminares de 11 plantas ampliamente distribuidas en la región de Coahuila y otras zonas de México a la que se les extrajo la resina con metanol, acetona y hexano, se obtuvieron 33 extractos que fueron sometidos a selección considerando aspectos de solubilidad, cantidad y antecedentes de efectividad biológica. Los extractos metanólicos de mejorana (*Origanum majorana*), hojaseñ (*Flourensia cernua*) y trompetilla (*Bouvardia ternifolia*) debido a su efectividad biológica fueron evaluados bajo condiciones *in vitro* usando el método del medio envenenado contra *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans* en medio de cultivo PDA. De igual manera se estableció un bioensayo con el fin de conocer la efectividad antifúngica de ocho extractos metanólicos hidrosolubles de gobernadora (*Larrea tridentata*) de muestras provenientes de los paralelos 24, 25, 26 y 27° LN del Desierto Chihuahuense (DCh) y de las mismas latitudes en el Desierto Sonorense (DS).

La información generada con los tres extractos metanólicos de hojasén, mejorana y trompetilla resultaron ser significativamente aceptables contra *R. solani* al expresar acción fungistática hasta dosis de 20,000 ppm; contra *P. infestans* se obtuvieron valores altamente significativos al identificarse que el extracto de *O. majorana* desde la dosis de 8,000 ppm se presentó un efecto fungicida; a 4,000 ppm se observó una acción fungistática, mientras que los extractos de *F. cernua* y *B. ternifolia* mostraron un ligero efecto fungistático a dosis altas.

En el bioensayo con extractos de gobernadora fue detectado un claro efecto fungicida incluso a 500 ppm contra *P. infestans* y a 2,000 ppm contra *R. solani*; se encontraron diferencias significativas entre la acción inhibitoria de los extractos provenientes de ambos desiertos, ya que los provenientes del DS fueron más efectivos que los provenientes DCh. Los resultados con los extractos de *L. tridentata* indican que las características ambientales de donde se obtuvieron, afectaron las concentraciones de los agentes fungitóxicos, ya que los extractos colectados de las latitudes sur en el DCh fueron más efectivos contra los dos patógenos que los extractos de las latitudes norte. Con los extractos del DS se observó un efecto inhibitorio inverso, porque los extractos provenientes de las latitudes norte tuvieron un mayor efecto fungicida sobre el crecimiento de ambos patógenos que los provenientes de las latitudes sur. Prácticamente, los extractos de gobernadora de los ocho sitios de muestreo de ambos desiertos no permitieron el crecimiento micelial de los patógenos de estudio a la dosis de 4,000 ppm.

ABSTRACT

In vitro biological effectiveness of plant extracts from semidesertic areas on mycelial growth of *Rhizoctonia solani* Kühn and *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary.

BY

ROBERTO GAMBOA ALVARADO

MASTER OF SCIENCE AGRICULTURAL PARASITHOLOGY; UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO; BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, JUNE 2002.

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo -Advisor-

Key words: *Flourensia cernua*, *Origanum majorana*, *Bouvardia ternifolia*, *Larrea tridentata*, fungicide extracts, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora infestans*.

Based on preliminary assays with eleven herbaceous plants widely distributed in the semidesertic areas of Coahuila and others zones from the north of Mexico, the resin of these plants was extracted with methanol, acetone and hexane, 33 extracts were obtained and subjected to selection considering some aspects such as solubility, quantity produced and their biological effectiveness antecedents. The methanolic extracts from meyorana (*Origanum majorana*), hojasen (*Flourensia cernua*) and trompetilla (*Bouvardia ternifolia*) resulted the best, therefore, they were evaluated in bioassays using the poisoned medium method on PDA against *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora infestans*. In the same manner another assay was established in order to detect the antifungal activity of eight hydrosoluble methanolic extracts obtained from gobernadora or creosote bush (*Larrea tridentata*); the samples were obtained from natural stands of this shrub located along a transect in the parallel 24°, 25°, 26° and 27°

NL from the Chihuahuan Desert (ChD) and from the same latitudes in the portion of the Sonoran Desert (SD).

The information generated with the methanolic extracts from hojasen, mejorana and trompetilla presented a fungistatic action against *R. solani* at the concentration of 20,000 ppm; in regards with *P. infestans* we found highly significant values because the *O. majorana* extract with the dose of 8,000 ppm showed a fungicidal effect, but at 4,000 ppm, it was detected only a fungistatic activity; however the *F. cernua* and *B. ternifolia* extracts reported a slightly fungistatic effect at high doses.

The assay with *L. tridentata* extract showed a clear fungicidal effect even at the low dose of 500 ppm against *P. infestans*, the same effect was observed at 2,000 ppm on *R. solani*. Significant differences were found in the inhibitory action among the extracts obtained from both deserts, because those from SD resulted more effective than those from ChD. The obtained results with *L. tridentata* methanolic extracts indicated that environmental characteristic from both desert affected the concentration of the fungitoxic components of *Larrea* leaves, because the extracts from samples collected in south latitudes in the ChD were more effective against the two plant pathogens compared with the extracts from north latitudes. The SD extracts showed an inverse inhibitory effect because the extracts from latitudes had a greater fungicidal effect on the growth of both pathogens than those from south latitudes. Practically the *L. tridentata* extracts from the eight sampling sites from both deserts did not permitted the mycelial growth of both fungus at the 4,000 ppm concentration.

INTRODUCCIÓN

La vida del hombre está íntimamente ligada a su ambiente, en particular a los vegetales, los cuales le proporcionan alimento, vestido, materiales de construcción, esparcimiento estético, salud o ser tóxicos. Además, los productos naturales de origen vegetal son recursos renovables de múltiple uso para el hombre. Todos los pueblos primitivos han adquirido información sobre las propiedades medicinales de un gran número de plantas propias de su ambiente. Estos conocimientos, generalmente los han acumulado determinados individuos como sacerdotes, hechiceros, curanderos, etc., quienes los han transmitido, de generación en generación; en ocasiones han dejado significantes descripciones de plantas medicinales y su utilidad (Dominguez, 1985, Valencia, 1995). Así, existen diversos antecedentes de plantas de la zonas desérticas de México, en estas descripciones se menciona una gran cantidad de plantas con potencial de exploración para diversos usos, tales como aprovechamiento de sus fibras, potencial alimenticio o forrajero, conocimiento de propiedades medicinales y toxicológicas de ganado como las obras de Villarreal (1983) y Martínez (1994).

El uso indiscriminado de las sustancias desarrolladas sintéticamente a partir de 1944 (origen de la revolución verde) como los organoclorados, organofosforados, carbámicos y otros grupos, ha sido causa de inducción de resistencia en algunos organismos que causan estragos en la agricultura, además, prevalece el problema toxicológico de las sustancias en los humanos, mamíferos y demás organismos de muchos ecosistemas por exponerse a los plaguicidas que se han usado

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
Descripción de los Organismos Bajo Estudio.....	5
El Tizón tardío de la papa	6
Importancia.....	6
Morfología e identificación.....	6
Etiología y reproducción.....	7
Manejo de la enfermedad.....	8
La costra negra de la papa.....	9
Importancia.....	9
Morfología e identificación.....	9
Caracterización y reproducción.....	10
Manejo de la enfermedad.....	10
Importancia de Extractos Vegetales.....	11
Efecto de extractos sobre diferentes organismos.....	12
Descripción de las Plantas Bajo Estudio.....	19
Hojasén (<i>Flourensia cernua</i> D.C.) ASTERACEAE.....	19
Mejorana (<i>Origanum majorana</i> L.) LABIACEAE.....	19
Trompetilla [<i>Bouvardia ternifolia</i> (Cav. Schl.)] RUBIACEAE.....	20
Gobernadora (<i>Larrea tridentata</i>) ZIGOPHILLACEAE.....	20
ARTÍCULO 1: ANTIFUNGAL EFFECT OF <i>Larrea tridentata</i> EXTRACTS ON <i>Rhizoctonia solani</i> KÜHN AND <i>Phytophthora infestans</i> (MONT.) DE BARY...22	
ARTÍCULO 2: INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>Rhizoctonia</i> <i>solani</i> KÜHN Y <i>Phytophthora infestans</i> (MONT.) DE BARY CON EXTRACTOS VEGETALES METANÓLICOS DE HOJASÉN (<i>Flourensia cernua</i>), MEJORANA (<i>Origanum majorana</i>) Y TROMPETILLA. (<i>Bouvardia ternifolia</i>).....	36
CONCLUSIONES GENERALES.....	48
LITERATURA CITADA	50
APÉNDICE.....	54

INTRODUCCIÓN

La vida del hombre está íntimamente ligada a su ambiente, en particular a los vegetales, los cuales le proporcionan alimento, vestido, materiales de construcción, esparcimiento estético, salud o ser tóxicos. Además, los productos naturales de origen vegetal son recursos renovables de múltiple uso para el hombre. Todos los pueblos primitivos han adquirido información sobre las propiedades medicinales de un gran número de plantas propias de su ambiente. Estos conocimientos, generalmente los han acumulado determinados individuos como sacerdotes, hechiceros, curanderos, etc., quienes los han transmitido, de generación en generación; en ocasiones han dejado significantes descripciones de plantas medicinales y su utilidad (Domínguez, 1985, Valencia, 1995). Así, existen diversos antecedentes de plantas de la zonas desérticas de México, en estas descripciones se menciona una gran cantidad de plantas con potencial de exploración para diversos usos, tales como aprovechamiento de sus fibras, potencial alimenticio o forrajero, conocimiento de propiedades medicinales y toxicológicas de ganado como las obras de Villarreal (1983) y Martínez (1994).

El uso indiscriminado de las sustancias desarrolladas sintéticamente a partir de 1944 (origen de la revolución verde) como los organoclorados, organofosforados, carbámicos y otros grupos, ha sido causa de inducción de resistencia en algunos organismos que causan estragos en la agricultura, además, prevalece el problema toxicológico de las sustancias en los humanos, mamíferos y demás organismos de muchos ecosistemas por exponerse a los plaguicidas que se han usado

en la agricultura. Por otro lado, el alto costo de aplicación de pesticidas, ha obligado a los investigadores a centrarse en la búsqueda de nuevos ingredientes activos biodegradables, así como a la implementación de medidas de manejo con menos impacto ambiental pero con igual efecto de control para contrarrestar las principales desventajas de la agricultura convencional.

Se cuenta con una serie de trabajos que argumentan las espectaculares bondades que ofrecen los extractos contra los patógenos. Los estudios desarrollados por Montes *et al.* (1990) con 74 extractos de plantas de diferente naturaleza (hortalizas, ornamentales, frutales, medicinales, forestales y arvenses) muestran que 24 de las 74 especies vegetales evaluadas presentaron entre un 70 y 100 por ciento de inhibición de la germinación de urediosporas de *Uromyces phaseoli*; de estas seleccionaron a 14 plantas para determinar el espectro de acción inhibitoria de 14 hongos fitopatógenos de diferentes grupos taxonómicos y hospederos. Los resultados obtenidos en dicho trabajo fueron variables; siendo los más importantes los obtenidos sobre la germinación de conidias de *Alternaria cucumerina*, *Ensisypho polygoni*, *Fusarium sp.* y *Puccinia sorghi* que durante las pruebas "in vitro" fueron inhibidos por la mayoría de los extractos, mientras que para *Penicillium sp.* se observó estimulación del crecimiento con la mayoría de los extractos; así mismo, sobre *Stemphyllium sp.* no presentó efecto, a excepción del ajo, el resto de los patógenos presentaron una respuesta intermedia, siendo el ajo el que inhibió a todos los patógenos estudiados.

Los ejemplos claros de antecedentes de investigaciones desarrolladas con plantas del desierto, son los estudios relacionados con la explotación de fibra del guayule y candelilla y el minucioso estudio de la gobernadora que se encuentra en los diferentes ecosistemas desérticos del norte de México y sur de EUA; de esta se

conocen las diferencias fenotípicas, cromosómicas y contenido de resina en sus hojas colectada de diferentes poblaciones de esta planta. Se tiene el conocimiento de compuestos identificados, tales como el ácido nordihidroguaietérico (NDGA) que se ha caracterizado por poseer propiedades contra microorganismos patógenos de humanos, plantas, animales, etc, así como sus propiedades curativas y antioxidantes; las propiedades antibióticas que se le atribuyen a las resinas de la gobernadora son fungicida (Fernández, 1979 y García *et al.*, 1997); insecticida (Cortés, 1993), bactericida (Velásquez, 1983) y antiviral (Gnabre, 1995). El potencial de comercialización de sus propiedades está representado en el mercado por una crema cosmética que tiene la garantía de ser un excelente depilador al actuar en la desintegración del folículo piloso de la piel; en Estados Unidos se comercializa otro producto a base de cápsulas que contienen hojas de gobernadora con la propiedad de contrarrestar los daños del virus herpes.

En el mercado actual también existen productos de uso agrícola que son formulados a base del principio activo de plantas, como algunos alcaloides contra insectos como extractos del fruto de neem, y extractos a base de semillas de toronja que se usan para el control de patógenos que se presentan en post-cosecha y durante la comercialización.

