

Actividad Fungicida de Extractos de *Cowania plicata* D. Don. contra *Fusarium oxysporum* Schlechtend. Fr. y de *Pistacia lentiscus* L. contra *Colletotrichum coccodes* Wallr. Hughes

Mario Enrique Contreras-Arredondo, Francisco Daniel Hernández-Castillo, Abiel Sánchez-Arizpe, Gabriel Gallegos-Morales, Diana Jasso de Rodríguez

Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Colonia Buenavista, 25315, Saltillo, Coah., México. Apdo. postal 342. E-mail: fdanielhc@hotmail.com. (*Autor responsable).

Abstract

At present there are many restrictions on the use of synthetic fungicides, due to irreparable damage caused to the environment, and to health of plants and animals. A possible alternative is the application of quick biodegradation agents such as fungicides of plant extracts. Due to this fact it is advisable to assay, *in vitro*, the effects of methanol extracts of woody plants in the region such as alexandria (*Cowania plicata* D. Don.) mastic tree (*Pistacia lentiscus* L.) on two species of phytopathogenic fungi of potato (*Solanum tuberosum* L.); *Fusarium oxysporum* and *Colletotrichum coccodes*. An inhibitory concentration (IC) of methanol extracts on a PDA plate is reported, finding that the lowest concentration (IC₅₀) was mastic leaf extract at 2.000 ppm, and higher (IC₉₀) of 16.000 ppm for *C. coccodes*, whereas flower extracts of alexandria were obtained (IC₅₀) of 3.000 ppm, and one (IC₉₀) of 28.000 ppm of *F. oxysporum*. Chemical determinations of these extracts, indicating the presence of various compounds of interest, useful not only to further enrich the vast chemotaxonomy in plants, but also to open new horizons in research on active ingredients with pesticidal activity.

Key words: *Pistacia lentiscus* L., *Cowania plicata* D. Don., plant extracts, fungicidal activity, phytopathogenic fungi.

Resumen

Hoy en día existen abundantes restricciones para el uso de fungicidas sintéticos, debido a los daños irremediables que ocasionan al medio ambiente, y a la salud de plantas y animales. Una posible alternativa, es la aplicación de agentes de rápida biodegradación como lo son los fungicidas provenientes de extractos vegetales. Debido a ello se propone evaluar *in vitro* los efectos de extractos metanólicos de plantas leñosas de la región como: alejandría (*Cowania plicata* D. Don.) y lentisco (*Pistacia lentiscus* L.), sobre dos especies de fitopatógenos de papa (*Solanum tuberosum* L.), como: *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum coccodes*. Se reporta la concentración inhibitoria (CI) de los extractos metanólicos en placa de PDA, encontrando que la menor concentración (CI₅₀) fue del extracto de hoja de lentisco a 2,000 ppm y la mayor (CI₉₀) de 16,000 ppm para *C. coccodes*, mientras que con los extractos de flor de alejandría se obtuvo una (CI₅₀) de 3,000 ppm y una (CI₉₀) de 28,000 ppm sobre *F. oxysporum*. Las determinaciones químicas de dichos extractos, indican la presencia de varios compuestos de interés, útiles no solo para enriquecer aún más la vasta quimiotaxonomía en plantas, sino también para abrir nuevos horizontes en investigaciones de principios activos con actividad plaguicida.

Palabras clave: *Pistacia lentiscus* L., *Cowania plicata* D. Don., Extractos vegetales, Actividad fungicida, Hongos fitopatógenos.

Introducción

Los productores agrícolas se han visto obligados a utilizar cada vez mayores cantidades de sustancias químicas para el control de plagas en campo; estos excesos provocan

que los patógenos desarrollen resistencia a los agroquímicos que se usan para su control. Aunado a lo anterior, los pesticidas ocasionan contaminación del ecosistema, además de provocar severas afecciones a la

salud de las personas, animales y plantas (Montes y Martínez, 1992 y González, 1989).

El uso de plaguicidas y otros agroquímicos para la producción agrícola en América Latina es incuestionable; sin embargo, existe una considerable preocupación entre la población, por los efectos negativos del uso de estos productos (Lagunes y Villanueva, 1994). En México están autorizados aproximadamente 150 ingredientes activos de plaguicidas, los cuales se venden con más de 400 nombres comerciales diferentes (DGSV, 1982 y CICLOPAFEST, 1991).

Actualmente existen muchas restricciones para el uso de fungicidas de tipo sintético, proponiéndose como una alternativa a los agentes químicos, la aplicación de productos de fácil biodegradación como son fungicidas derivados de extractos o polvos de origen vegetal. En este sentido, México es uno de los países con mayor diversidad vegetal en todo el mundo, estimándose que posee entre 23,000 y 30,000 especies de plantas (Toledo, 1994) de las cuales se usa una cantidad mínima (Sarukham, 1995).

