

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Evaluación *in vitro* de Tres Extractos Vegetales para el Control de *Sclerotinia cepivorum* B. y *Sclerotinia sclerotiorum* B. en ajo *Allium sativum* L.

Por:

JORGE LORENZO MARTÍNEZ MENDOZA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Evaluación *in vitro* de Tres Extractos Vegetales para el Control de *Sclerotinia cepivorum* B. y *Sclerotinia sclerotiorum* B. en ajo *Allium sativum* L.

Por:

JORGE LORENZO MARTÍNEZ MENDOZA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dra. Yisa María Ochoa Fuentes

Asesor Principal



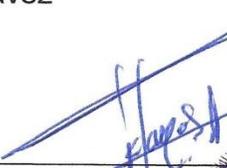
Dr. Ernesto Cerna Chávez

Coasesor



M.C. Juan Carlos Delgado Ortiz

Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de la División de Agronomía
Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre 2015

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por estar conmigo y por darme la oportunidad de vivir cada día como si fuera el último.

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, que me dio la oportunidad y el privilegio de formar una carrera profesional, para el día de mañana ser una mejor persona.

A la **Dra. Yisa María Ochoa Fuentes**, por su amistad desde el primer día en que la conocí, por sus consejos que siempre los tendré presentes, por asesorarme para forjar mis conocimientos con las mejores bases, le estaré agradecido toda la vida. Por todo mil gracias y que Dios la bendiga.

Al **M.c. Juan Carlos Delgado Ortiz**, por su tiempo y paciencia, por los conocimientos brindados en este trabajo y por todo su apoyo.

Al **Dr. Ernesto Cerna Chávez**, que a pesar de un corto tiempo de conocernos vale la pena encontrar en el camino buenos amigos, que continúe siendo una persona de ejemplo a seguir, le deseo lo mejor en la vida, y que Dios lo bendiga, muchas gracias.

Al **Ing. Antonio Orozco Plancarte**, Por todas las enseñanzas y por el apoyo brindado, además de un gran amigo, muchas gracias.

A mis compañeros de la **Generación CXX** por permitirme ser parte de esta mi familia, porque gracias a ustedes viví momentos maravillosos que nunca olvidare.

A la **Rondalla Universitaria**, por todos aquellos momentos de felicidad y de alegría que junto con mis amigos me hicieron pasar y gracias por permitirme ser su director pues nunca te olvidare **RU** por siempre.

DEDICATORIAS

A mis padres.

Lorenzo Martínez Hernández y Petra Mendoza Velázquez.

Gracias por todo su apoyo y sus consejos que fueron los que me ayudaron cada a día a no darme por vencido y por los sacrificios que tuvieron que hacer para que yo terminara y cumpliera con este mi sueño.

Mi sueño de forjarme como profesional, en verdad no me alcanzan las palabras para describirles cuanto los quiero, y de mi parte, nunca los defraudare. Gracias por todo su amor, cariño y comprensión, **LOS AMO.**

A mis hermanos.

(+) Luis Javier Martínez Mendoza.

A ti hermano que desde el cielo, se que estarás muy feliz, pues se que te esperaba un gran futuro pero Dios así lo quiso, “TE QUIERO” y algún día nos volveremos a ver.

Héctor Manuel Martínez Mendoza.

Gracias a ti por permitirme pasar todos aquellos ratos agradables y te diré que nada es imposible y que si lo quieres lo puedes lograr. Te quiero mucho y pase lo que pase “NUNCA TE RINDAS”.

Y Liliana Araceli Martínez Mendoza.

Gracias por todos los buenos momentos juntos y eres una niña muy linda. Te quiero mucho y sé que algún día tú también tendrás un sueño, no lo sé, pero si es lo que en verdad quieres “NUNCA TE DES POR VENCIDA”.

(+) Fernando Martínez Mendoza, A ti te dedico todo mi ser y mis ganas de vivir, porque sé que aunque no estés aquí siempre serás mi hermano y parte de esta familia, a todos ustedes hermanos **los AMO.**

A mi Familia.

Por el cariño y el amor que me demostraron, y el afecto al saber que se preocupan por mí a cada momento, por sus consejos los que me decían “ANIMO SIGUE ADELANTE” y por demostrarme el valor de la vida, **a mis Abuelitos, a mis Tíos, a mis Primos**, Gracias a todos. **Los quiero mucho.**

A mis amigos.

A mis amigos, por su apoyo incondicional, por las sorpresas que vivimos y las metas logradas, gracias amigo (a); **Ángel, Gustavo, Tony, Ernesto, Dani, Alberto, Lalo, Chuy, Isack, Gerardo Temo, Nemo, Chetos**, y no solo a ustedes a más amigos que poco o mucho estuvieron con migo, los quiero mucho.

A Mi Esposa

Lizbeth Reyes Morales.

Por ser mi novia desde hace casi 5 años y por ayudarme a tomar esta decisión de seguir estudiando, por todo tu Amor, Cariño y Comprensión, y por apoyarme siempre, “TE AMO BONITA Y SIEMPRE TE AMARE”, juntos por siempre “USTED Y YO”.

A Mi Bebé.

Mayre Abril Martínez Reyes.

A ti mi amor, por ser tan bonita como tu mamá, y ahora eres una bebe pero el día de mañana serás toda una princesa, cuando leas esto sabrás que siempre te querré sin importar la distancia, sin importar los tiempos y siempre busca tu felicidad mi Amor “CUMPLE TODOS TUS SUEÑOS”.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA	ii
ÍNDICE DE CONTENIDO	iv
ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DEL APENDICE	xi
RESUMEN	xii
INTRODUCCIÓN	1
Justificación.....	2
Objetivos	2
Hipótesis	2
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Origen del Ajo	3
Historia del Ajo	3
Taxonomía del Cultivo.....	4
Importancia Económica del Ajo	4
Propiedades Medicinales del Ajo	5
Composición Química del Ajo	6
Vitaminas y Minerales del Ajo	6
Producción Mundial de Ajo.....	8

Producción Nacional de Ajo	9
Municipios Productores en Zacatecas	10
Plagas Presentes en el Ajo	11
Trips	11
Trips del ajo y cebolla (<i>Thrips tabaci</i> L.).....	12
Trips occidental de las flores (<i>Frankliniella occidentalis</i> P.)	12
Manejo de trips.....	12
Ácaros.....	13
Manejo de ácaros.....	13
Pudrición por nematodos	14
Enfermedades virales del cultivo.....	14
Pudrición del bulbo por <i>Fusarium</i>	15
Tratamiento de la semilla	15
Pudrición Blanca (<i>Sclerotium cepivorum</i> Berk.)	16
Importancia económica y su distribución.....	16
Ubicación taxonómica	16
Características morfológicas.....	17
Síntomas de la enfermedad	18
Descripción de los esclerocios	20
Epidemiología	20
Manejo de la enfermedad.....	20