Por tal motivo y considerando el potencial que puede existir detrás de este ramo de la toxicología, se evaluaron extractos de 11 plantas regionales, pero debido a su acción en el presente estudio se ha planteado los objetivos que a continuación se enlistan en base a un análisis preliminar del efecto de las posibles sustancias activas que podrían contener los extractos de las plantas seleccionadas para este trabajo:

OBJETIVOS:

- **Determinar la efectividad biológica *in vitro* de extractos de *Origanum majorana*, *Bouvardia ternifolia*, *Flourensia cernua* y *Larrea tridentata* sobre el crecimiento de *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans*.**
- **Conocer el efecto del gradiente latitudinal de la gobernadora respecto a la efectividad biológica sobre los patógenos bajo estudio.**
- **Determinar el extracto con mayor potencial, en base a la capacidad de inhibir a menor dosis a los patógenos bajo estudio.**

REVISIÓN DE LITERATURA

Descripción de los Organismos Bajo Estudio

Phytophthora infestans (Mont.) De Bary (tizón tardío) y *Rhizoctonia solani* Kühn (costra negra) son enfermedades de constante presencia en zonas productoras de papa. Los agentes causales de estas enfermedades son estudiados con enfoques relacionados con manejo, patogenicidad, ciclos de vida y condiciones ambientales que los favorecen, así como también el estudio de la susceptibilidad y respuesta de defensa a agentes químicos, biológicos y mecánicos. Además, se han establecido los grados de ataque tratando de manejar predicciones y umbrales económicos para aprender a convivir con ellos en un ciclo productivo, siempre procurando dar alternativas de respuesta a un manejo óptimo y moldeable a los intereses del productor.

La descripción de los patógenos que a continuación se menciona es meramente relacionada con aspectos generales; son el resultado práctico del manejo que se les da en condiciones de campo y sus descripciones taxonómicas y características de la etiología y epidemiología con que se suele distinguir a cada uno de ellos.

El tizón tardío de la papa.

Importancia.- El agente causal del tizón tardío es *P. infestans*. En Centroamérica y muchas partes donde se cultiva la papa, el tizón sigue siendo el problema más grave de entre las enfermedades del cultivo. Este microorganismo pertenece a la clase Oomycetes (Amador, 2001).

P. infestans presenta una extraordinaria capacidad para mutar y desarrollar nuevas razas, sobre todo en el cultivo de la papa, el que tiene una variabilidad genética estrecha. Los huéspedes de *P. infestans* se encuentran principalmente en el género *Solanum* y *Lycopersicon*. Hay muchas especies silvestres de *Solanum* que son susceptibles, pero entre los hospederos cultivados, el tomate y la papa son los más importantes. El tizón tardío puede causar epidemias devastadoras en tomate. Algunas variedades de papa también son altamente susceptibles y el tizón puede destruir toda la planta. Las plantas son susceptibles durante toda la vida y el hongo puede infectar todas las partes de la planta, incluyendo las hojas, los tallos, las flores, los frutos y los tubérculos. Las pérdidas pueden ser del 100 por ciento porque puede destruir completamente el cultivo. En el follaje la destrucción de área fotosintética por el tizón tardío reduce la capacidad productiva de la papa o del tomate. El impacto cuantitativo depende de la severidad y la duración de la infección. La pérdida de área foliar en tomate, además de la reducción de rendimiento, disminuye la sombra que el follaje ofrece, lo que tiene como resultado frutos quemados por el sol y consecuentemente no comerciables (Lucas, 1991).

Morfología e identificación.- El micelio de *P. infestans* es hialino y cenocítico. Este patógeno es heterotálico, por lo que requiere para la reproducción la unión sexual de

dos talos compatibles para producir las esporas de reposo; las oosporas que poseen paredes gruesas y resistentes. Este patógeno ha sido separado del grupo de los hongos y se reclasificó dentro de las algas por la semejanza de sus características genéticas con las de este tipo de organismos, por tal motivo, ha sido clasificado de la siguiente manera de acuerdo a Alexopoulos *et al.* (1996):

Reino Stramenopila
Pylum Oomycota
Clase Oomycetes
Orden Peronosporales
Familia Pythiaceae
Género *Phytophthora*
Especie *infestans*

Etiología y reproducción.- Las oosporas pueden sobrevivir varios años en el suelo fuera de los tejidos hospedantes. Después de la meiosis y bajo condiciones adecuadas para la germinación, la oospora produce un tubo germinativo que puede penetrar los tejidos del huésped directamente o puede terminar en un esporangio. También posee la etapa asexual (la más infectiva) que consiste en esporangios que son hialinos y ovoides en forma de limón. Los esporangios se dispersan por el viento y por la salpicadura de gotas de lluvia. En condiciones óptimas los esporangios forman las zoosporas. A temperaturas relativamente altas los esporangios producen un tubo germinativo que puede penetrar directamente la cutícula de la hoja. A temperaturas más bajas se forman de 3 a 8 zoosporas biflageladas dentro del esporangio. Se rompe la pared del esporangio y las zoosporas liberadas nadan en la lámina de agua sobre la superficie de la hoja, se enquistan y posteriormente penetran la hoja del hospedero (Hooker, 1980).

Manejo de la enfermedad.- Para el manejo de la enfermedad se necesita un programa integrado de varias técnicas que reduzcan el inóculo inicial y la tasa de infección. Asumiendo que no se encuentran las oosporas en el sitio pueden funcionar la rotación de cultivos que no sean de la familia de solanáceas, pero siempre es necesario buscar y eliminar las plantas voluntarias de *P. infestans* ya que no puede sobrevivir en los tejidos descompuestos debido a la presencia de saprófitos. Se recomienda sembrar sólo semilla certificada libre del patógeno para eliminar una fuente importante de inóculo inicial. Plantas altas no susceptibles al tizón tardío (p. ej., maíz) sirven como filtros o trampas de esporas y pueden disminuir la cantidad del inóculo transportado por el viento. Existen variedades altamente resistentes, pero ellas tienen la desventaja de imponer una presión de selección alta en la población del hongo. Por otro lado, las variedades con resistencia parcial imponen menos presión de selección en el hongo y su resistencia tiende a ser más duradera (Tapia, 2001).

Fry *et al.* (1992). mencionaron que hay algunos fungicidas sistémicos y varios protectantes eficaces para el control de *P. infestans*. La dosis y la frecuencia de aplicación dependen del fungicida específico, del tiempo y del nivel de resistencia que tiene la variedad de tomate o papa. Un control preventivo se realiza con aplicaciones continuas de fungicidas carbamatos, clorotalonil y cúpricos. Como curativos se requiere fungicidas sistémicos como benalaxil, cimoxamil, dimetomorf, fosetil-Al, metalaxil, oxadixil . Es recomendable el uso de variedades tolerantes, aún así el manejo de la enfermedad sigue centrado fundamentalmente en el control químico que sin embargo a parte de ser costosa, constituye una fuente continua de contaminación ambiental y resulta ineficaz contra las poblaciones del hongo que han mostrado resistencia a ciertos fungicidas.

La costra negra de la papa

Importancia.- Amador (2001) cita que esta enfermedad es provocada por el hongo *R. solani* y afecta a la mayoría de los cultivos; está presente en todas las áreas productoras de papa, favoreciéndose más su desarrollo en los suelos húmedos y fríos. Ataca a todas las partes de la planta que están en contacto con el suelo. En el cultivo de la papa afecta los brotes, raíces y estolones produciendo lesiones hundidas de color café oscuro que al desarrollarse provocan su estrangulación.

Morfología e identificación.- Abundantes estudios muestran que *Thanetophorus cucumeris* es el estado perfecto o sexual de *R. solani* y ha sido clasificado para este trabajo de acuerdo a Alexopoulos *et al.*, (1996); estos taxónomos consideraron las hipótesis de reclasificación publicadas por Swann y Taylor (1993) que estudiaron a nivel orden a los basidiomycetos para identificar los grupos monofíticos y comparaciones a nivel clase usando nueve géneros, incluyendo a *Thanetophorus*; las perspectivas de sus estudios con genes localizados a nivel RNA, causaron controversia para la clasificación de este grupo de hongos, por lo cual aún existen dudas para argumentar una clara definición de la taxa a nivel familia, por tal motivo, se sugiere considerar como tentativa la siguiente clasificación:

Reino Fungi

Phylum Basidiomycota

Clase Basidiomycetes

Orden Ceratobasidiales

Género *Thanatephorus*

Especie *cucumeris*

Anomorf. *Rhizoctonia solani* Kühn.

El cultivo de este microorganismo en medio papa-dextrosa-agar desarrolla colonias de color marrón claro con ausencia de micelio superficial y presenta esclerocios oscuros, superficiales en el medio, individuales o agregados, de forma irregular y base aplanada, con orificios y exudados superficiales. Al microscopio óptico se observa un micelio grueso con ramificaciones en ángulo recto y tres a siete núcleos por célula. Es el agente causal de enfermedades en una gran cantidad de hospederos incluyendo los pastos, (Pérez y Moreno, 1997).

Caracterización y reproducción.- Los síntomas típicos en tallos, brotes y estolones son la presencia de canchales necróticos de color pardo oscuro, que en casos severos provocan el estrangulamiento total. Lo anterior puede manifestarse como fallas en el campo (baja brotación), detención del crecimiento, amarillamiento y enrollamiento foliar y crecimiento de tubérculos aéreos. Forma esclerocios, que son la forma de sobrevivencia del patógeno. Estos esclerocios son similares a terrones que se adhieren a la piel de los tubérculos y son portados en la semilla de siembras subsiguientes, como una fuente de contaminación (Amador, 2001).

Amador (2001) menciona que es un habitante común del suelo que se conserva en los rastrojos del cultivo y tubérculos, diseminándose por medio del agua e implementos agrícolas.

Manejo de la enfermedad.- Rodríguez *et al.* (1997) estudiaron el efecto de prácticas culturales para la reducción del añublo de la vaina de arroz causado por *R. solani*. Las prácticas contempladas en la investigación fueron: labranza mínima o convencional, quema o incorporación de residuos de cosecha, siembra al voleo o en hileras a diferentes densidades y aplicación de herbicida; en otro experimento se probaron las

aplicaciones de 5 kg y 10 kg/ha de una mezcla de arroz tratado con *Trichoderma harzianum*. Los resultados expresaron una disminución de alrededor del 40 por ciento de la enfermedad con el uso de una baja densidad de la población y siembra en hileras, y con el controlador biológico la mayor reducción estuvo alrededor del 30 por ciento; lo cual implica que el manejo adecuado y a tiempo de las prácticas culturales pueden llegar a conformar ambientes adversos al desarrollo del fitopatógeno.

Cuando se trata del cultivo de la papa, su control radica en el uso de semilla sana, rotaciones largas con cereales y pastos, siembra superficial de tubérculos con buenos brotes. Fungicidas a base de captan, PCNB, benomilo, TCMTB, tolclofos-metil, pencycuron, iprodione, entre otros, pueden controlar la enfermedad. Como agentes de control biológico se menciona a *Bacillus subtilis*, *Trichoderma* y algunas especies no patógenas de *Rhizoctonia*; sin embargo, no se puede evitar la importancia de una pérdida económica por la presencia de los esclerosios de este patógeno en los tubérculos de cosecha, los cuales, en variedades para mercado fresco reducen la calidad considerablemente al presentarse estas lesiones aunque sea en un porcentaje bajo. Esto se refleja en una baja o nula ganancia al no ser una papa atractiva para el consumidor (García, 1997, Amador, 2001).

Importancia de Extractos Vegetales

El potencial de los extractos vegetales en el manejo de enfermedades se sustenta por apoyar el manejo integrado de producción de cultivos orgánicos; esto es, el uso de insumos agrícolas formulados a base de sustancias naturales no peligrosas para los animales de sangre caliente, poco corrosivas, no tóxicas y cero residuales, utilizando como materia prima para la elaboración de estos productos a extractos de

plantas con propiedades insecticidas y fungicidas; polvos minerales, enzimas ionizadas y organismos benéficos, entre otros, (Quintero *et al.*, 2000).

El punto de partida para la afirmación referente a que las plantas han desarrollado metabolitos con alguna función que le permita coexistir con organismos que le han afectado durante su evolución, obedece a un principio ecológico en el cual se afirma que en la naturaleza debe existir un equilibrio entre una población de cualquier organismo, ya sea animal, vegetal, microbiana, o inclusive el hombre, pudiendo mantenerse en un ambiente donde se limite a un cierto número, siempre y cuando esta población desarrolle algún mecanismo de defensa o de protección, la cual, siempre depende de otra población de organismos que están influyendo sobre la primera, en el cual existen interacciones ecológicas que pueden estar dadas por el parasitismo, depredación, antagonismo (alelopatía), mutualismo, comensalismo, etc. (Odum, 1987).

Las plantas vigorosas ofrecen una fuente excelente de productos naturales biológicamente activos. A través de los años, numerosas plantas han sido exploradas como fuentes de insecticidas. No obstante, los productos naturales de plantas han sido rezagados en el uso a pesar del enorme potencial que pueden tener en la investigación moderna de agroquímicos (Benner, 1993).

Efecto de extractos sobre diferentes organismos

En estudios recientes, Montes *et al.* (2000) realizó un análisis retrospectivo de las investigaciones relacionadas con extractos vegetales con propiedades antifúngicas. En ese análisis menciona que se han probado alrededor de 206 especies de plantas

contra la actividad de 26 especies de hongos fitopatógenos durante la germinación de esporas, desarrollo micelial, esporulación y pruebas de invernadero y campo. Ha logrado formular productos orgánicos a partir de las plantas en las presentaciones de extractos acuosos y hexánicos, polvos, aceites esenciales y metabolitos secundarios antifúngicos. En términos globales promedio de todos los estudios mencionan que los resultados muestran que entre 32 y 21 por ciento de las plantas probadas interactúan con los hongos y la respuesta de los patógenos varía desde la estimulación biológica hasta su total inhibición.