La diversidad de compuestos con actividad fungicida es enorme y solo se conoce una pequeña parte de ellos, puesto que las plantas estudiadas representan un porcentaje sumamente bajo del total de especies en el planeta (Montes *et al.*, 2000).

Algunos extractos vegetales pueden ser inhibidores para una cierta especie de hongo pero ser un estimulador del crecimiento para otros (Bravo *et al.*, 1998). En otros casos, los compuestos fenólicos de los pigmentos tienen un efecto fungistático sobre dichos patógenos (Valadez *et al.*, 1986).

Las plantas han logrado desarrollar, durante su constante evolución, diversos mecanismos de defensa contra patógenos; uno de ellos es la síntesis de metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas. Muchos autores han estudiado la aplicación de estos compuestos en forma de extractos acuosos o con diversos solventes para el control de organismos fitopatógenos (Montes y Domingo, 1990).

Guerrero-Rodríguez *et al.* (2007), evaluaron el efecto de extractos de hojas frescas de *Flourensia cernua* en la inhibición del crecimiento micelial de *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporoides* y *Penicillium digitatum*, empleando metanol y cloroformo como solventes principales en relación 1:1 a varias concentraciones. Sin embargo, no todos los extractos afectaron la esporulación. Lira-Saldivar *et al.* (2006), evaluaron *in vitro*, la actividad antifúngica de resina hidrosoluble de gobernadora (*Larrea tridentata* D.C. Coville L.) y soluciones de quitosán (Ch), solos y combinados, sobre *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum coccodes* y *Fusarium oxysporum* f. sp.

lycopersici, reportando que ambos productos manifestaron su efecto fungicida a 1,000 y 2,000 ppm; sin embargo al combinarlos mostraron una actividad fungicida sinérgica. Lira-Saldivar *et al.* (2002), evaluaron el efecto antifúngico de resina de gobernadora (*L. tridentata* Sesse and Moc. Ex D.C.) colectada en los desiertos Chihuahuense y Sonorense, contra *Pythium sp.* Pringsh, empleando metanol, etanol y cloroformo como solventes. La resina de las plantas del desierto Chihuahuense mostraron un 22.6 % de inhibición, mientras que las del desierto Sonorense obtuvieron un 25.4 %. Gamboa-Alvarado *et al.* (2002), evaluaron extractos metanólicos de hojaseén (*Flourensia cernua* D.C.), mejorana (*Origanum majorana* L.) y trompetilla (*Bouvardia ternifolia* (Ca.) Schlecht.), sobre *Phytophthora infestans* Mont. (De Bary), reportando que el extracto con mejorana presentó un efecto fungicida desde la dosis de 8,000 ppm; mientras que los extractos con *F. cernua* y *B. Ternifolia*, mostraron un ligero efecto fungistático a dosis altas. Jasso de Rodríguez *et al.* (2005), evaluaron con éxito el efecto inhibidor de la pulpa de *Aloe vera* sobre del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum coccodes*.

En base a lo anterior, los objetivos de la presente investigación fueron: a) determinar la actividad biológica *in vitro* de extractos metanólicos de alejandría (*Cowania plicata*) y lentisco (*Pistacia lentisco*); sobre *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum coccodes*, respectivamente; b) determinar los órganos de la planta (hoja, raíz, flor, etc.) con mayor actividad biofungicida y c) determinar la presencia de compuestos químicos de importancia en las partes de la planta que muestren una mayor actividad fungicida.

Material y Métodos

Aislamiento de los hongos fitopatógenos

En la región sureste de Coahuila, en el norte de México, se colectaron plantas de papa variedad Alpha con síntomas característicos de cada enfermedad, y se trasladaron al laboratorio de Fitopatología, donde bajo condiciones de asepsia se realizaron los aislamientos en medio de cultivo papa-dextrosa agar (PDA). Los hongos *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum coccodes*, se purificaron por punta de hifa (Finch, 1982), y se identificaron a especies por caracteres morfológicos (Booth, 1971; Bailey y Jeger, 1992). Las cepas se conservaron en refrigeración a 4 ± 1 °C, en tubos de ensaye con PDA. Para los bioensayos, los hongos se inocularon en cajas petri con PDA, colocando un explante de micelio con medio de cultivo de ± 5 mm de diámetro al centro de cada caja petri. Se incubaron por cinco días a 22 ± 2 °C y oscuridad continua.