Control de la enfermedad.....	21
Combate químico	21
Manejo integrado.....	22
Pudrición por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	24
Ubicación taxonómica	24
Importancia de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	24
Distribución geográfica.....	25
Ciclo de la enfermedad	25
Síntomas de la enfermedad	25
Control de la enfermedad.....	26
Alternativas de Manejo.....	26
Estudios de la FAO	27
Antibiosis.....	28
Historia de los aceites esenciales	28
Aceites esenciales.....	29
Importancia de los aceites esenciales	29
Composición química	30
Extracción de los aceites esenciales	30
Propiedades biológicas	31
Actividad antibacteriana	31
Actividad antifúngica	32

Actividad antivírica	32
Actividad insecticida	33
Aceite esencial de clavo.....	33
Composición química	33
Extractos vegetales	34
Extractos y metabolitos secundarios	34
Obtención de extractos vegetales	35
Extracto de cítricos.....	36
Estudios en cítricos	36
Extracto de limón (<i>Citrus limón</i> L.)	37
Estudios en limón	37
MATERIALES Y MÉTODOS	38
Ubicación del experimento	38
Aislamientos de <i>S. cepivorum</i> , y <i>S. sclerotiorum</i>	38
Microorganismos estudiados.....	39
Extractos evaluados.....	39
Bioensayo No. 1. Efecto de los extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de <i>S. cepivorum</i> , y <i>S. sclerotiorum</i>	39
Establecimiento del experimento	39
VARIABLES ESTUDIADAS.....	40
Diseño experimental.....	40

Bioensayo No. 2. Efecto de los extractos vegetales sobre la producción de esclerocios respecto a <i>S.cepivorum</i> y <i>S.sclerotiorum</i>	40
Diseño experimental	41
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
Efecto de los extractos sobre <i>S. cepivorum</i> B.....	42
Efecto de los extractos sobre <i>S, sclerotiorum</i> B.....	44
Extractos de cítricos y limón.....	44
Inhibición de esclerocios	45
CONCLUSIONES	47
BIBLIOGRAFÍA	48

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Principales compuestos y propiedades medicas del ajo	5
Cuadro2. Composición química del ajo.....	6
Cuadro 3. Contenido de vitaminas en 100 gr. de ajo	7
Cuadro 4. Contenido de minerales en 100 gr. de ajo.....	7
Cuadro 5. Principales países productores de ajo en el 2013	8
Cuadro 6. Producción agrícola ciclo otoño-invierno 2014, modalidad riego + temporal de ajo. Fuente SIAP, 2015	9
Cuadro 7. Municipios de Zacatecas productores de ajo	10
Cuadro 8. Productos químicos para el control de trips.....	13
Cuadro 9. Principales polímeros encontrados en diferentes grupos taxonómicos de hongos	18
Cuadro 10. Fungicidas recomendados para el control de <i>Sclerotinia</i> spp.	21

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Ciclo de desarrollo de <i>S. cepivorum</i>	23
Figura 2-Ubicación del experimento (UAAAN, 2015)	38
Figura 3- Curvas de Inhibición de Crecimiento para <i>S. cepivorum</i>	42
Figura 4- Curvas de Inhibición de Crecimiento para <i>S. sclerotiorum</i>	44
Figura 5- Curvas de Inhibición de Esclerocios (<i>S. cepivorum</i>)	45
Figura 6- Curvas de Inhibición de Esclerocios (<i>S. cepivorum</i>)	45

ÍNDICE DEL APENDICE

Cuadro 1A. Porcentaje de inhibición para cada uno de los extractos vegetales con respecto a <i>S. cepivorum</i>	63
Cuadro 1B. Porcentaje de inhibición para cada uno de los extractos vegetales con respecto a <i>S. sclerotium</i>	64
Cuadro 2A. Reducción de esclerocios en % de <i>S. cepivorum</i>	63
Cuadro 2B. Reducción de esclerocios en % de <i>S. sclerotiorum</i> .	64

RESUMEN

La pudrición blanca causada por *Sclerotinia cepivorum* es una de las enfermedades de mayor importancia económica en el mundo con pérdidas reportadas de hasta el 75%. En México el ajo *Allium sativum* L. es considerado como una de las hortalizas más rentables, con un área sembrada de 5,468 ha, Considerándose como uno de los principales productores de ajo en el continente americano. El esfuerzo de los productores por manejar esta problemática los ha conducido a la búsqueda de alternativas de un manejo apropiado. Los extractos vegetales, son productos biorracionales derivados de metabolitos secundarios de algunas plantas, los mismos que han mostrado poseer ciertas propiedades antifúngicas. Por esta razón, el trabajo de investigación fue probar el efecto inhibitorio de tres extractos a base de: cítricos, limón y clavo sobre el crecimiento micelial y el efecto con respecto al número de esclerocios de *S. cepivorum* y *S. sclerotiorum*. En el presente estudio, se planteó determinar el efecto de los extractos vegetales de cítricos y limón más un aceite esencial que en este caso fue de clavo. El crecimiento se tomó cada 24 h con un vernier y el porcentaje de inhibición del crecimiento radial se determinó con la fórmula de Samaniego *et al.*, (1989). A concentraciones de 800 ppm el extracto vegetal de cítricos, logró inhibir el crecimiento micelial en un 49.57 % para el caso de *S. cepivorum*, mientras que para *S. sclerotiorum* el mismo extracto a concentraciones de 100 ppm y 800 ppm lograron inhibir un 49.30 % y 57.04% respectivamente. Por otra parte la formación de los esclerocios se ve reducida en un 72 % a una concentración de 300 ppm para *S. sclerotiorum*, mientras que para *S. cepivorum* reduce un 98.09 %, a causa del aceite esencial de clavo.

Jorge Lorenzo Martínez Mendoza
Kokin-jorge@hotmail.com

Palabras clave: Extractos vegetales, capacidad reproductiva, *Sclerotinia cepivorum*
B. *Sclerotinia sclerotiorum* B.

INTRODUCCIÓN

En México el ajo *Allium sativum* L. es considerado como una de las hortalizas más rentables, con un área sembrada de 5, 438.25 ha, y con una producción nacional reportada para el año 2014 de 54,723.56 ton. Los estados que reúnen el 90% de la producción nacional son Zacatecas, Puebla, Sonora, Guanajuato, Baja California, Aguascalientes, y Nuevo León. Zacatecas en el 2014 contribuyó con una superficie cosechada de 2,071 ha y con una producción de 27,573.50 ton, con un valor de 308,343.17 pesos (SIAP, 2015).

Las plantas de ajo se reproducen asexualmente por lo que su única vía de propagación es mediante bulbillos o dientes, por lo cual son muy susceptible al ataque de plagas y enfermedades que provocan grandes pérdidas en su rendimiento (Vázquez, 2012).