Padilla *et al.* (1995), encontraron que extractos hexánicos de *Quercus* spp. Inhiben completamente el crecimiento micelial de *Colletotrichum lindemuthiarum* y *Rhizoctonia solani* y parcialmente el desarrollo de *Sclerotium rolfsii* y *Pythium* sp. El extracto se incorporó al medio de cultivo PDA a concentraciones de 1000 a 2000 ppm. Además, se elaboró un control con acetona y un testigo absoluto. Al final de los bioensayos, las tres concentraciones del extracto inhibieron de un 0.49 a 9.88 por ciento el crecimiento de *S. rolfsii*, mientras que las concentraciones de 1500 y 2000 ppm inhibieron 4.94 y 13.01 por ciento el crecimiento de *Pythium* sp., dichos resultados pueden deberse a diferencias de cantidad o tipo de metabolitos presentes entre la especie de *Q. Edwardii* que fue evaluado contra *C. lindemuthiarum* y *R. solani* e identificada en este trabajo, o a la sensibilidad de los hongos evaluados a *Q. Grisea* que fue más significativo el efecto fungicida.

Zilch y Montes (1989) evaluaron extractos acuosos de diferentes plantas en la germinación de esporangios de *Phytophthora* sp. aislado de calabacita en Oaxaca. Los extractos de plantas que ejercieron buen efecto inhibitorio fueron los obtenidos de

Baccharis salicifolia, *Sarvitalia procuabens*, *Mentha piperita*, *Crotalaria spectabilis*, *Pithecallobius dulce*, *Allium sativum*, *Portulaca oleracea* y *Eucalyptus globulus*.

Extractos de epazote (*Chenopodium ambrosioides*) y cempoalxóchitl (*Tagetes erecta*) fueron estudiados por Frayre *et al.* (1996) para el control de la mancha negra del pepino causada por *Phytophthora* sp. Sus resultados muestran que ambos extractos fueron superiores al testigo representado por el fungicida benomilo. Así mismo, evaluaron dichos extractos con buenos resultados sobre *Pseudoperenospora cubensis* en pepino.

En estudios sobre crecimiento micelial, cabe resaltar los trabajos desarrollados por Sandoval *et al.* (1995) quienes probaron el extracto de semillas de toronja como producto comercial sobre patógenos, determinando que *Geotrichum candidum* bajo condiciones *in vitro* fue inhibido de un 94-100 por ciento a concentraciones de 2000-3000 ppm de ingrediente activo; *Alternaria alternata*, entre 40 y 100 por ciento a concentraciones de 1000 y 2000 ppm, mientras que para *Rhizopus stolonifer* fue inhibido un 87 por ciento a 5000 ppm. Dichos autores recomiendan reducir dosis del producto al usarse en empacadoras del norte de Sinaloa. Otros trabajos desarrollados por los mismos autores muestran que el crecimiento micelial de *R. solani* fue inhibido en 100 por ciento en medio PDA a concentraciones de 600 a 4800 ppm de ingrediente activo. El efecto bactericida de este extracto sobre *Erwinia carotovora* fue identificado *in vitro* a concentraciones de 30 a 240 ppm, al ser inhibido satisfactoriamente el desarrollo de las colonias bacterianas.

Extractos etanólicos de tubérculos, tallo y tejido de hojas de *Solanum phureja* y *S. tuberosum* inhibieron el crecimiento de la bacteria *Pseudomonas solanacearum*

aunque no mostraron efecto alguno sobre *Erwinia atroseptica* y *E. carotovora*, (Zalewsky y Sequeira, 1973).

Al aceite volátil de *Origanum majorana* fue estudiado por Deans y Svoboda (1990) por su actividad anti-bacterial y anti-fúngica. De un rango de 25 bacterias contaminantes de alimentos y cinco hongos patógenos de plantas y micotoxigénicos de animales y humanos, los resultados muestran un buen efecto antibacterial, con mejor efecto sobre *Staphylococcus aureus*. Otros organismos susceptibles fueron *Beneckea natriegens*, *E. carotovora* y *Moraxella* sp. De los hongos evaluados, *Aspergillus niger* mostró ser el más susceptible al aceite de mejorana.

Marcos (1996) menciona la buena actividad nematocida de la resina de gobernadora (*L. tridentata*); la prueba de campo señala que la concentración de resina que mostró mayor actividad sobre los géneros *Tylenchus*, *Ditylenchus* y *Rabditis*, fue de 100 ppm.

Trabajando con extracto de *L. tridentata*, González y Guevara (1990) determinaron que éste presentó buen efecto sobre *P. solanacearum* aunque pierde su efecto bactericida después de 60 días de la extracción inicial; también señalaron que el extracto presentó propiedades sistémicas en plantas de papa al controlar la bacteria en 3 de las 6 plantas inoculadas, siendo este resultado similar al obtenido con el antibiótico estreptomycin más oxitetraciclina.

La incorporación de residuos de gobernadora y epazote sobre suelos infestados con *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani* en frijol bajo condiciones de invernadero, muestra una disminución en la muerte de plantas comparadas al testigo

sin residuos de *L. tridentata* y *Ch. ambrosioides*; además, el peso fresco de la planta fue mayor, (Zavaleta, 1990).

Montes y Martínez (1989) controlaron el daño que causa *P. cubensis* en calabacita con extractos de *Chenopodium album* y *E. globulus*, aunque el testigo metalaxil+clorotalonil fue mejor; también reportaron que la cenicilla polvorienta en calabacita (*Erysiphe cichoracearum*) fue controlada con extractos de *Hibiscus rosa-quinensis* y *Euphorbia* sp. que lograron superar el efecto de control de metalaxil+clorotalonil.

De acuerdo a García y Montes (1992) los extractos de ajo, eucalipto y chicalote inhibieron significativamente el desarrollo *in vitro* del micelio de *Alternaria solani* aislado de jitomate (*Lycopersicon esculentum*); los extractos más sobresalientes en la protección contra el tizón temprano en la planta fueron el ajo, el epazote, cempoalxóchitl y la hierbabuena; también se estimuló el desarrollo de la enfermedad con los extractos de granada y limón.

Montes y Martínez (1989), reportan que los extractos de limón (*Citrus lemon*), tulipán de la India (*Spathodea campanulata*), cola de caballo (*Equisetum* sp.), Bugambilia, abrojo (*Tribulus cistoides*), cempoalxóchitl y ajo previenen significativamente al cultivo del frijol del daño causado por la roya (*Uromyces phaseoli*), la antracnosis (*C. lindemuthianum*) y la cenicilla (*Erysiphe polygoni*) bajo condiciones de invernadero. También mencionan otras especies como el epazote (*Chenopodium* sp.), el mulito (*Bidens pilosa*), el pirul (*Schinus molle*), la cebolla (*Allium cepa*) y el perejil que han sido utilizadas experimentalmente en el control de fitopatógenos con diferentes efectos.

Marcos (1996) indica que los estudios de la resina *L. tridentata* se iniciaron en 1975 con la identificación de propiedades fungicidas; también reporta que el extracto etanólico de este arbusto sobre la viruela del algodónero (*Puccinia cacabata*) expresó bajo poder curativo y el autor concluyó que a concentraciones altas presenta actividad fungicida y que la actividad fungistática se presenta con bajas concentraciones; observó también que la naturaleza de extracción de la resina influyó en la selectividad de acción sobre los organismos probados.

Velásquez (1983) cita que la resina de gobernadora en su fracción etanólica manifestó una acción selectiva sobre bacterias bajo condiciones *in vitro*; en especies de *Erwinia* no presentó efecto alguno, en cambio contra *P. solanacearum* presentó excelente efecto inhibitorio aún a 250 ppm, resultado similar al obtenido con el testigo químico convencional (oxytetraciclina+estreptomomicina).

Velásquez (1981) encontró que la resina de gobernadora en su fracción etanólica a 2000 ppm fue el tratamiento que mejor inhibió el desarrollo micelial de *Cytospora* sp.; la fracción clorofórmica ofreció menos efectividad y sin diferencia significativa entre las dosis de 500 y 2000 ppm sobre el mismo hongo. También reportó que la germinación de ascosporas de *Eutypa armeniacae* se logró inhibir a 2000 ppm con ambas fracciones de resina de gobernadora.

Gamboa (1997) evaluó extractos acuosos para prevenir el daño radicular del tomate causado por *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* bajo condiciones de invernadero. Reportó una disminución del índice de daño de la pudrición de raíz y corona del tomate con el extracto acuoso de *L. tridentata*, *Ch. ambrosioides* y bulbo de

lechuguilla (*Agave lechuguilla*) a las concentraciones del 6 y 9 por ciento. También señaló que los extractos de *A. sativum* y flor de clavo deshidratado (*Eugenia aromatica: Caryophyllus aromaticus*) a las dosis usadas fueron fitotóxicos; en cambio el extracto de gigante (*Nicotiana glauca*) indujo la producción de frutos de mayor tamaño, mientras que los extractos de lechuguilla y epazote estimularon la acumulación de peso seco y la altura de las plantas de tomate.

La mejorana (*Origanum majorana*) está ampliamente reportada como condimento, aromatizante, saborizante, así como también con antecedentes de poseer sustancias tóxicas al organismo (De Vincenzi y Manzini, 1997) .

Konstantopoulou *et al.* (1992) evaluaron aceites esenciales de 11 plantas aromáticas de la familia Lamiaceae comunes en la flora griega, incluyendo a *Origanum vulgare* y *O. majorana* sobre tres diferentes estados de desarrollo de *Drosophila auraria*. Todos los aceites esenciales examinados presentaron efectos insecticidas caracterizados en las muestras por la incubación anormal de los huevecillos, causa de muerte en larvas y adultos, malformación y/o inhibición del desarrollo de pupa.

Tobey *et al.* (1978) reportaron que la bouvardina (NSC 259968), un hexapéptido cíclico proveniente de *Bouvardia tenifolia* tiene la capacidad de aumentar el progreso o aceleración de cultivo de células de hamster chino. Estos estudios lo sustentan en base a los antecedentes mutagénicos que posee la planta.

Por otra parte, se ha demostrado que la resina de gobernadora es un excelente preservador de alimentos debido a que contiene el poderoso antioxidante NDGA, los

lignanós, flavonoides y demás compuestos que se han encontrado en la resina contenida en las hojas (Campos *et al.*, 1979).

Descripción de las Plantas Bajo Estudio

Las descripciones comprendidas en éste apartado son meramente botánicas y de acuerdo a lo señalado por Martínez (1994) y/o Villarreal (1983). Así mismo, se mencionan usos comunes de algunas de las plantas:

Hojasén (*Flourensia cernua* DC) ASTERACEAE

Es un arbusto de 1-2 m de alto, de hojas ovadas u ovals de 6-11.5 cm; con flores en cabezuelas axilares. Las hojas tienen sabor amargo. Es una planta presente desde Sonora a Nuevo León, Zacatecas y San Luis Potosí. Se le atribuyen propiedades antihistamínicas.

Mejorana (*Origanum majorana* L.) LABIACEAE

Es una planta herbácea, de 30-60 cm de alta. Es de longevidad perenne, posee hojas oblongas-ovadas, algo sésiles, tormentosas; las flores son moradas o blanquecinas, en espigas. Las hojas son olorosas y se usan como condimento. Es una planta introducida, originaria de Europa, donde se cultiva con fines de ornato, como especia y otros usos.

Trompetilla [*Bouvardia ternifolia* (Cav.) Schl.] RUBIACEAE

Se caracteriza por ser un arbusto de 1 m de alto, con hojas ternadas, largamente ovado-acuminadas, de flores rojas, tubulosas con el limbo corto de 4 divisiones; posee 4 estambres y estilo bifido; posee un fruto en forma de una cápsula globosa. Se le conoce como trompetilla en Coahuila y Durango. Se encuentra ampliamente distribuida de Sonora a Coahuila, El estado de México, Puebla, Veracruz, Oaxaca, etc.

Gobernadora, *Larrea tridentata* (Seese& Moc. Ex DC); Zigophillaceae

Es una planta con hojas trifoliadas, flores de color amarillo y frutos globosos cubiertos por una pubescencia. Las hojas de esta planta presenta una resina que desprende un olor penetrante. Se multiplica por semilla, aunque tiene la facultad de hacerlo también por tallos subterráneos, pudiendo originarse un manchón del mismo genotipo a partir de un arbusto. Es un arbusto perenne que se desarrolla en los desiertos del sur de EUA y norte de México. Normalmente se le encuentra muy asociada con *Flourensia cernua*. Es común que se confunda con *L. divaricata*, especie que se maneja como una variante que se distribuye en Sudamérica (Martínez, 1994).

La gobernadora presenta variación cromosómica entre regiones donde se encuentra, la localizada en el Desierto Chihuahuense es diploide con 23 pares de cromosomas, la localizada en el Desierto Sonorense es tetraploide con 46 pares de cromosomas y la común en el Desierto de Mojave es tetraploide con 72 pares de cromosomas, (Campos *et al.*, 1979).

Las hojas y los tallos verdes de gobernadora contienen aproximadamente 12 por ciento de resina, siendo un constituyente de ella un compuesto fenólico tóxico, llamado ácido nordihidroguayarético (NDGA) que tiene un punto de ebullición de 184° C (García, 1993).

Running title: Antifungal effect of *L. tridentata* on *R. solani* and *P. infestans*.

Antifungal effect of *Larrea tridentata* extracts on *Rhizoctonia solani* Kühn and *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary.

R Gamboa-Alvarado¹, FD Hernández¹, E Guerrero¹, A Sánchez¹, LA Villarreal², RG López², F Jiménez³, RH Lira-Saldivar².

¹ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila. C.P. 25315, Mexico.

² Centro de Investigación en Química Aplicada. Blvd. Enrique Reyna N° 140, Saltillo, Coahuila, México. 25100.

³ INIFAP-Campo Experimental La Laguna, Matamoros, Coahuila. México. CP 25630.

This material is based on a project funded by a subvention from the Institute Mexico-United States from the University of California. UC-MEXUS and CONACYT. Correspondence to: rhira@polimex.cjqa.mx, gamboaar@yahoo.com.