Obtención del material vegetal

La colecta de lentisco (*Pistacia lentiscus*), se realizó al sur de la ciudad de Saltillo, Coah., México a 25° 23' 50" LN, 101° 00' 37" LO y a una altitud de 1,750. La colecta de alejandría (*Cowania plicata*), se llevó a cabo en la sierra de Zapalinamé al sur de esta misma ciudad, localizado a 25° 22' 35" LN, 100° 59' 15" LO a 1,780. Las condiciones climáticas y el tipo de suelo de ambos sitios mostraron ciertas variaciones, el promedio de precipitación anual es de 369 mm, coincidentes con los meses calientes anuales y con temporadas secas muy prolongadas. Se colectaron plantas completas, se depositaron en bolsas de plástico etiquetadas y se colocaron en hieleras para su traslado al laboratorio. Posteriormente se fraccionaron sus partes vegetativas, se secaron en estufa a 35 °C por 3 días, y se molieron con un molino Thomas Wiley. Enseguida se envasaron en frascos de vidrio, y se conservaron a 22 °C y no más de 45 % de humedad relativa, hasta su uso.

Obtención de los extractos

Para cada extracción se emplearon 300 g de material vegetal previamente secado y triturado, el cual se depositó dentro de una funda de papel filtro Watham No. 2, y se sometió a un proceso de extracción sucesiva por reflujo empleando equipo Soxhlet por un período de 24 h, a una temperatura de 45 a 50 °C, empleando como solvente 700 mL de metanol, considerando que los extractos alcohólicos son útiles para conocer la presencia de principios activos importantes (Domínguez, 1973). Los extractos obtenidos se sometieron a evaporación por presión utilizando un rotavapor marca Buchi por 30 min, hasta obtener una pasta uniforme que luego se depositó en frascos de vidrio esterilizados, etiquetados, y cubiertos con papel aluminio, los cuales se conservaron en refrigeración hasta su uso.

Actividad antifúngica de los extractos

Los bioensayos se efectuaron en cajas petri de 8 cm con la mezcla de PDA y el extracto por el método de cultivo envenenado (Dhingra y Sinclair, 1995). Se evaluaron en extractos de alejandría (*C. plicata*) a concentraciones de 0 a 55,000 ppm sobre *F. oxysporum*; extractos de lentisco (*P. lentisco*) a concentraciones de 0 a 25,000 ppm sobre *C. coccodes*, como pruebas preliminares.

Posteriormente se establecieron bioensayos con extractos de las fracciones vegetales, empleando concentraciones de 2,000, 5,000 y 15,000 ppm para ambas plantas. Los hongos se colocaron como explantes de 5mm tomados del margen de crecimiento vigoroso de una colonia de 5 d de edad al centro de cada caja petri. Las cajas se

sellaron y se incubaron a 25 ± 1°C por 7 d. Las lecturas del crecimiento micelial se realizaron con un vernier y se transformaron a porcentaje de crecimiento con respecto a la media de crecimiento del testigo, se realizó un análisis probit, para el cual se empleo el software PC-Log Probit (Camacho, 1991), se utilizaron tres repeticiones por tratamiento. Con este método se obtuvieron la dosis inhibitorias 50 y 90, la ecuación de predicción, las líneas de dosis respuesta, límites fiduciales, además de los valores de chi-cuadrada X² y el coeficiente de correlación r (Rodríguez, 1991 y Matsumara, 1976).

Análisis de suelo y planta

La determinación de pH, nitrógeno y materia orgánica del suelo donde se localizaron las plantas de lentisco (*P. lentiscus*) y alejandría (*C. plicata*) se realizó de acuerdo a (Dewis y Freitas, 1984; Black *et al.*, 1965 y Jackson, 1976); la textura se determinó por el método del hidrómetro (Narro, 1994 y Grande, 1974). Se utilizaron muestras extraídas a una profundidad aproximada de 60 cm (Chapman y Parker, 2000). Las pruebas realizadas a las fracciones foliares de la planta fueron: por ciento de nitrógeno y de fósforo se determinaron de acuerdo a (Sainz y Bornemiza, 1961, Homer y Parker, 2000, Bohz y Mellon, 1984). El análisis elemental se realizó mediante absorción atómica.

Determinaciones Fitoquímicas

La determinación de taninos totales (TT), se realizó de acuerdo a Folin-Cioecalteau (1927) y Singleton y Rossi (1965); los taninos hidrolizables (TH) por la técnica de Folin-Cioecalteau (1927) y Waterman y Mole (1987); los taninos condensados (TC) mediante los métodos de Price y Bulter (1978); los galotaninos por la técnica de Hagerman (1989); los elagiotaninos por el método de Wilson y Hagerman (1990); el contenido de ácido gálico por la técnica de Sharma *et al.* (2000); HPLC, (Sade, 2000 y García de Marina, 2008); Espectrofotometría (Harris, 2006) y la determinación de compuestos terpenicos mediante cromatografía de gases (Valcárcel *et al.*, 1994).