Sclerotinia cepivorum y *Sclerotinia sclerotiorum* que son los principales agentes causales de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, son una limitante de la producción en los cultivos de todo el mundo, con pérdidas de hasta el 75% (Apodaca *et al.*, 2011).

Por otra parte, el esfuerzo de los productores por manejar esta problemática los ha conducido a la búsqueda de alternativas de un manejo apropiado, debido al bajo control que presenta el uso de productos agroquímicos sintéticos, sumando a esto las múltiples aplicaciones de dichos agroquímicos pueden acarrear diferentes problemas, entre los que destacan la toxicidad en humanos, detenciones de exportaciones por residuos en productos, daños al medio ambiente y efectos perjudiciales en organismos benéficos (Aguilar *et al.*, 2014).

Debido a la problemática que presenta el uso indiscriminado de los fungicidas sintéticos, es necesario desarrollar alternativas naturales para el control de enfermedades. Una de estas estrategias es el uso de extractos vegetales y/o aceites esenciales. Además, de que estos poseen un origen biológico, son biodegradables y manifiestan un mínimo impacto sobre la salud humana y el medio ambiente.

Los extractos vegetales, son productos biorracionales derivados de metabolitos secundarios de las mismas plantas, los mismos que han mostrado un efecto antimicrobiano y poseer ciertas propiedades anti fúngicas (Magallanes *et al.*, 2003; Rojas-Fernández *et al.*, 2008).

Por estas razones, el trabajo de investigación fue probar el efecto de tres extractos a base de cítricos, limón y un aceite esencial de clavo, sobre la inhibición del crecimiento micelial de *S. cepivorum* y *S. sclerotiorum*. De tal manera, que en el presente trabajo se consideraron aspectos para buscar una alternativa de manejo utilizando insumos de menor impacto ambiental en este caso (extractos vegetales), pero con una alta efectividad, para así poder integrarla a las prácticas del manejo integrado.

Justificación

La evaluación de tres extractos de plantas en el control de *S. cepivorum* B. y *S. sclerotiorum* B. en ajo *Allium sativum* L. aportará información para el control de las principales problemáticas que aquejan al cultivo.

Objetivo

El presente trabajo tiene como objetivo la evaluación *in vitro* de tres extractos vegetales para el control de *Sclerotinia cepivorum* B y *Sclerotinia sclerotiorum* B. sobre la inhibición del crecimiento micelial y la producción de esclerocios en ajo.

Hipótesis

Por lo menos dos de los extractos vegetales a evaluar, mostrarán inhibición del crecimiento micelial con respecto a los principales hongos *Sclerotinia cepivorum*, y *Sclerotinia sclerotiorum*.

Al menos dos de los extractos resultaran ser efectivos en la inhibición de los esclerocios, para el caso de *S. cepivorum* y *S. sclerotiorum*.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen del Ajo

El ajo *Allium sativum* L., al igual que la cebolla *Allium cepa* L., es una planta que tuvo su origen en Asia central, en la desértica región de Kirgiz, incluyendo el noreste de la India y a formado parte de la historia del hombre desde épocas muy remotas (Vavilov, 1951; citado por Valadez, 1998). El antecesor directo del ajo fue *Allium longicuspis* Regel, que es una especie endémica, sus propiedades terapéuticas y sus usos se conocen desde hace más de 3000 años, aunque algunos autores remiten su uso desde 4000 años antes de Cristo (García, 1998; Heredia y Delgadillo, 2000).

El ajo fue introducido a lo que sería América Latina en los últimos años del siglo XIV, durante el segundo viaje de Cristóbal Colón (Reveles y Rubio, 2006).

Historia del Ajo

El ajo se conoce desde épocas muy remotas, y su consumo ha sido citado en textos de la época de los egipcios y la de los romanos, asociándolo como un alimento que daba mayor fuerza y vigor para la realización de trabajos físicos, los Romanos fueron los primeros en usar al ajo como condimento (Díaz, 1975).

Su introducción a América se remonta a la época de la conquista española, quienes lo introdujeron a Cuba y de ahí al resto de las colonias. En México se reportan superficies sembradas de esta hortaliza a principios del Siglo XX en la región del Bajío, adquiriendo mayor importancia económica hasta mediados del siglo, en donde se tienen registradas las primeras exportaciones de ajo, como resultado de la ventaja comparativa que implica su posibilidad de cosecha en la que se registra regularmente una oferta mundial baja (Espinosa *et al.*, 2003; Macías *et al.*, 2010).

Taxonomía del Cultivo

Marzocca (1985), describe al ajo dentro de la siguiente clasificación.

Reino: Plantae

División: Embryophyta

Subdivisión: Angiospermae

Clase: Monocotyledonea

Orden: Liliales

Familia: Liliaceae

Subfamilia: Alloideae

Género: *Allium*

Especie: *A. sativum* L.

Importancia Económica del Ajo

La producción mundial de ajo y el comercio internacional han venido experimentando un sostenido aumento, como consecuencia del cambio de los hábitos de consumo hacia una alimentación más saludable y del reconocimiento de sus propiedades terapéuticas (Burba, 2006; Chávez *et al.*, 2008).

El cultivo de ajo es de gran importancia socioeconómica para el estado de Zacatecas ya que se desarrolla en el campo durante otoño-invierno cuando existen pocas alternativas para el empleo en el medio rural pero las actividades de limpieza, selección y empaquetado continúan durante el resto del año. La importancia socioeconómica de ésta hortaliza en Zacatecas se ve reflejada en el hecho de generar alrededor de 412,300 jornales por ciclo de cultivo (Mena, 2006; Reveles y Rubio, 2006 y Velázquez *et al.*, 2010).

Propiedades Medicinales del Ajo

Roy and Lundy (2005), reportan la existencia de más de 3000 publicaciones alrededor del mundo en las que se confirman los reconocidos beneficios del ajo en la salud, al usarse en diversos modos y preparaciones. También se ha utilizado el ajo en la medicina veterinaria en cicatrización de heridas de animales (Cocco *et al.*, 2005).

Los usos del ajo tienen una gran variación, desde los relacionados con la medicina, hasta los curativos mencionados desde tiempos ancestrales con un sinnúmero de enfermedades en las que se ha probado y comprobado su eficiencia desde el punto de vista empírico y científico, de manera que se reporta como un antiséptico, como estimulante, en el tratamiento de la presión arterial y otras enfermedades cardiovasculares, ha sido usado como antibiótico, antioxidante, reductor del colesterol y triglicéridos, en la prevención del cáncer de estomago y colon, también se le atribuyen propiedades preventivas en el caso de enfermedades coronarias , anticoagulante, y con éxito en infecciones de la piel, se ha usado en el tratamiento de alergias, bronquitis, diabetes mellitus, así mismo es usado para muelas picadas, tuberculosis, bronquitis, tos, asma, y difteria llegándosele a considerar un elemento “curalotodo” (Hernández, 2009).