Abstract. Mycelial growth of *R. solani* and *P. infestans* was totally inhibited *in vitro* conditions with hydrosoluble methanolic extracts from *L. tridentata* leaves collected from the Sonoran and Chihuahuan deserts of Northern Mexico. An observed antifungal effect in the bioassay was very clear even at a low dose of 500 ppm evaluated against *P. infestans* and 2,000 ppm on *R. solani*; the growth of both fungus was inhibited in the medium. Significant differences among the extracts from both deserts were found on the inhibition of the pathogens, being the extracts from the Sonoran Desert the most effective. A latitudinal effect on the mycelial growth was observed because the extracts collected at south latitudes from the Chihuahuan Desert were more effective against both pathogens than the extracts from north latitudes. An inverse effect was observed with the extracts from the Sonoran Desert, because those from north latitudes had a greater fungicidal effect against growth of both pathogens than those from south latitudes. Practically, extracts from the eight sampling sites of both deserts at 4,000 ppm did not permitted mycelial growth of the pathogens.

Key words: *Larrea tridentata*, hydrosoluble extracts, antifungal activity, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora infestans*.

With the advances in fungicide chemistry and the improvements in availability of effective fungicides, developments of new fungicides from natural bioactive compounds for the efficient control of plant diseases are urgently required to minimize adverse effects of synthetic fungicides on agro-ecosystems and emergence of plant pathogens resistant to the currently used fungicides (22, 19). Therefore, many efforts are focused on plant-derived materials for potentially products as commercial pest-control agents or compounds (12).

Creosote bush, gobernadora or hediondilla *Larrea tridentata* (Seese & Moc. Ex DC) Coville, is a perennial bush that grows in the semiarid regions of south USA and northern Mexico, prevailing in many desert ecosystems being generally the dominant plant (3). The range of distribution in Mexico extends from the Sonoran Desert (SD) in the states of Baja California Sur, Baja California Norte y Sonora; and in the Chihuahuan Desert (ChD) in the states of Chihuahua, Coahuila, San Luis Potosi, Zacatecas and a small portion of Durango and Nuevo Leon (26, 23). According to Brinker (1), one reason for the numerous names is the geographic range of the plant, which reaches beyond ethnic language boundaries. *L. tridentata* dominates 35 million acres (4), 20 million from western Texas to California in the USA (5). Its different ploidy races are prominent in the Chihuahuan (diploid), Sonoran (tetraploid), and Mohave (hexaploid) deserts (27, 1). Its range in elevation is from below sea level in Death Valley to 2,625 meters in the mountains of central Mexico. It grows well on dry plains and mesas, rolling hills and slopes, and in various kinds of soil except dense, saline, or granitic types (13, 14, 21).

The leaves of this highly xerophytic shrub are covered with a resinous coating which is believed to function as a barrier to prevent water loss from leaf surfaces, a solar-UV filter which protects foliage from harmful wavelengths of light and an insect feeding deterrent (18). The resin contains a complex mixture of phenolics, saponins, terpenoids and wax esters that account for 10-20% of the leaf dry weight (14,18). Approximately 80% of leaf resin is composed of phenolic compounds of which nordihydroguaiaretic acid (NDGA) is with the major concentration. Creosote bush leaf resin has been shown to have diverse toxic effects on various microorganisms including

some bacteria as *E. floccosum* and *S. schenckii* (24). On the other hand, diverse effect of *L. tridentata* extracts has been demonstrated for several authors such as fungicide (6, 8); insecticide (2) and antiviral (10). The objective of this work was analyze and compare the *in vitro* effect of hydrosoluble methanolic extracts of *L. tridentata* obtained from the Sonoran and Chihuahuan deserts, on mycelial growth of *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora infestans* inhibition.

MATERIALS & METHODS

***Larrea tridentata* methanolic extracts.** The resin extracts were obtained from leaves of native plants of creosote bush populations collected during November and December of 2000 through a latitudinal gradient (24°, 25°, 26° and 27° N latitude) and a altitudinal gradient (2,020, 1,850, 1,160 and 530 masl respectively), from a portion of ChD in the states of Zacatecas and Coahuila. A collection of samples also were obtained at the same latitudes in Baja California Sur, in a portion of SD; in this zone the altitude of the four sampling sites always was under 100 masl.

Resin for the bioassays was obtained by submerging *L. tridentata* dry leaves in 20 L containers of aqueous methanol solution (99.9%) during 24 h at room temperature, the product obtained was filtered and the solvent evaporated. After this process, the resin was treated with a 3% alkaline solution based on sodium hydroxide, and dried in a forced air stove during 5 to 7 days at 65°C in order to obtain a solid methanolic extract that later was grinded in a mortar to obtain a powder whose characteristic was to be hydrosoluble (25).

Isolation of inoculum. *R. solani* was isolated from infected potato tubers collected in a commercial potato field according to the methodology proposed by Papavizas and Lewis (17). On the other hand, *P. infestans* was obtained from the fungus collection from the American Type Culture Collection (ATCC) with reference number 62804 phatotype A. This pathogen was isolated in Toluca, Mexico, starting from the cultivation of potato according to the description provided by the ATCC.

Antifungal activity detection. The bioassays were carried out into 9 cm petri dishes in which the resins of *L. tridentata* was incorporated to the PDA (potato-dextrose-agar; Bioxon-Mex) growth medium; after thorough mixing the molten medium was dispensed into the petri dishes (approximately 20 ml/plate); at the center of each plate the mycelial plugs (5 mm diameter) of *R. solani* and *P. infestans* were placed. The incubation period inside the growth chamber was 168 h at 25°C; at the end of this period the radial mycelial growth of both fungus was measured with a vernier. The experimental factorial arrangement was a completely randomized design 2x4x4 and four replications. The A factor was the Sonoran and Chihuahuan deserts; B the four latitudinal sites from both deserts (24°, 25°, 26° and 27°) and C, the four dosages studied (500, 1,000, 2,000 and 4,000 ppm).

RESULTS & DISCUSSION

Sonoran and Chihuahuan extracts fungitoxic effect. The antifungal activity of *L. tridentata* methanolic extracts on *R. solani* and *P. infestans* is presented in Table 1.

By comparing the *in vitro* inhibitory effect, data shows significant differences at 500 and 1,000 ppm among the extracts of both deserts. At 500 ppm the extracts from the SD affected the mycelial growth of *R. solani* on 53.86%, meanwhile, extracts from the ChD reduced growth of this fungus by 35.52%. With 1,000 ppm the SD extracts inhibited *R. solani* by 75.73%, however, ChD extracts affected growth by only 51.81%. At 2,000 and 4,000 ppm the extracts from both deserts reduced almost completely mycelial radial growth of the fungi (Table 1A). On the other hand, the effect of creosote bush on *P. infestans* at 500 ppm showed an inhibition of 99.18% with SD extracts and 94.44% with ChD extracts; this data did not show statistical differences. At the dose of 1,000 ppm and above the efficacy of methanolic extracts from SD was very clear, because mycelial growth of *P. infestans* was totally inhibited. A similar pattern was presented by ChD extracts, even though, only the 4,000 ppm dose reduced practically 100% the radial growth of *P. infestans*. (Table 1B).

From this outcome we can say that *P. infestans* was more sensitive to *L. tridentata* extracts compared to *R. solani*. These results could be attributed to differences in physiological characteristics of the phytophagogens and perhaps more important, due to the amount of resin concentration from both deserts; the resin mean value from the SD was 25.49%, while the samples from the ChD reported 22.60% (data not shown). Considering that approximately 80% of the leaf resin contains terpenoids, flavonoids and phenolic compounds of which NDGA is a potent antioxidant (15), the greater fungicidal effect of SD extracts could be attributed to the higher resin and NDGA concentration in the leaves from the samples collected in this area (18).

Antifungal latitudinal effect. The inhibitory effect of *Larrea* extracts on mycelial growth of the pathogens from sampling sites of both deserts is presented in Table 2. We found a significant difference in the extracts antifungal activity on *R. solani* and *P. infestans* depending on the collection sites. The ChD extracts efficacy on *R. solani* at 500 ppm consistently decreased in relation to a latitudinal gradient, because those from south parallels (24 and 25° N), were more efficient inhibiting mycelial growth compared to extracts from north parallels (26 and 27°); on the contrary, at the same dose extracts from north latitudes (26 and 27°) from SD showed greater antifungal effect on *R. solani* (Table 2A). This tendency was also observed with 1,000 ppm, but at the doses of 2,000 and 4,000 ppm this effect was not detected. In regards with *P. infestans* the *in vitro* inhibition at 500 ppm due to latitudinal gradient was also evident, because the ChD extracts from 24 and 25°N had a greater effect than those from 26 and 27°N. This trend was also observed with extracts of ChD at 1,000 ppm; however, this effect disappeared with extracts from the SD at all doses evaluated.

The tendency of our data could be attributed to difference in resin concentration and to *L. tridentata* phytochemical activity components from the several sampling sites, as it was suggested by the data of NDGA concentration from Downum *et al* (3). These authors found a significant correlation of NDGA concentration with latitude of the sampling site in the Sonoran Desert. Our results reported here could indicate that the difference in resin concentration and the antifungal activity against *R. solani* and *P. infestans* among the methanolic extracts from the SD and ChD, maybe depend on age differences of the plant tissue or possibly the quantitative phytochemical differences

between the diploid populations characteristics of the ChD plants and the tetraploid populations of the SD (27, 11).

Effect of dose extracts on antifungal activity. The fungicidal effect of *L. tridentata* hydrosoluble methanolic extracts from both deserts was clearly evident even at the lower dose of 500 ppm on *R. solani* and *P. infestans* (Table 3A and B). Practically, the extracts from the eight sampling sites of both deserts at 4,000 ppm did not allowed mycelial growth of the fungus. These results clearly evidence the fungicidal effect of the evaluated extracts. Similar effect on these pathogens has been reported by some authors (9, 8,). Other plant extracts from *Quercus* sp and grapefruit seeds also had been reported as inhibitors of *R. solani* (20,10). Several plant aqueous extracts as well were reported like germination inhibitors of *Phytophthora* sp. sporangia (28,7). The fact that the hydrosoluble methanolic extracts from *L. tridentata* showed their effectiveness against *R. solani* and *P. infestans* even at low doses indicates the potential of organic natural extracts as antifungal compounds with a low impact on humans and on environmental toxicity. Thus, the fungicidal effect found on this study is obviously important for commercial considerations, which could influence decisions concerning the use of creosote bush extracts for fungicidal purposes. We consider that the hydrosoluble methanolic extracts should be evaluated in the future under greenhouse and field conditions in order to corroborate our *in vitro* results.

LITERATURE CITED

1. Brinker F, *Larrea tridentata* (D.C.) Coville (Chaparral or creosote bush). *British Journal of Phytotherapy* 3, 1 (1993/94) 10
2. Cortés LE, O Sánchez, MR García, SG Villescusa, MM Cinco, Plant powders as stored grain protectants against *Zabrotes subfasciantus* (Boheman). *Southwestern Entomology*. Scientific note 18 (1993) 1
3. Downum KR, J Dole, E Rodríguez, Nordihydroguaiaretic acid: Inter-and intrapopulational variation in the Sonoran Desert creosote bush (*Larrea tridentata*, Zygophyllaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* 16 (1988) 551
4. Duisberg P.C, Development of a feed from creosote bush and the determination of its nutritive value. *J. Animal Science.* 11 (1952) 174
5. Duisberg P.C, Desert Plant Utilization, *Tex. J. Science.* 3 (1952) 268
6. Fernández TS, LM Hurtado, BF Hernández, Fungitoxic compounds of creosote bush resin. In Campos LE, TJ Mabry, T S Fernández *LARREA Serie El Desierto*. CIQA México 2 (1979) 327
7. Frayre SL, Evaluación de extractos vegetales para el control de la mancha negra *Phytophthora* sp., en el cultivo del pepino. *Memorias de la IX Reunión Científica-tecnológica Forestal y Agropecuaria*; Villahermosa, Tabasco. Publicación especial 9 (1996) 61
8. García ER, PM Cordobilla, SM Vega, BB Tlalpal, Alelopatía y control de enfermedades de la raíz en jitomate con la adición al suelo de gobernadora (*Larrea tridentata*). *Avances en la Investigación. Colegio de Postgraduados.* (1997) 72

9. Garza LJG; GC López RV González, Evaluación *in vitro* de la resina de Gobernadora (*Larrea tridentata*) contra *Rhizoctonia solani*, patógeno de la papa. *Informe de Investigación del Campo Experimental Saltillo*. INIFAP-SAGAR. (1997)
10. Gnabre JN, JL Brady, DJ Clanton, Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 transcription and replication by DNA sequence-selective plant lignan. *Proc of the Natural Academy of Science of the USA*. (1995) 11239
11. Hunziker JH, RA Palacios, AG de Vales, L Poggio, *Annual Missouri Bot. Gard*. 59 (1972) 224
12. Isman, MB, Leads and prospects for the development of new botanical insecticides. *Rev. Pestic. Toxicol*, 3 (1995) 1
13. Kearney TH, Peebles, RH, *Arizona Flora*. 2nd. ed. University of California Press, Berkeley, Calif., (1951)
14. Mabry TJ, DR DiFeo Jr, DR Saskakibara, CF Bohnstedt, D Siegler, Creosote bush-biology and chemistry of *Larrea*. In Mabry TJ, JH Hunziker, DR DiFeo Jr, eds *New World Deserts* Dowden, Hutchinson, Ross. Strousdberg, Pennsylvania (1977) 115
15. Oliveto P. Nordihydroguaiaretic Acid-A Naturally Occurring Antioxidant. *Chem. Ind.* 32 (1972) 677
16. Padilla MA, MS Vázquez MR Rodríguez. Actividad biológica del extracto hexánico de *Quercus grisea* sobre hongos patógenos de la raíz. *Memorias del XXII Congreso Nacional de Fitopatología*. Sociedad Mexicana de Fitopatología (1995) 86