Resultados y Discusión

Efecto antifúngico de los extractos

La actividad inhibitoria de los extractos de *P. lentiscus* sobre el crecimiento micelial de *C. coccodes* y de los extractos de *C. plicata* sobre *F. oxysporum* alcanzó el 100 % a 22,000 ppm y 55,000 ppm respectivamente (Cuadro 1). Las concentraciones anteriores se establecieron mediante pruebas preliminares, ya que no se encontraron reportes de otras investigaciones realizadas con este tipo de plantas, además de que es difícil establecer

una metodología estándar para las pruebas de productos vegetales contra hongos, en función a la diversidad de relaciones entre planta y patógeno (Pratley *et al.*, 1999).

Cuadro 1. Inhibición del crecimiento micelial (%) de *Colletotrichum coccodes* y *Fusarium oxysporum* con extractos de *Pistacia lentiscus* y *Cowania plicata* en placas con PDA a diferentes concentraciones.

<i>C. plicata</i> Dosis (ppm)	ICM (%) <i>F. oxysporum</i>	<i>P. lentiscus</i> Dosis (ppm)	ICM (%) <i>C. coccodes</i>
5,000	11.66	1,000	18.73
10,000	44.55	2,000	35.50
15,000	77.27	4,000	57.24
20,000	79.39	6,000	66.39
25,000	79.85	8,000	87.24
30,000	81.82	10,000	87.88
35,000	87.88	13,000	88.30
40,000	90.90	16,000	90.00
45,000	94.70	19,000	92.45
50,000	97.58	22,000	100.00
55,000	100.00	25,000	100.00

ICM = Inhibición de crecimiento micelial

Los resultados del análisis probit indican que la CI_{50} y la CI_{90} para *C. coccodes* es de 3,003.58 ppm y 14,176.86 ppm, mientras que para *F. oxysporum* es de 11,196.26 ppm y 33,615.48 ppm respectivamente (Cuadro 2).

Cuadro 2. Concentraciones (CI_{50} y CI_{90}) de extractos de *Pistacia lentiscus* sobre *Colletotrichum coccodes* y de *Cowania plicata* sobre *Fusarium oxysporum*

Extracto	Límites Fiduciales (ppm)			CI_{90}
	CI_{50}	Inferior	Superior	
<i>C. plicata</i>	11,196.26	9,990.92	12,347.22	33,615.48
<i>P. lentiscus</i>	3,003.58	2,585.99	3,420.33	14,176.86

Cuadro 4. Inhibición de crecimiento micelial (%), con extractos de diferentes partes vegetales de *Cowania plicata* (CP) y *Pistacia lentiscus* (PL) sobre *F. oxysporum* y *C. coccodes*, respectivamente.

Dosis ppm	Extractos de							
	hoja CP	hoja PL	raíz CP	raíz PL	flor CP	drupa PL	tallo CP	tallo PL
2,000	37.04	51.79	23.44	09.10	41.57	01.80	15.63	06.37
5,000	57.50	85.45	30.47	15.82	72.97	10.37	23.44	10.00
15,000	88.13	100.00	41.25	44.37	91.10	19.64	40.94	50.91

Los análisis de correlación, muestran valores estimados de 0.860 para *C. coccodes* y 0.842 para *F. oxysporum* (Cuadro 3).

Cuadro 3. Coeficiente de correlación (r) y chi-cuadrada (X^2) de las líneas de regresión dosis – inhibición de diferentes concentraciones de extractos de *P. Lentiscus* y *C. plicata* sobre *Colletotrichum coccodes* y *Fusarium oxysporum*.

Extracto	Hongo	r	X^2	GL	Probabilidad
<i>C. plicata</i>	<i>F. oxysporum</i>	0.842	0.1798	2	0.95
<i>P. lentiscus</i>	<i>C. coccodes</i>	0.860	0.0746	2	0.95

Estos datos sugieren que los resultados de los bioensayos dieron buen ajuste y confiabilidad. Los resultados del efecto inhibitorio de los extractos de diferentes partes vegetativas, mostraron que los extractos de hoja de *P. lentiscus* a 15,000 ppm permitieron una inhibición del 100% sobre *C. coccodes*; mientras que con los extractos de flor de *C. plicata*, a igual concentración, sobre *F. oxysporum* alcanzaron 91.10% de inhibición (Cuadro 4).

El estudio de plantas con actividad biocida es complejo, ya que dependiendo de la especie, pueden contener metabolitos secundarios de mayor potencial en hojas, tallos, raíces, flores o frutos (Domínguez, 1973), además, de que en varios estudios ha concluido que desde el punto de vista fitoquímico, las hojas y las raíces contienen alcaloides, flavonoides, saponinas y taninos y que se ha comprobado su actividad antimicrobiana y antifúngica *in vitro* bajo condiciones experimentales (Robineau, 1991; Dumbleton, 1990 y Dixit y Shukla, 1992).