Cuadro 1.Principales compuestos y propiedades médicas del ajo

Compuesto Azufrado	Propiedades
Aliína Ajoeno Alicina y tiosulfatos	Disminuye la tensión arterial Disminuye los niveles de azúcar en sangre Previene la formación de coágulos y ayuda a disolverlos Propiedades antibióticas, antivirales y antifúngicas

S-alil mercaptocisteína (SAMC) (sólo presente en el ajo añejado no en elcrudo)	Ayuda a reducir los niveles de colesterol Previene la arterosclerosis Antitumoral Antidiabética Protectora hepática Estimuladora del crecimiento de bifidobacterias
Sulfuro de dialilo y afines	Ayuda a reducir los niveles de colesterol. Protege frente a tratamientos de quimioterapia.
S-alil cisteína (SAC)	Ayuda a desintoxicar el hígado Protectora frente a agentes oxidantes

Fuente; Hernández 2009

Composición Química del Ajo.

Al revisar la composición química del ajo fresco en 100 gr de porción comestible se puede notar que contiene una gran cantidad de agua (cerca del 60%), por lo que la cantidad de materia seca variará entre el 30 y 40% del ajo fresco; con un contenido alto de carbohidratos que varía de 23 a 33%, y su contenido de proteína de 5.3 a 6.6% (Cuadro 2).

Cuadro 2. Composición química del ajo

COMPONENTE	Maynard and Hochmuth (2007)	Nutritiondata (2009)	Rico (2007)	CONAJO (2009)
AGUA (%)	59	58.6	-	61
ENERGIA (Kcal)	149	151.9	-	98-139
PROTEINA (g)	6.4	6.61	5.3	4 - 6.4
GRASA (g)	0.5	0.51	0.3	0.5
CARBOHIDRATOS (g)	33.1	33	23	-
FIBRA (g)	2.1	2.2	1.1	-

Fuente; CONAJO 2009

Vitaminas y Minerales del Ajo.

El ajo es una fuente importante de vitaminas y minerales para la nutrición y salud humana, ya que hace importantes aportaciones de estos compuestos como lo demuestran los análisis realizados por diferentes autores al revisar el contenido de

vitaminas en 100 gramos de ajo fresco de acuerdo con diferentes fuentes publicadas (Cuadros 3 y 4).

Cuadro 3. Contenido de vitaminas en 100 gr de ajo

COMPONENTE	Nutritionada (2009)	Maynard and Hochmuth (2007)	CONAJO (2009)
VITAMINA B1			0.2 mg
VITAMINA B2			.11 mg
VITAMINA B6	1.25 mg	1.20 mg	
VITAMINA C	30.88 mg	31.20 mg	9-18 mg
VITAMINA E	0.07 mg		
VITAMINA K	1.69 mg		
TIAMINA	0.22 mg	.20 mg	
RIBOFLAVINA	0.07 mg	.11 mg	
NIACINA	0.73 mg	0.7 mg	0.7 mg
FOLATO	3.01 mg		
ACIDO PANTOTENICO	0.58 mg		
COLINA	23.23 mg		

Fuente; CONAJO 2009

Cuadro 4. Contenido de minerales en 100 gramos de ajo

MINERAL	Nutritiondata (2009)	Senser And Scherz(199)	CONAJO (2009)
CALCIO	180.88 mg	40 mg	10-24 mg
FIERRO	1.69 mg	1400 mg	1.7 - 2.3 mg
MAGNECIO	25 mg	35 mg	
FOSFORO	152.94 mg	135 mg	40 - 195 mg
POTACIO	400.73 mg	530 mg	540 mg
SODIO	16.98 mg	19 mg	
ZINC	1.17 mg	1 mg	
COBRE	0.29 mg	260 mcg	
MANGANESO	1.69 mg	460 mcg	
SELENIO	14.19 mcg	20 mcg	

Fuente; CONAJO 2009

Producción Mundial de Ajo

Los principales países productores de ajo en el año 2012 fueron: China, India, Bangladés y Myanmar con una producción 20.082.000, 1.150.000, 233.609 y 213.000 ton. Respectivamente (FAOSTAT, 2013).

En el cuadro 5, se pueden observar los principales países productores de ajo, de acuerdo a las estadísticas de la FAO. China ha logrado una participación de 81% de la producción con sólo 58% de la superficie cosechada, lo que indica el buen desarrollo que ha alcanzado este cultivo en ese país.

Cuadro 5. Principales países productores de ajo en el año 2013

POSICIÓN	PAÍS	AREA COSECHADA	PRODUCCIÓN
1	China	856,500	20,082,000
2	India	202,000	1,150,000
3	Bangladés	44,284	233,609
4	Myanmar	29,300	213,000
5	Corea del sur	28,278	339,113
6	Rusia	27,700	239,312
7	Ucrania	22,500	171,400
8	Etiopía	21,258	222,548
9	España	16,900	151,900
10	Argentina	16,000	135,000
11	Otros países	201,053	1,898,995
	Total	1,465,773	24,836,877

Fuente; FAOSTAT 2013

Producción Nacional de Ajo

La principal área productora de ajo en México se localiza en la parte centro norte del país en la que destacan los estados de Zacatecas, Puebla, Sonora y Guanajuato como se puede observar en el cuadro , siendo el estado de Zacatecas el principal estado productor de ajo de México, con una superficie de 2, 071.00 ha. y una producción de 27,573.50 ton en el año 2014 (SIAP, 2015).

Cuadro 6. Producción agrícola ciclo otoño-invierno 2014, modalidad riego + temporal de ajo

Ubicación	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	PMR (\$/Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
Zacatecas	2,071.00	2,071.00	27,573.50	13.31	11,182.59	308,343.17
Puebla	706	706	4,722.94	6.69	12,072.62	57,018.28
Sonora	566	566	3,707.92	6.55	16,438.62	60,953.08
Guanajuato	461	461	4,827.20	10.47	15,935.03	76,921.58
Baja California	379	379	3,616.48	9.54	18,791.64	67,959.61
Aguascalientes	213	213	2,859.80	13.43	11,791.60	33,721.60
Nuevo León	207	207	1,389.75	6.71	9,350.06	12,994.25
Oaxaca	189	189	1,150.12	6.08	19,248.75	22,138.37
Guerrero	128	128	639.9	5	14,873.89	9,517.80
Querétaro	125	125	990.93	7.93	20,691.18	20,503.51
San Luis Potosí	84	81	589	7.27	14,030.09	8,263.72
Hidalgo	59	59	417.7	7.08	10,636.96	4,443.06
Tlaxcala	51	51	238	4.67	14,386.55	3,424.00
Veracruz	45	45	405	9	18,278.89	7,402.95

Chihuahua	43.75	43.75	294.25	6.73	19,195.41	5,648.25
Michoacán	40	40	332	8.3	22,149.10	7,353.50
Baja California Sur	39.5	34.5	467	13.54	20,631.69	9,635.00
Coahuila	31	31	502.07	16.2	18,414.83	9,245.54
Total	5,438.25	5,430.25	54,723.56	10.08	13,257.31	725,487.27

Fuente; SIAP 2015

Municipios Productores en Zacatecas.