17. Papavizas GC, JA Lewis, Isolation, identifying, and producing inoculum of *Rhizoctonia solani*. In Hickey, DK eds: *Methods for Evaluating Pesticides for Control of Plant Pathogens*. American Phytopathology Society (1997) 50
18. Rhoades DF. Integrated antiherbivore, antidesiccant and ultraviolet screening properties of creosote bush resin. *Biochemistry Syst. Ecol.*, 5 (1977) 281.
19. Russell PE, RJ Milling, K Wright. Control of fungi pathogenic to plants. In *Fifty years of antimicrobials: past perspectives and future trends*; Hunter PA, GK Darby, NJ Russell, eds, Society For General Microbiology Symposium, 53 (1995) 85
20. Sandoval V, SA, MA Apodaca, JA Quintero. Efecto del extracto de semilla de toronja contra *Rhizoctonia solani* y *Erwinia carotovora* *in vitro*. *Memorias de XXII Congreso Nacional de Fitopatología*. Sociedad Mexicana de Fitopatología; (1995) 84
21. Shreve F, IL Wiggings, *Vegetation and Flora of the Sonoran Desert*. Vol. II. Stanford University Press, Stanford, California. (1964)
22. Tanaka YT, S Omura. Agroactive compounds of microbial origin. *Annu. Rev. Microbiol.* 47 (1993) 57
23. Van Devender TR, Late quaternary vegetation and climate of the Chihuahuan Desert, United States and México. In Betancourt JL, TR Van Devender, PS Martin eds, *Packrat Middens*. The last 40,000 years of Biotic Change. The University of Arizona Press. Tucson, (1990) 104
24. Verástegui MA, CA Sánchez, NL Heredia, AJS García. Antimicrobial activity of extracts of three major plants from the Chihuahuan desert. *Journal of Ethnopharmacology*. 52 (1996) 175

25. Villarreal CLA, RG López, MJR Infante, FA Cisneros, CJC Ramírez. *Proceso para la producción de resina de gobernadora (Larrea) soluble o dispersable en agua*. Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA). Patente en trámite IMPI No. 9810828 (1998)
26. Wells PV, JH Hunziker. Origin of the creosote bush (*Larrea*) deserts of southwestern North America. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 63 (1976) 843.
27. Yang TW, Major chromosome races of *Larrea tridentata* in North America. *J. Ariz. Acad. Sci.* 6 (1970) 41
28. Zilch DS, BR Montes. Efecto de extractos vegetales acuosos en la germinación de esporangios y en la infección de *Phytophthora* sp. en calabacita en Oaxaca. Sociedad Mexicana de Fitopatología; Memorias del XVI Congreso de Fitopatología (1989) 120

Table 1. Comparative effect on the *in vitro* inhibition growth of *Rhizoctonia solani* (A) and *Phytophthora infestans* (B) with doses of hydrosoluble methanolic extracts from *Larrea tridentata* collected from the Chihuahuan and Sonoran deserts.

Desert	Inhibition growth (%)			
	Dose (ppm)			
	500	1000	2000	4000
Sonoran	53.86 a	75.73 a	99.30 a	98.95 a
Chihuahuan	35.52 b	51.81 b	86.26 a	99.57 a

MSD_{0.01} = 17.6139

Desert	Inhibition growth (%)			
	Dose (ppm)			
	500	1000	2000	4000
Sonoran	99.18 a	100 a	100 a	100 a
Chihuahuan	94.44 a	92.97 b	97.53 a	100 a

MSD_{0.01} = 6.4153

Table 2. Mean inhibitory effect of the *in vitro* growth of *Rhizoctonia solani* (A) and *Phytophthora infestans* (B) with *Larrea tridentata* methanolic extracts from four sampling sites of two desertic areas from Northern Mexico.

Desert	N Latitude	Inhibition growth (%)			
		Dose (ppm)			
		500	1000	2000	4000
Chihuahuan	24°	52.87 a	59.13 a	97.31 a	100.00 a
	25°	45.59 a	65.55 a	99.05 a	100.00 a
	26°	19.69 b	22.81 b	48.68 b	98.26 a
	27°	23.91 b	59.73 a	100.00 a	100.00 a
Sonoran	24°	41.75 b	59.11 c	97.19 a	100.00 a
	25°	37.35 b	66.95 bc	100.00 a	100.00 a
	26°	43.77 b	84.94 ab	100.00 a	95.78 a
	27°	92.54 a	91.91 a	100.00 a	100.00 a

MSD_{0.01} = 17.6139

Desert	N Latitude	Inhibition growth (%)			
		Dose (ppm)			
		500	1000	2000	4000
Chihuahuan	24°	100 a	100 a	100 a	100 a
	25°	100 a	100 a	100 a	100 a
	26°	91.61 b	87.17 b	94.05 a	100 a
	27°	86.19 b	84.71 b	96.07 a	100 a
Sonoran	24°	96.73 a	100 a	100 a	100 a
	25°	100 a	100 a	100 a	100 a
	26°	100 a	100 a	100 a	100 a
	27°	100 a	100 a	100 a	100 a

MSD_{0.01} = 6.4153

Table 3. Mean comparative inhibitory effect of methanolic extracts doses of *Larrea tridentata* from four latitudes of two Northern Mexico deserts on mycelial growth of *Rhizoctonia solani* (A) and *Phytophthora infestans* (B).

Dose (ppm)	ChD Extracts				SD Extracts			
	Inhibition growth (%)				Inhibition growth (%)			
	24°	25°	26°	27°	24°	25°	26°	27°
4000	100 a	100 a	98.26 a	100 a	100 a	100 a	95.79 a	100 a
2000	97.31 a	99.05 a	48.68 b	100 a	97.19 a	100 a	100 a	100 a
1000	59.13 b	65.55 b	22.81 c	59.73 b	59.11 b	66.95 b	84.94 a	91.91 a
500	52.87 b	45.59 b	19.69 c	23.92 c	41.75 c	37.35 c	43.78 b	92.55 a

MSD_{0.01} = 17.6139

Dose (ppm)	ChD Extracts				SD Extracts			
	Inhibition growth (%)				Inhibition growth (%)			
	24°	25°	26°	27°	24°	25°	26°	27°
4000	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
2000	100 a	100 a	94.05 a	96.07 a	100 a	100 a	100 a	100 a
1000	100 a	100 a	87.17 c	84.71 b	100 a	100 a	100 a	100 a
500	100 a	100 a	91.60 bc	86.19 b	96.73 a	100 a	100 a	100 a

MSD_{0.01} = 6.4153

Inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary con extractos vegetales metanólicos de hojásén (*Flourensia cernua* DC), mejorana (*Origanum majorana* L.) y trompetilla [*Bouvardia ternifolia* (Ca.) Schlecht]

Por:

Roberto Gamboa-Alvarado, Francisco Daniel Hernández-Castillo, Eugenio Guerrero-Rodríguez, Abiel Sánchez-Arizpe, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Dpto. de Parasitología Agrícola. Buenavista, Saltillo, Coahuila. C.P. 25315, México. gamboaar@yahoo.com, gerencia@mcsa.net.mx; y Ricardo Hugo Lira-Saldivar, Centro de Investigación en Química Aplicada. Gerencia de Agroplásticos e Ingeniería de Reacciones de Polimerización, Blvd. Enrique Reyna N° 14, Saltillo, Coahuila, México. 25100. rhkira@polimex.ciqa.mx.

Resumen. Se extrajo la resina de las plantas de *Flourensia cernua*, *Origanum majorana* y *Bouvardia ternifolia* con metanol mediante el método de Sóxhlet. Se separó el solvente del extracto usando un rotavapor y se secó la resina a temperatura ambiente. Se disolvieron las resinas de cada extracto en medio de cultivo PDA y se prepararon cinco dosis; posteriormente cada dilución fue vaciada en cajas petri. Para cada patógeno, se incluyeron en los bioensayos el respectivo testigo químico en su dosis recomendada (tolclofos-metil y metalaxil). Después de depositar los inóculos a manera de explantes, se incubaron las cajas petri de cada tratamiento por 96 h a 25°C en ausencia de luz; se realizaron lecturas a 48 y 96 h usando un vernier. El efecto inhibitorio se determinó sobre el desarrollo micelial de *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans*. Los resultados expresados en porcentaje de inhibición fueron significativamente aceptables con los tres extractos contra *R. solani* que se comportaron con acción fungistática hasta dosis de 20,000 ppm; contra *P. infestans* se obtuvieron valores altamente significativos al identificarse que el extracto de *O. majorana* desde la dosis de 8,000 ppm se presentó un efecto fungicida; a 4,000 ppm se observó una acción fungistática, mientras que los extractos *F. cernua* y *B. ternifolia* mostraron un ligero efecto fungistático a dosis altas.

Abstract: To plants of *Flourensia cernua*, *Origanum majorana* and *Bouvardia ternifolia* were extract their resin with methanol by Soxhlet method. The evaluations were carried out through the poisoned medium method and each extract, five dose was evaluated. The inhibitory effect was determinate on the development micelial of *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora infestans*. To bioassays were include for each pathogen with their respective chemical witness in their recommended dose (tolclofos-metil and metalaxil). After to put the inoculum for each phytopathogen, the petri dishes of each treatment were incubated by 96 hours to 25° C in absence of light; the readings was carry at 48 and 96 hours using a vernier. The results expressed in inhibition percentage were significantly acceptable with three extracts against *R. solani* that behaved with fungistatic action until dose of 20,000 ppm; against *P. infestans* highly significant values were obtained when being identified that the extract of *O. majorana* from dose 8,000 ppm a fungicidal effect was presented; at 4,000 ppm a fungistatic action was observed, while the *F. cernua* and *B. ternifolia* extracts showed a slight fungistatic effect to high dose.

Palabras claves: Tizón tardío, costra negra, *Flourensia cernua*, *Origanum majorana*, *Bouvardia ternifolia*.

INTRODUCCIÓN

El uso indiscriminado de sustancias desarrolladas sintéticamente a partir de 1944 para el control de plagas en los cultivos, ha ocasionado la inducción de resistencia de algunos microorganismos, causando estragos catastróficos en muchos cultivos; además, prevalece el problema toxicológico

que por contaminación se presentan sobre los humanos, mamíferos y organismos de los diversos ecosistemas. Por otro lado, el alto costo los plaguicidas y el desarrollo de resistencia han obligado a los investigadores a centrarse en la búsqueda de nuevos ingredientes activos biodegradables, como herramienta para la implementación de medidas de manejo con menor impacto ambiental y disminución del costo pero con igual o mejor efecto de control de plagas. El uso de extractos vegetales en el control de patógenos de plantas, es un hecho demostrado en la literatura científica en condiciones de laboratorio (Rodríguez *et al.*, 1999; Bautista *et al.*, 1998; Mercado, 1986; López y Sánchez, 1988; Deans y Svoboda, 1990; Qasem, 1996); para control de enfermedades en condiciones de invernadero (González y Guevara, 1990; Bergeron, 1995; Lomelí, *et al.*, 1999) y en campo (Frayre, 1996; Salazar *et al.*, 1990; Montes *et al.*, 1990; Insunza y Valenzuela, 1995; De Candolle *et al.*, 1997; Cruz *et al.*, 1999). Considerando las necesidades que demanda la agricultura moderna para el control de patógenos y en base a los antecedentes bibliográficos, se plantearon los objetivos de evaluar extractos metanólicos de *Origanum majorana*, *Bouvardia ternifolia* y *Flourensia cernua* sobre el efecto inhibitorio micelial *in vitro* de *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora Infestans* y de su residualidad.

METODOLOGÍA

Selección de plantas. Las plantas de hojaseén (*F. cernua*), mejorana (*O. majorana*) y trompetilla (*B. ternifolia*) fueron seleccionadas para este ensayo por el efecto de sus resinas o extractos acuosos sobre diversos microorganismos y otros criterios como distribución, longevidad, persistencia, potencial de explotación o domesticación bajo cultivo en el área geográfica de trabajo y por sus antecedentes medicinales establecidos por Grainge y Ahmed (1988). Además se verificó que no estuvieran restringidas para su uso en infusiones orales en humanos considerando el acuerdo establecido por la Secretaría de Salud publicada en el Diario Oficial de la Federación el 15 de Diciembre de 1999. Lo anterior con la finalidad de prevenir efectos colaterales de aborto, esterilidad, derrames cerebrales, inducción de cáncer, alteración del sistema nervioso en el hombre entre otras causas por las que se puede restringir el consumo de dichas plantas.

Colecta y extracción de resinas crudas de las plantas. La colecta de las plantas se realizó durante el otoño de 1999 en las regiones aledañas a la región de Saltillo, Coahuila, situada a una latitud de 25°47' y una altitud 1360 msnm. La identificación de las especies muestreadas fue apoyada por el herbario del Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey. Mediante el método de Sóxhlet se procedió a extraer con metanol las resinas del follaje de las

tres plantas en estudio. El proceso duró 90 h en lapsos de 9 h diarias por 10 días cuidando que se tuviera una evaporación lenta del solvente, para ello se mantuvo la temperatura debajo de los 65° C, usando un rotavapor. Con el fin de proteger las resinas del proceso de oxidación que podrían sufrir algunos compuestos, se desplazó el oxígeno inyectándole nitrógeno al espacio interior del los frascos.