Los análisis probit realizados para estas dos fracciones vegetales muestran que la CI_{50} y CI_{90} de *P. lentiscus* sobre *C. coccodes* fue de 2,135.30 y 16,016.69 ppm; y para *C. plicata* sobre *F. oxysporum* de 3,151.83 y 28,400.01 ppm (Cuadro 5); ambos extractos presentaron rangos de inhibición relativamente diferenciados, ya que el efecto de *C. plicata* sobre *F. oxysporum* en comparación con el mostrado con *P. lentiscus* sobre *C. coccodes* fue ligeramente, más fungistático.

Cuadro 5. Concentraciones inhibitorias (CI_{50} y CI_{90}) y límites fiduciales al 95 % de *C. plicata* y *P. lentiscus* sobre *F. oxysporum* y *C. coccodes*.

Extracto	Límites Fiduciales (ppm)			
	CI50	Inferior	Superior	CI90
<i>C. plicata</i>	3,151.83	2,569.46	3,733.02	28,400.01
<i>P. lentiscus</i>	2,072.55	1,622.02	2,510.14	16,373.91

Los análisis de correlación, mostraron valores estimados de 0.950 para *C. coccodes* y de 0.897 para *F. oxysporum*

(Cuadro 6), demostrando la compatibilidad de la determinación. En general los valores encontrados en los distintos análisis probits indicaron una buena disposición de los puntos obtenidos, que al graficarlos tendieron a una línea recta.

Análisis de fitoquímicos

Los grupos químicos que se encontraron en los análisis de extractos de hoja de *P. lentiscus* y en flor de *C. plicata*, fueron taninos de tipo hidrolizables y condensados (Cuadro 7), los cuales han sido reportados como antagonistas

Cuadro 6. Coeficiente de correlación (r) y chi-cuadrada (X^2) de las líneas de regresión dosis – inhibición de diferentes concentraciones de extractos de *P. Lentiscus* y *C. plicata* sobre *C. coccodes* y *F. oxysporum*.

Extracto	Hongo	r	x^2	GL	Probabilidad
<i>C. plicata</i>	<i>F. oxysporum</i>	0.950	0.021672	2	0.95
<i>P. lentiscus</i>	<i>C. coccodes</i>	0.897	0.034032	2	0.95

Cuadro 7. Análisis de fitoquímicos de muestras secas de *P. Lentiscus* y *C. plicata*.

Determinación	Hoja seca de <i>P. lentiscus</i>	Flor seca de <i>C. plicata</i>
Nitrógeno (%)	2.300	1.800
Fósforo (%)	0.015	0.0076
K (%)	2.639	1.560
Mg (%)	0.770	0.455
Ca (%)	0.423	0.078
Na (%)	0.439	0.114
Fe (ppm)	360	180
Cu (ppm)	18	13
Zn (ppm)	65	77
Mn (ppm)	14	1
Taninos totales (%)	39.01	02.60
Taninos hidrolizables (%)	35.10	01.00
Taninos condensados (%)	22.56	01.44
Galotaninos (%)	82.50	galoil-glucósido 0.815
Elagiotaninos (%)	17.50	catequina 0.96
Contenido de ácido gálico (%)	93.20	0.51
Glucósidos totales (%)	6.8	0.32
Alfa- pineno (%)	14.041	trans-beta-ocimeno 5.94
Beta- pineno (%)	8.353	5-Hidroximetil-Furfura 6.87
Mirceno (%) 5.013		3,5-Dihidroxi-2-metil 11.81
Limoneno (%) 43.123		- 5,6-dihidroxi-4-ona
Trans- beta- ocimeno (%)	5.974	
Beta - cariofileno (%)	11.989	
Germanceno (%)	11.505	

fúngicos (Azaizeh *et al.*, 1990), al igual que varios compuestos fenólicos, siendo estos según Waterman y Mole, (1994), el grupo de metabolitos secundarios más comúnmente estudiados, y de los cuales se sabe confieren cierta resistencia a las enfermedades con efectos fungistáticos (Tomas-Lorente *et al.*, 1989), además, se encontraron elementos minerales de gran importancia como nitrógeno, fósforo, potasio, hierro, magnesio y calcio que ayudan a que la planta produzca compuestos que la hagan más resistente a ataques de enfermedades causadas por hongos y bacterias (Hubert, 1980, Narro, 1995 y Bidwell, 1993). Los extractos de hoja de *P. lentiscus*, presentaron una mayor concentración de dichos grupos químicos en comparación a los extractos de flor de *C. plicata*.