Los principales municipios dentro del estado de Zacatecas son Calera con una superficie de 400 ha y una producción de 5,700.00 ton, le siguen Villa de Cos y Guadalupe, alcanzando rendimientos de 13 y 13.5 ton/ha (SIAP, 2015).

Cuadro 7. Municipios de Zacatecas productores de ajo

Ubicación	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	PMR (\$/Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
Calera	400	400	5,720.00	14.3	11,532.50	65,965.90
Villa de Cos	353	353	4,589.00	13	13,305.94	61,060.96
Guadalupe	346	346	4,671.00	13.5	11,588.44	54,129.60
Fresnillo	270	270	4,613.00	17.08	8,358.99	38,560.00
Pánuco	154	154	2,156.00	14	13,831.17	29,820.00
Noria de Ángeles	120	120	960	8	7,500.00	7,200.00
Loreto	85	85	722.5	8.5	10,000.00	7,225.00
General Enrique Estrada	59	59	826	14	13,043.58	10,774.00
Luis Moya	55	55	440	8	10,000.00	4,400.00
Trancoso	55	55	803	14.6	11,481.82	9,219.90
Ojocaliente	45	45	405	9	9,000.00	3,645.00
Jerez	30	30	453	15.1	9,500.00	4,303.50
Vetagrande	24	24	324	13.5	11,375.00	3,685.50

Villa González Ortega	20	20	220	11	11,762.50	2,587.75
Villanueva	20	20	324	16.2	7,500.00	2,430.00
Cuauhtémoc	15	15	123	8.2	11,000.00	1,353.00
Morelos	10	10	132	13.2	11,526.93	1,521.55
Villa Hidalgo	8	8	80	10	3,668.75	293.5
Sain Alto	2	2	12	6	14,000.00	168
Total	2,071.00	2,071.00	1	96,559.93	199,975.62	308,343.16

Fuente; SIAP 2015

Plagas Presentes en el Ajo

La presencia de hongos, bacterias, virus y nematodos en los sistemas de producción a nivel mundial son la principal causa de problemas y enfermedades, que dependiendo del grado de severidad con la que se presente, tienen un amplio impacto en pérdidas económicas (Izquierdo, 2006). Aunque se conocen la presencia de enfermedades foliares como la denominada mancha púrpura y virosis, mientras que las enfermedades causadas por patógenos que viven en el suelo son las más importantes en México, están representadas por enfermedades del bulbo y la raíz como las causadas por *Sclerotium cepivorum* Berk, y *Fusarium oxysporum* (Mendoza, 1999; Arévalo *et al.*, 2002; Velásquez y Medina, 2004).

En México, en las regiones de Zacatecas, Puebla y Sonora (con mayor potencial productivo de ajo), los principales problemas con plagas en el cultivo son: trips *Thrips tabaci*, *Frankliniella occidentalis*, ácaros *Rhizoglyphu ssp.* y el nematodo *Ditylenchus dipsaci*, pero deben atenderse oportunamente para evitar reducciones en la calidad y cantidad al momento de la cosecha. (Mendoza, 1999 y Arévalo *et al.*, 2002).

Trips

Los trips son insectos tan pequeños que son mejor vistos con una lupa, en las principales zonas productoras de ajo en Zacatecas se han encontrado al trips de la

cebolla *Thrips tabaci* L. y al trips occidental de las flores *Frankliniella occidentalis* (Heredia y Delgadillo, 2000; Mena, 2006)

Trips del ajo y cebolla (*Thrips tabaci* Lindeman)

Esta plaga completa su ciclo biológico en 16 días si la temperatura media es de 25 °C y en 11 días si es de 30 °C, por lo que se pueden presentar varias generaciones de esta plaga durante el ciclo de cultivo del ajo. Los trips que infesta una planta se puede localizar en el cogollo de la planta, por lo que es difícil su combate por medios químicos (Mena, 2006; Orloff *et al.*, 2008).

Trips occidental de las flores (*Frankliniella occidentalis* Pergande)

Estos insectos en su estado adulto son alados y miden alrededor de 1 mm, de color amarillo a ligeramente café, presentan setas prominentes en la parte anterior del pronoto y entre los ocelos que manifiestan una pigmentación roja; sus antenas muestran ocho segmentos (Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, 1998; Mena, 2006; Orloff *et al.*, 2008).

Los daños causados por esta plaga se acentúan en condiciones de sequía y cuando las plantas son más jóvenes; las heridas ocasionadas por la plaga pueden servir como puntos de entrada para patógenos que causan enfermedades foliares (Mena, 2006; Orloff *et al.*, 2008).

Manejo de trips

Mena(2006), señala que el manejo de esta plaga es complicado pero en ajo se ha encontrado que mantener niveles adecuados de humedad en el suelo, así como concentraciones apropiadas de calcio pueden ayudar a reducir el daño de trips, o bien evitando la sequia en el suelo se puede evitar el incremento de las poblaciones de esta plaga. Por otra parte se puede hacer uso de los siguientes productos químicos que se enlistan en el siguiente recuadro.

Cuadro 8. Productos químicos para el control de trips

Cultivo	ingrediente activo	dosis	intervalo de seguridad
Ajo	Malatión	0.75 - 1.0 lt/ha	3
	Paratión metílico	1 lt/ha	15
	Gamma cyalotrina	250 ml/ha	14

Fuente; DEAQ 2007

Ácaros

Existe un complejo de especies de ácaros afectando al follaje y al bulbo del ajo bajo condiciones de campo y bodega entre las que se mencionan los géneros *Rhizoglyphus spp*, *Tyrophagus spp* y *Eriophyes tulipae* Keifer. Los ácaros de esta especie tienen el cuerpo robusto, lustroso, de color blanquecino, miden de 0.5 a 0.9 mm de largo, tienen cuatro pares de patas esclerotizadas y fuertes que le permiten movilidad en el suelo. Estos ácaros dañan los bulbos al penetrar su capa exterior y permitir la entrada de organismos que descomponen ese tejido. Esta plaga es más nociva cuando el desarrollo del cultivo es retardado por clima frío y húmedo; la infestación de ácaros reduce la población de plantas, provocan enanismo y promueve el desarrollo de pudriciones en el almacén (Orloff *et al.*, 2008).

Por otra parte, los bulbos o dientes infestados con el ácaro se vuelven flácidos y difícilmente emiten la punta de crecimiento vegetativo que daría origen a una nueva planta de ajo (Estrada – Venegas y Equihua – Martínez, 2006).