Obtención de microorganismos La cepa de *R. solani* proviene de tubérculos de papa cosechada en el Ejido Huachichil, Mpio. de Arteaga, Coahuila, el que se aisló y se purificó por punta de hifa y se identificó de acuerdo a las claves de Sneh, (1991). La cepa de *P. infestans* proviene de la colección de The American Type Culture Collection (ATCC) con número de referencia 62804, esta cepa pertenece al patotipo "A" y fue aislada en Toluca, Edo. de México del cultivo de papa.

Incremento de los microorganismos. Las cepas de *R. solani* y *P. infestans* se incrementaron en cajas petri con medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA). Los microorganismos se colocaron a manera de explantes con medio de cultivo y micelio de 5 mm de diámetro al centro de cada caja petri. Estas se incubaron por cinco días a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ y oscuridad continua.

Evaluación del efecto de los extractos sobre los microorganismos. Se empleó la técnica del medio envenenado. Este método se estableció dado la solubilidad de los extractos metanólicos en agua. El proceso consistió en pesar y agregar las resinas directamente en un matraz Erlenmayer de 250 ml conteniendo 60 ml de PDA estéril a 50-60° C, esta cantidad fue suficiente para preparar 3 cajas de petri por concentración. Las dosis empleadas fueron 20,000, 16,000, 12,000, 8,000 y 4,000 ppm para cada extracto. Se empleó un fungicida testigo (750 ppm de metalaxil para *P. Infestans* y 4560 ppm de tolclofos-metil para *R. solani*) y un testigo absoluto (PDA). Los microorganismos fueron sembrados a manera de explantes de 5 mm de diámetro tomados del margen de un crecimiento vigoroso de una colonia de cinco días de edad, y colocadas al centro de una caja petri. Las cajas fueron selladas e incubadas a $22^\circ \pm 2^\circ\text{C}$; se realizaron lecturas a las 48 y 96 h, midiendo el radio del crecimiento de la colonia con un vernier. Los datos tomados del crecimiento micelial en mm fueron convertidos a porcentaje de crecimiento con respecto a la media en mm de las tres repeticiones del testigo absoluto y se estimó la diferencia para los extractos y respectivo fungicida testigo de cada hongo. El valor máximo de crecimiento que se consideró para la conversión de los datos siempre fue de 42 mm (100 por ciento de crecimiento y/o cero por ciento de inhibición). Este valor promedio proviene del diámetro de lo ancho de la parte inferior de la caja petri restándole 5 mm del área que ocupó el explante depositado durante la siembra y dividido entre dos para determinar el radio. En la primera lectura de los bioensayos cuando el testigo absoluto no cubrió por completo la caja, se

tomó como referencia el tratamiento o repetición del testigo absoluto con mayor crecimiento micelial. El diseño experimental para el análisis de los datos fue bajo un arreglo factorial completamente al azar AXB con tres repeticiones donde: A = 3 extractos metanólicos de *F. cernua*, *O. majorana* y *B. ternifolia*) y B = 5 dosis (20,000, 16,000, 12,000, 8,000 y 4,000 ppm). Algunos valores obtenidos en porcentaje fueron transformados con la fórmula $\sqrt{(x + 0.5)}$ para estabilizar las varianzas. El análisis de varianza se realizó con el paquete computacional de diseños experimentales diseñado por Olivares (1994).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de los extractos sobre *Rhizoctonia solani*. El efecto de los extractos metanólicos de hojaseñ, mejorana y trompetilla sobre *R. solani* fue altamente significativo con los datos originales a las 48 y 96 h. En el cuadro 1 se observa que conforme se aumenta la dosis de los tres extractos, se reduce significativamente el crecimiento micelial de *R. solani*, pero en ninguna dosis presentaron una inhibición estadísticamente igual al fungicida testigo tolclofos-metil. A las 96 h las dosis altas de los tres extractos fueron más efectivas siendo estadísticamente diferentes al resto de las dosis estudiadas y al testigo absoluto. La inhibición máxima del 84.77 por ciento se logró con el extracto de *F. cernua* a 20,000 ppm.

Los tres extractos muestran un efecto inhibitorio del crecimiento micelial de *R. solani*, siendo estadísticamente diferente al testigo absoluto a partir de la mínima dosis que se estudió (Cuadro 2) al expresar una baja inhibición micelial entre un 40 y 53 por ciento. Los resultados obtenidos son interesantes, pues a excepción de los extractos de *O. majorana* no se tiene referencia de la actividad fungicida de *F. cernua* y *B. ternifolia*. El comportamiento fungicida de los aceites esenciales de la *O. majorana* sobre *R. solani* ha sido evidenciado con estudios realizados por Deans y Svoboda (1990); sin embargo, nuestros resultados indican que los extractos de *O. majorana* poseen un efecto fungistático sobre el desarrollo micelial de *R. solani*.

En la figura 1 se muestra el efecto residual de los extractos comparando las dosis alta y baja de cada tratamiento contra *R. solani* en los dos periodos de incubación. En esta gráfica se puede verificar que aunque ningún extracto logró inhibir el 100 por ciento del hongo, el efecto fungistático se conserva hasta a las 96 h. Solamente el extracto de *O. majorana* a la dosis de 4,000 ppm muestra una pérdida del efecto residual a las 96 h de aproximadamente una tercera parte con respecto a lo observado a las 48 h; los otros dos extractos, tienen la misma tendencia pero con menor diferencia. A 20,000 ppm con los tres extractos se mantiene el efecto

fungistático a las 96 h. Todos los crecimientos miceliales que sobrevivieron a los tratamientos se reactivaron al sembrarse a manera de explantes en medio de cultivo de PDA.

Efecto de los extractos sobre *Phytophthora infestans*. El efecto de los extractos sobre la inhibición de este patógeno resultó con alta significancia con los datos tomados a las 48 y 96 h. En el cuadro 3 se aprecia la inhibición de *P. infestans* con el extracto de *O. majorana*, el que manifestó un efecto fungicida con una inhibición del 100 por ciento a la dosis de 8,000 ppm desde las 48 h. El extracto de *F. cernua* mostró un efecto fungistático reduciendo significativamente el crecimiento micelial de *P. infestans* desde las 48 h de incubación, en todas las dosis excepto en la de 4,000 ppm, donde se pierde el efecto inhibitorio a las 96 h. Esta pérdida de efectividad fungitóxica se apreció con el extracto de *B. ternifolia* en las dosis de 4,000 y 8,000 ppm donde la inhibición conseguida por las diferentes dosis a las 48 h no se logró sostener a las 96 h de incubación, al expresar apenas una reducción del crecimiento micelial de 34.98 por ciento en la dosis alta (20,000 ppm). Lo anterior puede deberse a la degradación o metabolización de las sustancias activas que presenta este extracto por el patógeno..

En el cuadro 4 se aprecia la comparación y distribución de los tratamientos sobre el efecto inhibitorio de *P. infestans*. Los tratamientos con *O. majorana* en las dosis de 8,000 a 20,000 ppm fueron altamente significativos e iguales estadísticamente al fungicida testigo metalaxil. El tratamiento con el extracto de *F. cernua* a 20,000 ppm presentó un menor efecto ya que el patógeno sobrevivió a esta dosis siendo inhibido el crecimiento micelial en un 67.27 por ciento con respecto al testigo metalaxil. Los tratamientos con *B. ternifolia* a las dosis de 4,000 a 16,000 ppm y el extracto de *F. cernua* a 4,000 ppm presentaron rangos de inhibición del crecimiento micelial estadísticamente similares al testigo absoluto.

En la figura 2 se muestra el efecto residual de los extractos; en este gráfico se comparan las dosis de 4,000 y 20,000 ppm de los tres extractos contra *P. infestans* en dos períodos de incubación. Los tres extractos perdieron totalmente el efecto inhibitorio en la dosis de 4,000 ppm a las 96 h de incubación mientras que a 20,000 ppm se observó ligera reducción del efecto inhibitorio con los extractos de *O. majorana* y *B. ternifolia*; el primer extracto a esta dosis sostuvo el efecto fungicida después de las 96 h de incubación. Para corroborar si los explantes tratados resultaron con el micelio muerto, se sembró en cajas PDA y se incubó por 96 h. Al no crecer el explante del hongo tratado, se demostró que el efecto sobre este patógeno fue fungicida desde la dosis de 8,000 ppm del extracto de *O. majorana*, el explante tratado con 4,000 ppm se reactivó en la caja petri con PDA sin tratar.

Similares resultados fueron conseguidos por diversos autores en cuanto al efecto fungicida obtenido con el extracto de *O. majorana* (Deans y Svoboda, 1990; De Vincenzi y Manzini, 1997). *B. ternifolia*, está reportada con excelente efectividad toxicológica de insectos, o bien hacia la estimulación de multiplicación celular (Grainge y Ahmed, 1988; Tobey *et al.*, 1978) sin hacer énfasis de toxicidad en patógenos. Con respecto a *F. cernua* en México se ha estudiado la composición química de sus aceites con el fin de buscar principios activos con potencial fungicida o fungistático (Domínguez *et al.*, 1970).

CONCLUSIONES.

Los tres extractos mostraron un efecto fungistático de *R. solani* desde la dosis de 4,000 a 20,000 ppm después de 96 h de incubación; se logró inhibir hasta en un 84.77 por ciento con el extracto de *F. cernua*. Contra *P. infestans*, solamente el extracto de *O. majorana* mostró el efecto fungicida desde la dosis de 8,000 ppm; el efecto fungistático de este patógeno se conservó a las 96 h con el extracto de *F. cernua* y *B. ternifolia* a la mayor dosis con tan sólo un 67.27 por ciento y de un 34.98 por ciento respectivamente.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Bautista, B.S, Montes, B.R. y Evangelista L.S. 1998. Inhibición del desarrollo micelial y esporulación de *Pestalotia* sp. Mediante el uso de extractos vegetales. En: Memorias del XXV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Guanajuato, Gto. 16(1):23.
- Bergeron, C., Marston, A., Hakizamungu, E. y Hostettmann, K. 1995. Antifungal constituents of *Chenopodium procerum*. *International Journal Pharmacogne*; 33 (2): 115-119.
- Cruz, O.J., Montoya, A.S., Estrada, R.F. y Castro, C.J.M. 1999. Extractos vegetales para el control de vectores de enfermedades virales en calabacita en Culiacán, Sinaloa. Memorias del XXVI Congreso de la Sociedad Mexicana de Fitopatología y X Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Guadalajara, Jalisco, México. Resumen 306.
- Deans, S.G. and Svoboda, K.P. 1990. The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum majorana* L.). *Flavour Fragrance Journal.*; 5(3): 187-190.

T 13508

BANCO DE TI SIS

U A T A A

- De Candolle, A., Javalera, R., y Campos, B.,G. 1997. Evaluación de extractos vegetales para el control de la cenicilla *Eriziphe cochorecearum*. Memorias del XXIV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Cd. Obregón, Sonora. Resumen 46.
- De Vincenzi, M. and Manzini, E. 1997. Monographs on botanical flavouring substances used in foods. *Fitoterapia*; 68 (1): 49-61.
- Domínguez, A.X., Gómez, E., Gómez, A.P., Villarreal, N.A., y Rombold, C. 1970. Physical data on the essential oils of five compositae plants. *Planta Medicinal.*; 19: 52-54.
- Frayre, S.L., Domínguez, A.A.D., García, A.B. y Sánchez, H.H.A.1996. Evaluación de extractos vegetales para el control de la mancha negra *Phytophthora* sp., en el cultivo el pepino. *Memorias del IX Reunión Científica-Tecnológica Forestal y Agropecuaria*; INIFAP-PRODUCE, Villahermosa, Tabasco. Publicación especial # 9; p. 61-68.
- Frayre S.L., García, A.B., Sánchez, H.H.A. y Domínguez, A.A.D. 1996. Evaluación de extractos vegetales para el control de la cenicilla vellosa (*Pseudoperonospora cubensis*). *Memorias del IX Reunión Científica-Tecnológica Forestal y Agropecuaria*; INIFAP-PRODUCE; Villahermosa, Tabasco. Publicación especial # 9; p. 61-68.
- González, S.F.A. y Guevara, M.M.M. 1990. Determinación de la persistencia de la actividad bactericida de la resina de *Larrea tridentata* sobre *Pseudomonas solanacearum* en laboratorio e invernadero. *Memorias del XVII Congreso Nacional de Fitopatología*. Sociedad Mexicana de Fitopatología; Culiacán, Sinaloa. p.107.
- Grainge M. and Saleem Ahmed. 1988. Handbook of plant with pest-control properties. John Wilwy and Sons Editors. Berkeley. USA.470 pp.
- Insunza, B.V. and Valenzuela, A.A. 1995. Control of *Ditylenchus dipsaci* on garlic (*Allium sativum*) with extracts of medicinal plants from Chile. *Nematropica*; 1995. 25(1): 35-41.
- Lomelí, R.M.G., y Ochoa, R.H.G. 1999. Evaluación fungicida del extracto de mesocarpio de *Coco nucifera* Linn. Memorias del XXVI Congreso de la Sociedad Mexicana de Fitopatología y X Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Guadalajara, Jalisco. Resumen 10.

López, E.R. y Sánchez, A.A. 1988. Evaluación de extractos de crucíferas sobre el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kühn *in vitro*. Memorias del XV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Xalapa, Ver; P. 107.

Mercado, Z.F.J. y Rosado, M.F.J. 1986. Efecto de compuestos orgánicos liberados por *Cyperus rotundus* L. sobre el crecimiento del hongo *Rhizoctonia solani* Kühn. Memorias del XII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología.; Culiacán, Sinaloa. P. 55.

Montes, B.R.; Cruz, C.V., y Madrigal, D.P. 1990. Control de la roya del frijol mediante extractos vegetales bajo condiciones de campo en Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. Memorias del XVII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología; Culiacán, Sinaloa. P. 104.