Análisis de suelo

Sin embargo, los análisis de suelo mostraron diferencias significativas entre los tipos de suelo de donde se colectaron ambas muestras vegetales (Cuadro 8), lo cual pudiera tener efecto en la biosíntesis de metabolitos secundarios en las plantas y su acción antagónica sobre microorganismos; su concentración pudiera verse influida por nutrientes del suelo y por efecto del clima del lugar de recolección, (Norton, 1994); tal y como lo constataron los trabajos realizados por Lira-Saldivar *et al.* (2002), en los que demostraron que plantas de gobernadora (*L. tridentata*) colectadas en diferentes ecosistemas poseen distintas propiedades fungicidas. Sin embargo, la acción fungicida de los extractos metanólicos, podría deberse también a la presencia de una gran cantidad de compuestos químicos (Cuadro 7), ya que se sabe que algunos compuestos del tipo fenólicos, taninos, cumarinas, flavonoides y terpenoides tienen cierto efecto fungicida, nematocida, bactericida e insecticida (Valadez *et al.*, 1986; Harborne, 1987 y Farmer y Ryan, 1990), por lo que los resultados obtenidos prueban la hipótesis del empleo de estos materiales con fines agrícolas y de clasificación quimiotaaxonómica de especies de plantas del desierto con propiedades biocidas, tal y como lo proponen Waterman y Gray (1987) y Forsyth (1986).

Cuadro 8. Análisis en suelo de muestras secas de *Pistacia lentiscus* y *Cowania plicata*.

Determinación	Hoja seca de <i>P. lentiscus</i>	Flor seca de <i>C. plicata</i>
Nitrógeno (%)	0.18	0.40
pH	7.40	7.90
Materia Orgánica (%)	0.91	4.40
Textura franco – limosomigajón - limoso		
Limo + Arcilla Total (%)	56.48	72.48
Arena (%)	43.52	27.52
Arcilla Total (%)	3.24	17.24
Limo (%)	53.24	

Conclusiones

Los extractos metanólicos de lentisco (*Pistacia lentiscus*) y alejandría (*Cowania plicata*), muestran actividad biocida contra *Colletotrichum coccodes* y *Fusarium oxysporum* respectivamente. Los extractos metanólicos de hoja de lentisco presentan las mejores concentraciones inhibitorias CI₅₀ y CI₉₀ para los fitopatógenos del estudio. La cantidad de sustancias con propiedades biocidas, varían en las partes más activas de cada planta, ambas plantas mostraron una gran cantidad de compuestos fitoquímicos de interés como: cobre, compuestos fenólicos tales como taninos condensados e hidrolizables, ácido gálico, catequinas y compuestos terpénicos como el pineno, mirceno y germanceno entre otros. La composición química del suelo manifiesta en la una clara variación en la composición química de las plantas.

Literatura Citada

Azaizeh, H.A., R.E. Pettit, B.A. Scarr, T.D. Phillips. 1990. Effect of peanut taninextract on growth of *Aspergillus parasiticus* and aflatoxin production. Mycopathol. 110: 125-132.

Bailey, S.A., M.J. Jeger. 1992. *Colletotrichum* Biology, Pathology and control. C.A.B. International, Redwood Press Ltd, Molksham, U.K. p. 388.

Bidwell, R.G.S. 1993. Fisiología Vegetal, Primera Edición en Español, A.G.T. Editores, México D.F. 272-288 pp.

Black, C.A., D.D. Evans, J.L. White, L.E. Ensminger, F.E. Clark. 1965. Methods of soil and chemical analysis, Agronomy G. Part II, Madison, American Soc. of Agronomy. 1367 p.

Bohz, D.F., M.G. Mellon. 1984. Spectrophotometric determination of Phosphorus as molibdenic acid. Ann. Chem. 20(1); 740.

Booth, C. 1971. The Genus of *Fusarium*. Commonwealth Micological Institute, England. 237 p.

Bravo, L.L., T.K. Bermudez, B.R. Montes. 1998. Inhibición del crecimiento micelial, esporulación de *Fusarium moliliforme* Sheld. Mediante aceites esenciales vegetales y algunos componentes químicos. Rev. Mex. Fitopatol. 16(1); 18-23.

Camacho, C.O. 1991. Programa PC-Probit, versión 1.0, Centro de Estadística y Cálculo, Colegio de Postgraduados, Montecillos, Chapingo, México.

CICLOPAFEST. 1991. Catálogo oficial de plaguicidas 1991, Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas, SARH-SEDUE-SS-SECOFI. 469 pp.