Manejo de ácaros

El combate de esta plaga puede llevarse a cabo previo a la siembra empleando los productos Basudín 25E (3.3 ml / l de agua), Karathane (0.3 ml / l de agua), Kelthane MF (2 ml / l de agua) o Malation (3.3 ml / l de agua).

Bajo condiciones de almacenamiento los bulbos pueden ser tratados con fosforo de aluminio (0.5 a 1.5 tabletas por metro cúbico durante 3 – 5 días a temperatura de 20 – 25 °C). La desinfección de bodegas y almacenes de ajo- semilla se puede

realizar con Malatión 5% (Burba, 1992; Estrada – Venegas y Equihua – Martínez, 2006).

La fumigación del suelo con Metam Sodio en presiembra en dosis de 450 a 750 l / ha ofrece un buen control de los ácaros que sobreviven en la materia orgánica y se obtendrán mejores resultados si el fumigante logra penetrar en los primeros 15 cm del suelo; sin embargo la fumigación con este producto debe usarse como último recurso cuando todas las estrategias han fallado o no se pueden aplicar (Bujanos y Marín, 2000; Orloff *et al.*, 2008).

Pudrición por nematodos

El nematodo del tallo *Ditylenchus dipsaci* Kuhn, se encuentra distribuido en todo el mundo y es el causante de la pudrición de bulbos en ajo y que a su vez también puede ocasionar grandes daños a la cebolla. Las hojas de las plantas afectadas toman un color amarillento que al avanzar el ataque toma una coloración café; el tallo se engrosa, las raíces se destruyen y el bulbo se deforma. Esta pudrición va acompañada de un aroma desagradable originado en la pudrición bacteriana que suele acompañar al ataque de nematodos. Las medidas de control para *Ditylenchus dipsaci*, serían el uso de variedades resistentes, rotación de cultivos y la aplicación de nematicidas como; Nematicur, Furadan, Ditera (Thorne, 1968; González, 1979; Pérez *et al.*, 2002).

Enfermedades virales del cultivo

En Zacatecas, México se han identificado cinco virus afectando plantas de diferentes variedades de ajo en parcelas comerciales y experimentales; *Garlic common latent* (virus latente común de ajo, Gar CLV), *Leek yellow stripe virus* (virus del rayado amarillo del puerro, LYSV), *Shallot latent virus* (virus latente del Shallot, SLV) y *Tobacco etch virus* (virus del jaspeado del tabaco, TEV). La mayor parte de los virus reportados en ajo son transmitidos mecánicamente o por pulgones. Los síntomas más comunes incluyen la aparición de franjas amarillas en las hojas o deformaciones de las mismas, enanismo, enrollamiento, etc. (Velásquez *et al.*, 2010).

Pudrición del bulbo por *Fusarium*

Los hongos del género *Fusarium* son ascomicetos filamentosos y cosmopolitas, tienen un micelio bien desarrollado, septado y conidióforos característicos, aunque algunas especies tienen un talo unicelular. Son considerados principalmente como hongos de campo (Sumalan *et al.*, 2013), ya que causan un sinnúmero de enfermedades en varios o la mayoría de los cultivos.

El hongo puede causar la pudrición de la semilla aunque en plantas adultas los primeros síntomas pueden observarse como deformaciones, amarillamiento y necrosis de las hojas (Velásquez, 2004; Amador, 2009). Este patógeno ya ha sido reportado afectando a plantas de ajo en México con anterioridad en los estados de Guanajuato, Zacatecas y Aguascalientes.

Además se ha observado que los bulbos de las plantas afectadas no alcanzan a diferenciar completamente sus “dientes” aun cuando los bulbos alcanzan un tamaño normal. Al ser presionados con la mano, los bulbos afectados tienen una consistencia esponjosa, por lo que se les conoce como “ajos de hule”. En Aguascalientes, este síntoma se ha observado con mayor frecuencia hacia la época de cosecha (Velásquez y Medina, 2004).

Tratamiento de la semilla

El objetivo de esta práctica es evitar la diseminación de nematodos, bacterias y hongos que producen algunas enfermedades que se transmiten por la semilla, como la pudrición blanca, nematodos y otras enfermedades. Se recomienda enviar una muestra de semilla al laboratorio de Fitopatología para determinar si se encuentra contaminada y, de ser posible, el grado de la contaminación para decidir su destino y manejo (Velásquez y Medina, 2007).

Pudrición Blanca (*Sclerotinia cepivorum* Berk.)

Importancia económica y su distribución

La pudrición blanca es causada por el hongo *Sclerotinia cepivorum* Berk, es una de las enfermedades más importantes destructivas de las plantas del género *Allium*, ya que ocasiona pérdidas tanto en la calidad como en el rendimiento de estos cultivos lo que son Ajo y Cebolla. Es una enfermedad monocíclica y el patrón de diseminación es típicamente agregado (Hartman y Datnoff 1997).

Esta enfermedad se reportó por primera vez en la Cebolla, en el reino unido en 1841 y existen reportes en Italia afectando principalmente al cultivo de Ajo en 1990, causando grandes pérdidas en ambos cultivos y en muchas regiones de Europa, Asia, África, América del Norte, América Central, América del Sur, Australia y Nueva Zelanda (Agrios, 2005).

Recientemente, Couch y Kohn (2000) encontraron, mediante estudios de filogenia, que el centro de origen para la diseminación de este hongo en áreas productoras de ajo y cebolla fue Europa.

Ubicación taxonómica

De acuerdo con Berk (1972) esta es la clasificación taxonómica vigente para *S. cepivorum*.

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Ascomycetes

Orden: Helioteliales

Familia: Sclerotiniaceae

Género: *Sclerotinia*

Especie: *S. cepivorum* (Berk)

Tal como lo mencionan Couch y Kohn (2000), *S. cepivorum* no tiene un teleomorfo conocido, y aunque actualmente sólo se conoce su reproducción asexual, en algún tiempo durante su evolución pudo haber presentado un ciclo sexual, además estudios de DNA sugieren que está relacionado con *Sclerotinia sclerotiorum* (Ascomicete), correspondiendo a un miembro asexual de la Familia *Sclerotiniaceae*.

Características morfológicas

S. cepivorum sobrevive en el suelo en forma de esclerocios en estado latente, los cuales pueden permanecer viables en ausencia de plantas hospedantes hasta por 20 años. La germinación de estas estructuras de resistencia es estimulada por compuestos de azufre (sulfóxidos de alqueno y alquilo) presentes en los exudados radiculares de especies de *Allium* (Coley- Smith *et al.*, 1987).

El hongo emite micelio abundante de color blanco, veloso y ramificado; además de esclerocios, en ocasiones produce también conidios en esporodocios, pero no forman esporas funcionales conocidas, aunque presenta pequeños espermacios semejantes a phialosporas que han sido producidos en agar-agua, se considera que estas estructuras se forman durante condiciones ambientales especiales en laboratorio o son extremadamente raras en la naturaleza y por lo tanto son de poco valor en el diagnóstico del hongo (Agrios, 2006). Las estructuras reproductivas, los esclerocios, son uniformemente rodeados y miden de 0.25 a 0.6 mm de diámetro, aunque se han señalado esclerocios de más grandes y de forma irregular.