Olivares, S.E. Programa de diseños experimentales. 1994. Versión 2.5 Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Marín, N.L.

Qasem, J.R. and Abu-Blan H.A.. 1996. Fungicidal activity of some common weed extracts against different plant pathogenic fungi. *Journal of Phytopathology* (Berlin); 144(3): 157-161.

Rodríguez, B.H.R., Torres, E., y Sanabria, G.A. 1999. Actividad de extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi*, *Alternaria solani* y *Rhizoctonia solani*. Memorias del XXVI Congreso de la Sociedad Mexicana de Fitopatología y X Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Guadalajara, Jalisco. Resumen 139.

Salazar, H.F.; García, E.R.; y Tlapal, B.B. 1990. Evaluación de residuos e las plantas de gobernadora *Larrea tridentata* y epazote *Chenopodium ambrosioides* L. sobre los hongos *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani* en frijol *Phaseolus vulgaris* L. Memorial del XVII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología; Culiacán, Sinaloa. p. 102.

Secretaría de Salud. 1999. Acuerdo por el que se determinan las plantas prohibidas o permitidas para tés, infusiones y aceites vegetales comestibles. José Antonio González Fernández. Con fundamento en lo dispuesto por los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública

Federal. Programa de Reforma del Sector Salud 1995-2000. Diario Oficial de la Federación del 15 de diciembre de 1999. p. 2-4.

Sneh, B., and Ogtoshe, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. American Phytopatological Society, St. Poul, MN, USA. 133 pp.

Tobey, R.A., Orlicky, J.D., Deaven, L.L., Rall, B.L. and Kissane, J.R. 1978. Effects of bouvardin (NSC 259968), a cyclic hexapeptide from *Bouvardia ternifolia* on the progression capacity of cultured chinese hamster cells. *Cancer Reserch.* 38:4415-4421.

Cuadro 1. Comparación de medias del porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Rhizoctonia solani* Kühn en dos periodos de incubación (horas) con extractos metanólicos.

Extracto Dosis(ppm) \ Horas	<i>Flourensia cernua</i>		<i>Origanum majorana</i>		<i>Bouvardia ternifolia</i>	
	48	96	48	96	48	96
Tolclofos-metil	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a
20,000	86.23 b	84.78 b	78.49 b	80.04 b	74.19 b	70.78 b
16,000	84.95 bc	77.78 c	77.42 b	78.60 c	69.89 b	62.14 c
12,000	78.49 c	76.54 c	59.14 d	54.94 c	67.74 b	60.90 c
8,000	65.59 d	58.44 d	69.89 c	59.26 c	51.61 c	48.77 d
4,000	55.92 e	53.91 d	52.69 d	40.33 d	54.30 c	50.21 d
0.00	0.00 f	0.00 g	0.00 e	0.00 e	0.00 d	0.00 e

DMS_{0.05} = 4.16; C.V. = 6.85% (48 hrs).

DMS_{0.05} = 4.61; C.V. = 4.67% (96 hrs).

Cuadro 2. Comparación de medias del porcentaje de inhibición de *Rhizoctonia solani* Kühn con extractos metanólicos de plantas mediante la técnica del medio envenenado a las 96 horas de incubación.

Tratamiento	Dosis (ppm)	Inhibición (%)
Tolclofos-metil	4,560	100.00 a
<i>Flourensia cernua</i>	20,000	84.77 b
<i>Origanum majorana</i>	20,000	80.03 c
<i>Origanum majorana</i>	16,000	78.60 c
<i>Flourensia cernua</i>	16,000	77.77 c
<i>Flourensia cernua</i>	12,000	76.53 c
<i>Bouvardia ternifolia</i>	20,000	70.78 d
<i>Bouvardia ternifolia</i>	16,000	62.14 e
<i>Bouvardia ternifolia</i>	12,000	60.90 e
<i>Origanum majorana</i>	8,000	59.25 e
<i>Flourensia cernua</i>	8,000	58.43 e
<i>Origanum majorana</i>	12,000	54.93 fg
<i>Flourensia cernua</i>	4,000	53.91 gh
<i>Bouvardia ternifolia</i>	4,000	50.20 hi
<i>Bouvardia ternifolia</i>	8,000	48.76 i
<i>Origanum majorana</i>	4,000	40.33 j
Testigo absoluto	0.00	0.00 k

DMS_{0.05} = 3.99; C.V. = 4.67%.

Cuadro 3. Comparación de medias del porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary en dos periodos de incubación (horas) con extractos metanólicos.

Extracto Dosis(ppm) \ Horas	<i>Flourensia cernua</i>		<i>Origanum majorana</i>		<i>Bouvardia ternifolia</i>	
	48	96	48	96	48	96
Metalaxil	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a
20,000	88.44ab	67.28 b	100.00 a	100.00 a	77.21 b	34.98 b
16,000	81.63 b	48.56 c	100.00 a	100.00 a	57.14 c	1.23 c
12,000	63.95 c	31.69 d	100.00 a	100.00 a	51.02 c	4.93 c
8,000	49.66 c	9.153 e	100.00 a	100.00 a	22.45 d	0.00 c
4,000	21.77 d	0.00 f	55.44 b	2.47 b	7.82 e	0.00 c
0.00	0.00 e	0.00 f	0.00 c	0.00 b	0.00 e	0.00 c

DMS_{0.01} = 5.72; C.V. = 3.05% datos modificados con $\sqrt{(x+0.5)}$ (48 hrs).

DMS_{0.01} = 6.56; C.V. = 6.93% (96 hrs).

Cuadro 4. Comparación de medias del porcentaje de inhibición de *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary con extractos metanólicos mediante la técnica del medio envenenado a 96 horas de incubación.

Tratamiento	Dosis (ppm)	Inhibición (%)
Metalaxil	750	100.00 a
<i>Origanum majorana</i>	20,000	100.00 a
<i>Origanum majorana</i>	16,000	100.00 a
<i>Origanum majorana</i>	12,000	100.00 a
<i>Origanum majorana</i>	8,000	100.00 a
<i>Flourensia cernua</i>	20,000	67.27 b
<i>Flourensia cernua</i>	16,000	48.56 c
<i>Bouvardia ternifolia</i>	20,000	34.98 d
<i>Flourensia cernua</i>	12,000	31.69 d
<i>Flourensia cernua</i>	8,000	9.15 e
<i>Bouvardia ternifolia</i>	12,000	4.93 ef
<i>Origanum majorana</i>	4,000	2.46 f
<i>Bouvardia ternifolia</i>	16,000	1.23 f
<i>Bouvardia ternifolia</i>	8,000	0.00 f
<i>Bouvardia ternifolia</i>	4,000	0.00 f
<i>Flourensia cernua</i>	4,000	0.00 f
Testigo absoluto	0.00	0.00 f

DMS_{0.01} = 5.68; C.V. = 6.93% (96 hrs).

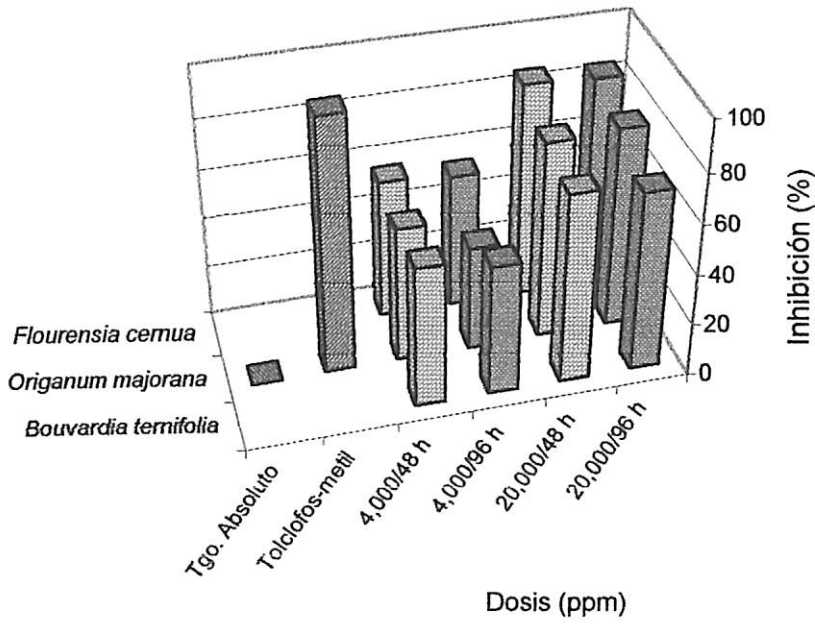


Figura 1. Efecto residual de los extractos metanólicos en la inhibición de *Rhizoctonia solani* Kühn.

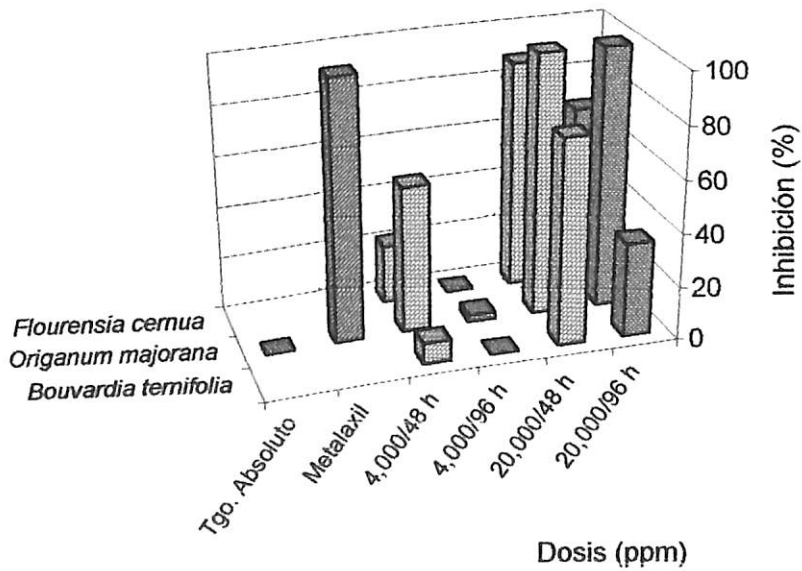


Figura 2. Efecto residual de los extractos metanólicos en la inhibición de *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary.

CONCLUSIONES GENERALES

Los extractos metanólicos crudos de *Flourensia cernua* (hojasén), *Origanum majorana* (mejorana) y *Bouvardia tenifolia* (trompetilla) y los polvos hidrosolubles de *Larrea tridentata* presentaron actividad biológica evidente con la inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans*.

Los extractos crudos de hojasén, mejorana y trompetilla resultaron con acción fungistática contra *R. solani* aún a 20,000 con diferencia estadística respecto al testigo absoluto con 70.78, 80.04 y 84.78 por ciento de inhibición del crecimiento micelial respectivamente.

Contra *P. infestans* se logró un efecto fungicida con el extracto de mejorana desde la dosis de 4000 ppm, siendo estadísticamente igual al testigo metalaxil; mientras que las resinas de hojasén y trompetilla a 20,000 ppm resultaron con acción fungistática de 67.27 y 34.98 por ciento de inhibición respectivamente.

Los extractos de gobernadora (*L. tridentata*) resultaron con acción fungicida aún a la mínima dosis de 500 ppm contra *P. infestans* y a 2,000 ppm contra *R. solani*.

Existe ligera superioridad estadística de la efectividad biológica por parte de los extractos del Desierto Sonorense sobre ambos patógenos a diferencia de los extractos del Desierto Chihuahuense.

El efecto inhibitorio se reduce inversamente proporcional conforme se aumenta el gradiente latitudinal de colecta sobre el Desierto Chihuahuense, mientras que los extractos del Desierto Sonorense mostraron un incremento de la inhibición en forma proporcional con forme se aumenta el gradiente latitudinal en este desierto, este efecto se observó sobre los dos patógenos de estudio.

Los extractos que resultaron con mayor potencial por inhibir el 100 por ciento a uno o a ambos patógenos de estudio fueron los obtenidos a partir de gobernadora (*L. tridentata*) y mejorana (*O. majorana*).

LITERATURA CITADA

Alexopoulos, C. J., Mims, C.W. y Blackwell, M. 1996. *Introductory mycology*. Fourth Edition. John Wiley & Sons, INC. New York. 869 pp.

Amador P., R. 2001. *Enfermedades de la papa*. Asesor COOPEBAIRES R. L. del Sistema de Información del Sector Agropecuario Costarricense (InfoAgro) Con el Apoyo Técnico del IICA; San José, Costa Rica. P. 141.

Benner, J.P. 1993. *Pesticide science*; Sussex, Inglad; Jonh Wiley and Sons Limited; 39 (2): 95-102.

Campos L., E., Mabry T.J. y Fernández, S. 1979. *Larrea*. Tavizon, 2da. Edición, Centro de Investigación en Química Aplicada. Saltillo, Coahuila; CONACYT- Serie del Desierto. 411 pp.

Cortés L.E., Sánchez, O., García, M.R., Villescusa, S.G., Cinco, M.M.. 1993. Plant powders as stored grain protectants against *Zabrotes subfasciatus* (Boheman). *Southwestern Entomology*. Scientific note 18: P. 1.

Deans S.G. y Svoboda, K.P. 1990. The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum majorana* L.). *Uk.Flavour Fragrance Journal*; 5(3): 187-190.

De Vincenzi M. Y Manzini, E. 1997. Monographs on botanical flavouring substances used in foods. *Fitoterapia*; 68 (1): 49-61.

Domínguez, X. A. 1985. *Métodos de investigación fitoquímica*. Editorial Limusa, México, 3ª. reimpresión. 281 pp.