Dewis, J. F. Freitas. 1984. Métodos Físicos y Químicos

- de Análisis de Suelos y Aguas. Boletín sobre suelos y aguas # 10 FAO Roma. 60 – 74 pp.
- DGSV. 1982. Manual de plaguicidas autorizados, SARH, Dirección general de sanidad vegetal P.F. 125 pp.
- Dhingra, O.D., J.B. Sinclair. 1995. Basic plant pathology methods 2° ed. Lewis publishers. Boca raton, London, Tokyo. 272 p.
- Dixit, V., K. Shukla. 1992. Evaluation of essential oil of *ocimum gratissimum* against storage fungi. Ind. Perfumer. 36(4): 277-283.
- Domínguez, X. A. 1973. Métodos de investigación Fitoquímica. Editorial Limusa S.A., Primera Edición, México 1 D.F. 40-68 pp.
- Dumbleton, C. 1990. Medicinal plants in Vietnam. England: WHO, Institute of Medical Materia, Hanoi, Vietnam. 263 p.
- Farmer, E.E., C.A. Ryan. 1990. Interplant communication airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. Acad. Sci. 87: 7713 – 7716.
- Finch, E. 1982. Métodos de investigación fitopatológica. Ed. IICA, San José Costa Rica. 52 – 53 pp.
- Folin, C. Cioecalteau. 1927. Tyrosine and Tryptophan determination in proteins. J. Biochem. 73(1); 627 – 650.
- Forsyth, A.A. 1986. Iniciación a la Toxicología vegetal. Editorial Acribia, Zaragoza, España. 1-230 pp.
- Gamboa-Alvarado, R., F.D. Hernández –Castillo, E. Guerrero-Rodríguez, A. Sánchez-Arizpe. 2002. Inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Jun y *Phytophthora infestans* Mont. (De Bary) con extractos vegetales metanólicos de hojásén (*Flourensia cernua* D.C.), mejorana (*Origanum majorana* L.) y trompetilla (*Bouvardia ternifolia* (Ca.) Schlecth.). Rev. Mex. Fitopatol. 21(1):13-18
- García de Marina B.A. 2008. HPLC Fundamental. Universidad Politécnica de Valencia, Primera Edición, Valencia, España. 378 pp.
- Grande, L.R. 1974. Métodos para el análisis Físico-Químico de suelos agrícolas, Universidad Autónoma de S.L.P. Instituto de Investigación de zonas desérticas. S.L.P., S.L.P. México. 15 – 20 pp.
- González, S.F.A. 1989. Determinación de la persistencia de la actividad bactericida de la resina de *Larrea tridentata* sobre *Pseudomonas solanacearum* in vitro e invernadero, Tesis de Lic. UAAAN Buenavista, Saltillo, Coah. México. 68 p.
- Guerrero-Rodríguez, E., S. Solis-Gaona, F.D. Hernández-Castillo, A. Flores-Olivas, V. Sandoval-López, D. Jasso-Cantú. 2007. Actividad Biológica in vitro de extractos de *Flourensia cernua* D.C. en patógenos de postcosecha: *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl., *Colletotrichum gloesporoides* (Penz.) Penz. Y Sacc. y *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc. Rev. Mex. Fitopatol. 25(1):48-53.
- Hagerman, A.E. 1989. Extraction of tannins from fresh and preserved leaves. J. Chem. Ecol. 14(1); 453 – 462.
- Harborne, J.B. 1987. Natural fungitoxins, Biologically active natural products. Proc. Phytochem. Soc. Europe 27(1): 195 – 211.
- Harris, C.D. 2006. Análisis Químico Cualitativo, Editorial Reverté. Tercera Edición. Barcelona, España. 940 pp.
- Chapman, H.D., Parker, P.F. 2000a. Métodos para el análisis de suelos plantas y aguas, editorial trillas, novena reimpression. México, D.F. 45-46-102-114 pp.
- Hubert, P.M. 1980. The role of mineral nutrition in defence in “plant disease: An advanced treatise”. G. Horsfall and E.B. Couling Eds. Vol. 1(5): 386-406.
- Jackson, M.L. 1976. Análisis Químico se suelos, Tercera Edición, Omega Barcelona, España. 662 pp.
- Jasso de Rodríguez, D., F.D. Hernández – Castillo, R. Rodríguez-García, J.L. Ángulo-Sánchez. 2005. Antifungal activity *in vitro* of *Aloe vera* pulp and liquid fraction against plant pathogenic fungi. Ind. Crop. Prod. 21(1): 81-87.
- Lagunes T.A., J.A. Villanueva 1994. Toxicología y manejo de insecticidas. Colegio de Post-Graduados en Ciencias Agrícolas México, 1-2 p.
- Lira-Saldivar, R.H, R. Gamboa-Alvarado, L.A. Villareal-Cardenas, R.G López- Campos, F. Jiménez-Díaz. 2002. Hidrosoluble extracts of *Larrea tridentata* from two desertic zones in the north of México and their inhibitory effect on *Fusarium oxysporum*. Phytom –Int. J. Exp. Bot. 167-172.
- Lira-Saldivar R.H., M. Hernández-Suárez, F.D. Hernández-Castillo. 2006. Activity of *Larrea tridentata*, Coville L. extracts and chitosan against fungi that effect horticultural crops. Rev. Chapingo Serie Hort. 12(2): 211-216.
- Matsumara, F. 1976. Toxicology of insecticides. Second edition. Plenum press. New York, USA. 503pp.
- Montes-Belmont R., V. Cruz-Cruz, G. Martínez-Martínez, G. Sandoval-García, R. García-Licona, S. Zilch-Domínguez, L. Bravo-Luna, K. Bermúdez-Torres, H.E. Flores-Moctezuma, M. Carvajal-Moreno. 2000. Propiedades antifúngicas en plantas superiores. Análisis retrospectivo de investigaciones. Rev. Mex. Fitopatol. 18(1):125 - 131.
- Montes, B.R., C.V. Cruz, P.M. Domingo. 1990. Control