Muchos de los hongos contienen quitina en su pared celular, en un rango que va del 22% al 40% (Muzzarelli, 1977 citado por Gohel *et al.*, 2006), esta característica es importante como criterio para su clasificación taxonómica al igual que la presencia de otros polisacáridos.

La pared celular de los hongos filamentosos está compuesta principalmente por los diferentes polisacáridos de acuerdo a su grupo taxonómico (quitina, glucano,

proteínas, manosa, quitosan, ácido galacturónico o celulosa), juntos o en pequeñas cantidades de proteínas y flicoproteínas (Kavanagh, 2005).

Cuadro 9. Principales polímeros encontrados en diferentes grupos taxonómicos de hongos

Grupo taxonómico	Polímero fribilar	Polímero matriz
Oomycetos	β -(1,3), β (1,6)- glucano celulosa	Glucano
Chytridomicetos	Quitina, glucano	Glucano
Zygomycetos	Quitina, quitosano	Ácido poligalacturónico, glucoromanoproteínas
Basidiomicetos	Quitina β (1,3) - β (1,6) glucano	α -(1,3)- glucano xylomanoproteínas
Ascomycetos/Deuteromicetos	Quitina β (1,3) - β (1,6) glucano	α -(1,3)- glucano; glucoromanoproteínas

Fuente; Kavanagh 2005

Síntomas de la enfermedad

La pudrición blanca puede aparecer desde el estado de plántula cuando éstas nacen de semilla infectada (dientes de ajo). Los síntomas que se observan en esta etapa son clorosis y marchitez, las plántulas tienden en el suelo, al extraerlas el tejido ha sido invadido por una pudrición húmeda (Valle, 1989, citado por Velásquez, 2009).

De acuerdo a Pérez *et al.* (2005), el hongo *S. cepivorum*, aumenta su actividad conforme las raíces de las plantas de ajo se desarrollan; sin embargo los síntomas en el follaje no se manifiestan hasta que el hongo invade el bulbo de la planta. Las enfermas tienden a amarillarse en pocos días empezando por las hojas basales o más viejas y posteriormente las superiores o más jóvenes se marchitan y secan totalmente.

Los esclerocios de *S. cepivorum* producen micelio en respuesta a los exudados radicales de la raíz de las plantas del género *Allium*; después de la penetración de

la epidermis de la raíz *S. cepivorum* invade inter e intracelularmente el parénquima cortical causando la degradación extensiva del tejido (Metcalf y Wilson, 2001). *S. cepivorum* produce la fitotoxina ácido oxálico e isoenzimas degradadoras de pectinas de poligalacturonasas (PG) y pectinesterasas (PE), con las cuales se expanden algunos milímetros más allá de la infección, mismos que se asocian con la desintegración extensiva de tejidos corticales. La epidermis adyacente y el tejido estelar permanece intacto (Metcalf y Wilson, 2001). La zona de las células muertas y debilitadas en la vía de infección de hifas es protegida del suelo por la epidermis intacta, la cual provee a las hifas de un claro y seguro camino para infectar la base del bulbo.

La distribución de los esclerocios en suelos infestados por primera vez es aleatoria, se requieren de varios ciclos de siembras continuas con cultivos del género *Allium* para que los esclerocios se dispersen de manera uniforme en todo el suelo. La actividad del patógeno se incrementa a medida que el sistema radical se desarrolla; cuando esto ocurre y además cuando hay suministro adecuado de agua en el follaje, los síntomas foliares pueden no ser evidentes aunque el patógeno se encuentre activo (Entwistle, 2000).

El primer síntoma coincide con el período de bulbificación y se presenta como un amarillamiento general, después de que el patógeno crece sobre el cuello del tallo o el bulbo, se hacen evidentes los síntomas de amarillamiento prematuro y muerte de las hojas viejas, además de la detención del crecimiento, seguido por la muerte de las hojas; las plantas pueden morir en grupos de 2 a 40, muriendo primero las plantas del centro. Un signo temprano de la enfermedad es la aparición de abundante micelio en el cuello del tallo, blanco, lanoso y superficial, extendiéndose alrededor de la base del bulbo; en los tejidos infectados se forman masas abundantes de esclerocios negros y esféricos sobre la superficie o dentro de los tejidos enfermos. En este grado de desarrollo de la enfermedad las plantas afectadas son fácilmente arrancadas del suelo (Agrios, 2006).

Descripción de los esclerocios.

Los esclerocios son masas compactas de hifas que pueden o no contener tejido del hospedante, por lo común con una cubierta oscura y capaz de sobrevivir bajo condiciones desfavorables (Agrios 2005). *S. cepivorum* forma en su mayoría, esclerocios de forma esférica uniforme, de cubierta negra y lisa que consiste de 2 a 5 células que rodean una masa compacta y gruesa de micelio refractivo, por lo general tienen un tamaño de 0,3 a 0,6 mm de diámetro; aunque algunas veces se han reportado esclerocios de forma irregular y tamaños que van desde los 5mm hasta los 25 mm (Crowe y Hall 1980, Crowe 1995). Ambos tipos de esclerocios pueden formar esclerocios secundarios, dentro o adyacentes a los esclerocios originales, que influyen fuertemente en su sobrevivencia (Coley Smith *et al.*, 1990).

Epidemiología

La pudrición blanca es una enfermedad monocíclica y el patrón de diseminación es típicamente agregado (Hartman y Datnoff 1997).

Los esclerocios representan el inoculo primario, la diseminación a largas distancias se da por bulbos o almácigos contaminados; y a escala local los esclerocios son diseminados por vientos fuertes, inundaciones e irrigación, además del movimiento de materiales y equipo agrícola, así como de animales y trabajadores, lo que podría resultar en una distribución generalizada en todo el terreno (Crowe 1995).

Manejo de la enfermedad

S. cepivorum es de difícil manejo por su alta capacidad de reproducción, elevada densidad de inoculo en suelos infestados y gran longevidad de los esclerocios ya que pueden permanecer viables en el suelo hasta por 20 años en ausencia del tejido del hospedante (Coley-Smith *et al.*, 1990). Y solo es necesario un esclerocio por kg de suelo para una incidencia de 50% de la enfermedad (Crowe *et al.*, 1980).

Control de la enfermedad

Los primeros intentos para el combate de la pudrición blanca datan aproximadamente del año 1920, en primera instancia se probó con prácticas de combate cultural como rotación de cultivos y exclusión de material contaminado; pero conforme la infestación se hizo más intensa y ampliamente distribuida, estas medidas fueron cada vez menos eficaces, por lo que se inició con el uso de fungicidas químicos (Locke, 1968).