Fernández T.S., Hurtado, L.M., and Hernández, B.F. 1979. Fungitoxic compounds of creosote bush resin. En: *Larrea*; Campos LE, TJ Mabry, T S Fernández. Serie El Desierto. CIQA México P. 327.

Frayre S.L., Domínguez-A.,A.D., García-A., B. y Sánchez-H., H.A. 1996. Evaluación de extractos vegetales para el control de la mancha negra *Phytophthora* sp., en el cultivo del pepino. En: *Memorias de la IX Reunión Científica-tecnológica Forestal y Agropecuaria*; Villahermosa, Tabasco. Publicación especial # 9. P. 68.

Frayre S.L., García-A., B., Sánchez-H.,H.A. y Domínguez-A.,A.D. 1996. Evaluación de

extractos vegetales para el control de la cenicilla vellosa (*Pseudoperonospora cubensis*). En: Memorias de la IX Reunión Científica-tecnológica Forestal y Agropecuaria; Villahermosa, Tabasco. Publicación especial # 9. p. 69.

Fry, W. E., Goodwin, S. B., Matuszak, M. J., Spielman, L. J. and Milgroom, M. G. 1992. Population genetics and intercontinental migrations of *Phytophthora infestans*. *Annual Rev. Phytopathology*. 30:107-130.

Gamboa-A., R. 1997. Evaluación de extractos vegetales acuosos sobre la pudrición de raíz y corona (*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*) y efectos estimulantes en tomate (*Lycopersium esculentum* Mill). Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila. 93 pp.

García-E.R., Cordobilla-P., M., Vega-S., M. y Tlalpal-B.,B. 1997. Alelopatía y control de enfermedades de la raíz en jitomate con la adición al suelo de gobernadora (*Larrea tridentata*). En boletín: *Avances en la Investigación. Colegio de Postgraduados*. P. 72.

García, J. 1997. Introducción a los plaguicidas. 1 Ed., San José, C. R. EUNED. 467pp.

García-S., L.P. 1993. Digestibilidad "in vitro" de la harina de gobernadora (*Larrea tridentata* Cov.) tratada con NaOH al 0.1 por ciento de Normalidad a diferentes tiempos de agitación (1,2,4 y 6 horas). Tesis de licenciatura. División de Ciencia Animal; Buenavista, Saltillo, Coahuila. 50 pp.

García, R. y Montes, R. 1992. Efecto de extractos vegetales en la germinación de esporas y en los niveles de *Alternaria solani* en tomate. *Sociedad Mexicana de Fitopatología; Memorias del XIX Congreso Nacional de Fitopatología; Buenavista, Saltillo, Coahuila*. P. 159.

Gnabre J.N., Brady-J.L., Clanton-D.J. 1995. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 transcription and replication by DNA sequence-selective plant lignan. *Proc of the Natural Academy of Science*. 11: P. 239.

González, S.F.A. y Guevara, M.M.M. 1990. Determinación de la persistencia de la actividad bactericida de la resina de *Larrea tridentata* sobre *Pseudomonas solanacearum* en laboratorio e invernadero. En: *Memorias del XVII Congreso Nacional de Fitopatología. Culiacán, Sinaloa*.P. 107.

Hooker, W. J. 1980. Compendio de enfermedades de la papa. Versión española por T. Ames de Icochea. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA. 467 pp.

Konstantopoulou I. L., Vassilopoulou, Mavragani, P., Tshipidou y Scouras, Z.G. 1992. Insecticidal effects of essential oils: A Study of the effect of essential oils extracted from eleven greek aromatic plants on *Drosophila auraria*. *Experientia*. 48(6): 616-619.

Lucas, J. A., Shattock, R. C., Shaw, D. S. and Cooke, R. 1991. *Phytophthora*. *Britanic Mycology Society. Cambridge. Cambridge Univ. Press*. 386 pp.

- Marcos-C. F. 1996. Evaluación de extractos vegetales para el control de la pudrición de la corona y raíz del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Tesis de licenciatura. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 86 pp.
- Martínez, M. 1994. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas Mexicanas; México, Fondo de Cultura Económica; 1ª reimpression; México. 1249 pp.
- Montes, B., R., Cruz C., V. Martínez, M., G., Sandoval, G., G., García, L. R., Zilch, D., S., Bravo L., L., Bermúdez, T., L., Flores, M., H.E. 2000. Propiedades antifúngicas en plantas superiores. Análisis retrospectivo de investigaciones. *Revista Mexicana de Fitopatología* 18(2)125-131.
- Montes, B.R.; Cruz, C.V., y Madrigal, D.P. 1990. Control de la roya del frijol mediante extractos vegetales bajo condiciones de laboratorio en Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. *Memorias del XVII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología*; Culiacán, Sinaloa. P. 104.
- Montes B.R. y Martínez, M.G. 1989. Control de la cenicilla y del mildiu de la calabacita (*Cucurbita pepo*) mediante extractos vegetales en los valles centrales de Oaxaca. En: *Memorias del XVI Congreso de Fitopatología*, Montecillos, Edo. de México. P.
- Odum-E., P. 1987. *Ecología: El vínculo entre las ciencias naturales y los Sociales*. Editorial Continental. 295 pp.
- Padilla M., A, Vázquez M., M. del S. y Rodríguez E., R. 1995. Actividad biológica del extracto hexánico de *Quercus grisea* sobre hongos patógenos de la raíz. En: *Memorias del XXII Congreso Nacional de Fitopatología de la Sociedad Mexicana de Fitopatología*. Guadalajara, Jalisco. P. 86.
- Pérez, C. y Moreno, N.. 1997. Rizoctoniosis en el pasto *Brachiaría brizantha* en el estado de Barinas. En: *Resúmenes de los trabajos presentados en el XV Congreso Venezolano de Fitopatología*. Maracaibo, Edo. Zulia. P. 23-27.
- Quintero-S. R., Gioanetto F., Chávez-C. E. y Bárcenas-O., D. (Editores). 2002. *Curso taller de agricultura orgánica*. Universidad Autónoma de Chihuahua. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, CIDACOM, , Chihuahua, Chihuahua. 227 pp.
- Rodríguez, H A, Nass, H., Cardona, R., y Alemán, L.. 1997. Alternativas para controlar el añublo de la vaina foliar (*Rhizoctonia solani*) en arroz. FONAIAP-Portuguesa, *Fitopatología-Protección Vegetal*. En: *Resúmenes de los trabajos presentados en el XV Congreso Venezolano de Fitopatología*. Maracaibo, Edo. Zulia. S/p.
- Sandoval-V., S.A., Apodaca, M.A. y Quintero, J.A.. 1995. Efecto del extracto de semilla de toronja contra *Rhizoctonia solani* y *Erwinia carotovora* *in vitro*. En: *Memorias de XXII Congreso Nacional de Fitopatología*. Sociedad Mexicana de Fitopatología. P. 84.

- Swann-E. C. and Taylor-W. J. 1993. Higher taxa of basidiomycetes: An 18S rRNA gene perspective. *Micología*, (85)6, pp. 923-936.
- Tapia-F. A. C., Gamboa-C., S. (2001). Manejo Integrado del Tizón Tardío (*Phytophthora infestans*), Asesor COOPEBAIRES R. L. del Sistema de Información del Sector Agropecuario Costarricense (InfoAgro) Con el Apoyo Técnico del IICA; San José, Costa Rica. S/p.
- Tobey, R.A., Orlicky-D., J., Deaven-L., L., Rall-B., L. y Kissane-J., R. 1978. Effects of bouvardin (NSC 259968), a cyclic hexapeptide from *Bouvardia ternifolia* on the progression capacity of cultured Chinese hamster cells. *Cancer Res.* 38:4415-4421.
- Valencia-O., C. 1995. Fundamentos de fitoquímica. Editorial Trillas. Primera edición mes de mayo. 235 p.
- Villarreal, Q., J. A. 1983. Malezas de Buenavista; Editado en talleres de imprenta de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 271 pp.
- Velásquez-M., J.J. 1983. Evaluación del poder bactericida o bacteriostático de la fracción etanólica de la resina de gobernadora contra las bacterias *Erwinia amylovora*, *Erwinia atroseptica* y *Pseudomonas solanacearum*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 63 pp.
- Velásquez-V., R. 1981. Evaluación de la actividad funguicida de la resina de la gobernadora sobre *Cytosporina* sp. estado asexual de *Eutypa armeniacae* Hans & Carter). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 68 pp.
- Zalewsky, J.C. and Sequeira, L.. 1973. Inhibition of bacterial growth by extracts from potato tubers. *Phytopathology* 63 (7): 942-943.
- Zavaleta-M. E. 1990. Efecto de la asociación de *Tagetes erecta* con tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) y chile (*Capsicum annum* L.) sobre poblaciones de áfidos de Tecamachalco, Puebla. En: Memorias del XVII Congreso Nacional de Fitopatología. CONACYT; Culiacán, Sinaloa. P. 100.
- Zilch D.S. y Montes B.R. 1991. Efecto de extractos vegetales acuosos en la germinación de esporangios y en la infección de *Phytophthora* sp. en calabacita en Oaxaca. En: Memorias del XVIII Congreso Nacional de Fitopatología; Buenavista, Saltillo, Coahuila. P. 212.

APÉNDICE

Cuadro A1. Rendimiento de resinas obtenidas de las plantas de estudio por el método de soxhlet.

Planta / parte usada	material seco (g)	Extracto hexánico (g)	Extracto acetónico (g)	Extracto metanólico (g)
<i>Cucurbita foetidissima</i> hojas	205.5	6.5	6.5	11
<i>Cucurbita foetidissima</i> fruto	84.5	4	8	9
<i>Cucurbita foetidissima</i> raíz	42	1	1.5	6
<i>Chenopodium graveolens</i> hojas e inflorescencias	500	11	9	40
<i>Parthenium incanum</i> hojas	80	4.5	2	6
<i>Tagetes lucida</i> SW hojas, tallos y flores	250	12	5	3.5
<i>Flourensia cernua</i> hojas y flores	400	22	18	60
<i>Tumera difussa</i> Hojas	350	14	14	15
<i>Artemisia mexicana</i> Hojas y flores	200	15	7	20
<i>Origanum majorana</i> hojas	200	16	9	50
<i>Bouvardia tenifolia</i> hojas	210	10	8	11

Cuadro A2. Efecto de extractos hexánicos, acetónicos y metanólicos sobre el desarrollo de *Phytophthora infestans* por la técnica de disco-difusión por confrontación.

TRATAMIENTO	NATURALEZA DE EXTRACCIÓN					
	Hexánica		Acetónica		Metanólica	
	10,000	20,000	10,000	20,000	10,000	20,000
EXTRACTO Y PARTE USADA / DOSIS ppm						
<i>Cucurbita foetidissima</i> H.B.K.(aérea)	-	-	-	-	-	-
<i>Cucurbita foetidissima</i> H.B.K.(fruto)	-	*	-	*	*	*
<i>Cucurbita foetidissima</i> H.B.K.(raíz)	-	-	-	*	*	*
<i>Chenopodium graveolens</i> Willd (aérea)	-	-	-	-	-	*
<i>Parthenium incanum</i> H.B.K.(aérea)	-	-	-	-	-	*
<i>Tagetes lucida</i> H.B.K.. (aérea)	-	-	*	**	-	*
<i>Flourensia cernua</i> D.C. (aérea)	-	-	-	-	-	-
<i>Turnera difussa</i> Willd (aérea)	-	-	-	-	*	*
<i>Artemisia mexicana</i> Willd (aérea)	-	-	-	-	-	**
<i>Origanum majorana</i> L.. (aérea)	-	-	-	-	-	-
<i>Bouvardia ternifolia</i> (Cav) Schl	-	-	-	*	-	*
Testigos absolutos	-	-	-	-	-	-
Tgo. Metalaxil 900 ppm				--		

- Tratamiento sin formar halos de inhibición. * Tratamiento con halos < de 2 mm.

** Tratamiento con halos > de 2 mm de diámetro. -- Nulo efecto del testigo químico.

Cuadro A3. Efecto de extractos hexánicos, acetónicos y metanólicos sobre el desarrollo de *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* por la técnica de disco-difusión.

TRATAMIENTO	NATURALEZA DE EXTRACCIÓN					
	Hexánica		Acetónica		Metanólica	
	10,000	20,000	10,000	20,000	10,000	20,000
EXTRACTO Y PARTE USADA/DOSIS ppm						
<i>Cucurbita foetidissima</i> H.B.K.(aérea)	*	*	*	*	-	-
<i>Cucurbita foetidissima</i> H.B.K.(fruto)	-	-	*	*	-	-
<i>Cucurbita foetidissima</i> H.B.K.(raíz)	*	*	*	-	-	-
<i>Chenopodium graveolens</i> Willd (aérea)	*	**	*	**	*	*
<i>Parthenium incanum</i> H.B.K.(aérea)	*	*	*	*	*	*
<i>Tagetes lucida</i> H.B.K.. (aérea)	-	*	-	-	*	-
<i>Flourensia cernua</i> D.C. (aérea)	*	*	**	**	*	*
<i>Turnera difussa</i> Willd (aérea)	**	**	*	*	*	-
<i>Artemisia mexicana</i> Willd (aérea)	*	*	*	-	-	-
<i>Origanum majorana</i> L.. (aérea)	*	*	-	**	-	*
<i>Bouvardia ternifolia</i> (Cav) Schl	*	*	*	**	-	-
Testigos absolutos		*		-		-
Tgo.109 y 12 ppm estrept / oxitetraciclina				> **		

- Tratamiento sin formar halos de inhibición. * Tratamiento con halos < de 2 mm.

** Tratamiento con halos > de 2 mm de diámetro. -- Nulo efecto del testigo químico. T13508

U A A A N