- de la roya del frijoles mediante extractos vegetales, bajo condiciones de campo en Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca , XVII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, Culiacán , Sinaloa, México. 104 p.
- Montes B.R., M.G. Martínez. 1992. Control de la cenicilla (*Erysiphe cichoracearum*) y del mildew (*Pseudoperonospora cubensis*) de la calabacita mediante extractos vegetales en los valles altos de Oaxaca. Rev. Mex. Fitopatol. 10(1): 186-191.
- Narro, F.E. 1994. Física de suelos con enfoque agrícola. Editorial Trillas S.A. de C.V. México D.F., primera edición. 33-37 pp.
- Narro, F.E. 1995. Nutrición y sustancias húmicas en el cultivo de papa, UAAAN, Memorias del Congreso Nacional de Productores de papa, IICA. 32-33 pp.
- Norton, B.W. 1994. The significance of tannins in tropical animal production, School of land and food. The University of Queensland, Brisbane Qld 4072, Australia, Abstract. 15 p.
- Pratley, J.E., M. An, T. Haig. 1999. Following a specific protocol to establish allelopathy conclusively, an Australian case study. In: Macias, A.F., Galindo, C.G.
- Price, M.L., S. Van Scoyoc, L.G. Butler. 1978. Acritical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in soghum grain. J. Agric. Food Chem. 26 (1); 1214 – 1218.
- Robineau, L. 1991. Hacia una Farmacopea Caribeña, Santo Domingo, Rep. Dominicana; Enda Caribe. 475 p.
- Rodríguez del Angel J.M. 1991. Métodos de investigación pecuaria. Editorial Trillas, primera edición. México D.F. 28-37 pp.
- Sade, K.P.C. 2000. Trouble shooting HPLC Systems a Bench Manual, Primera Edición: John Wiley and Sons, New York, USA. 138 pp.
- Sainz del Rio J.F., S.E. Bornemiza. 1961. Departamento de Energía Nuclear, Centro Tropical de Investigación y Enseñanza, Instituto de Ciencias Agrícolas de la OEA, Turrialba, Costa Rica. 5-94 pp.
- Sarukham, J. 1995. Diversidad Biológica, Universidad de México, 536(1):3 – 10.
- Sharma, S.S., T.K. Bhat, R. Dawra. 2000. A spectrophotometric method for assay of tannins using rhodantina, Analytical Biochem. 279(1):85 – 89.
- Singleton, J. Rossi. 1965 . Determination of Tannins in wines J. Enol. Vític. 6(3): 114.
- Toledo, V.M. 1994. La diversidad biológica de México, nuevos retos para la investigación en los noventas. Ciencias 34(1):43 – 59.
- Tomas-Lorente, F., E. Iniesta-Sanmartín, F.A. Tomás-Borboran, W. Trowitzch-Kienast, V. Wray. 1989. Antifungal Phloroglucinal derivatives and lipophilic flavonoids from *helichrysum decumbens*. Phytochem. 28(1):1613 – 1616.
- Valadez M.E., D.M.L. Ortega, Z.L. Fuciovsky, C.A. Caballo. 1986. Centro de genética, Colegio de Postgraduados, Chapingo, México, pigmentos del frijol con acción bactericida sobre *Pseudomonas syringae* y *Xanthomonas campestris* Soc. Mex. De Fitopatología, XIII Congreso Nacional, VI Reunión anual, Museo regional de Tuxtla Gtz. Chiapas. 55 p.
- Valcárcel C.M., M. Gómez Valcárcel, A. Gómez Henz. 1994. Técnicas analíticas de separación. Editorial Reverté S.A., Primera Edición. 778 pp.
- Waterman, P.G., A.I. Gray, 1987. Chemical Systematics. Nat. Prod. Reports. 4(1); 175-203.
- Waterman, P.G., Simon Mole. 1987. Critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies. Techniques of chemically defining tannins. Oecol. 72 (1):137 – 147.
- Waterman, P.G., Simon Mole. 1994. Methods in Ecology – Análisis of plant phenolic , plant metabolites. 1-74 pp.
- Wilson, T.C., A.E. Hagerman. 1990. Quantitative determination of ellagic acid. J. Agric. Food Chem. 38 (1):1678 – 1683.
-