Hasta la fecha el control de *S. cepivorum* ha sido difícil, los intentos de combate empleando métodos químicos no han resultado del todo satisfactorios, por otra parte tienen un elevado costo económico y ecológico, sin mencionar aun el daño a los mismos productores. (Pérez *et al.*, 2000).

Combate químico

Es el principal método aplicado para el control de *Sclerotinia* spp. Existe gran variedad de sustancias químicas que han sido desarrollados. Entre ellos, el dicloran, la ipridona y el vinclozolin han sido reportados eficaces en la reducción de la incidencia de la enfermedad cuando se aplican inmediatamente después del arado y el transplante (Matheron y Porchas, 2004).

Cuadro 10. Fungicidas recomendados para el control de *Sclerotinia* spp

Ingrediente Activo	Grupo Químico	Modo de Acción
Benomil	Benzimidazoles	Mitosis: ensamble de la b-tubulina
Ipridona Vinclozolin Procimidona	Dicarboxamidas	NADH citocromo C reductasa en la peroxidación de lipidos
Tebuconazole	Triazoles	Demetilación del C14 en la biosíntesis del esteroil
Boscalid	Carboximidas	Complejo II en la respiración del hongo (succinato-deshidrogenasa)
Fluazinam	2,6-dinitroanilinas	Desacoplador de la

		fosforilación oxidativa
Fenhexamida	Hidroxianilinas	3-keto reductasa durante la demetilación del C4 en la biosíntesis del esterol

Fuente; FRAC 2006

Manejo integrado.

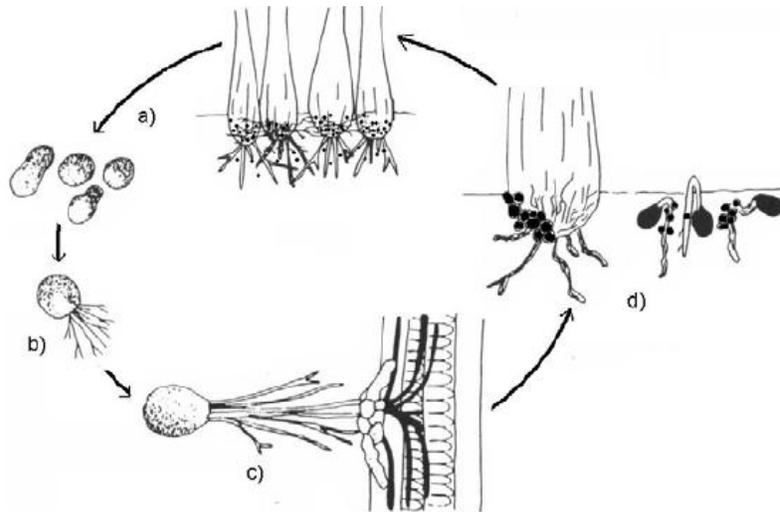
De acuerdo a Velásquez y Medina, 2004b, y otros autores citado por Velásquez (2009), las siguientes medidas se han desarrollado para el manejo de la pudrición blanca de las cuales se describen más adelante algunos ejemplos.

- a. Uso de semilla sana
- b. Análisis de suelo para conocer la densidad de esclerocios dentro de la parcela.
- c. Saneamiento del cultivo. Se pretende localizar aquellas plantas con síntomas iniciales de la enfermedad y proceder a extraerlas (evitando una mayor dispersión del micelio y esclerocios), y finalmente confinarlas (dentro de bolsas plásticas). si se ha detectado áreas de incidencia de la enfermedad es conveniente suspender el paso de maquinaria, trabajadores y agua de riego (rodado o de gravedad).
- d. Solarización: Proceso que se produce en suelos húmedos expuestos al sol durante los meses de verano, cubiertos con una película transparente. Se ha reportado que durante 6 semanas se pueden alcanzar temperaturas hasta de 42 °C en los primeros 7 cm de suelo.
- e. Empleo de estimulantes de germinación de esclerocios.
- f. Fechas de siembra. Se recomienda fechas de siembra tempranas cuando la temperatura es aún alta.
- g. Otras prácticas: Incorporación de gallinaza o vermicomposta y la incorporación de agentes de control biológicos como *Trichoderma harzianum*.
- h. Resistencia genética.
- i. Rotación de cultivos. Se recomienda dejar de sembrar 10 años las especies del género *Allium*.

- j. Inundar el suelo. Con una capa de agua de 20 cm por 8 meses, se ha podido reducir la viabilidad de los esclerocios a 0% luego de este tratamiento. Sin embargo este método no es factible desde el punto de vista económico
- k. Uso de fungicidas.
- l. Uso de tapetes sanitarios. Como medida adicional se recomienda que el empleo de un tapete sanitario donde las llantas de vehículos y calzado del personal que ingresan a dichas parcelas o ranchos se impregnen de una solución fungicida que elimine los posibles esclerocios transportados en el suelo adherido a llantas y calzado.

Dentro de los fungicidas, el de mayor eficacia y factibilidad económica para el manejo de la pudrición blanca está el Tebuconazole (Delgadillo *et al.*, 2004)

Figura 1- Ciclo de desarrollo de *S. cepivorum*.



(Hermosillo *et al.*, 2005)

- a) Los esclerocios son esparcidos durante la cosecha permaneciendo en el suelo por muchos años.
- b) Germinan en presencia de exudados radiculares de especies *Allium*.
- c) El micelio invade las raíces en cualquier etapa del crecimiento.
- d) El micelio es esparcido a las plantas vecinas formando más esclerocios

Pudrición por *Sclerotinia sclerotiorum*

Ubicación taxonómica

De acuerdo con (Lib) de Bary, (1884) esta es la clasificación taxonómica vigente para *S. sclerotiorum*.

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Deuteromycetes

Orden: Helioteliales

Familia: Sclerotiniaceae

Género: *Sclerotinia*

Especie: *S. sclerotiorum*

Importancia de *Sclerotinia sclerotium*

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary, es una enfermedad que de igual manera afecta al cultivo de ajo en cualquiera de las etapas de desarrollo, principalmente afectando al bulbo. Los agricultores comúnmente intentan manejarla enfermedad mediante aspersión de fungicidas, cuya eficacia frecuentemente es baja porque no se utilizan los fungicidas más adecuados o bien, son aplicados con una mala cobertura; y existe una posible selección de resistencia hacia estos plaguicidas, entre otras razones. Su incidencia y severidad varía en función de la humedad invernal y de las poblaciones del hongo en el suelo, llega a reducir el rendimiento hasta 50%, de ahí que se le considere la enfermedad fúngica importante de este cultivo (Apodaca *et al.*, 2011).

Distribución geográfica

Se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo, *Sclerotinia sclerotiorum* afecta a diversas especies cultivadas dentro de las que destacan las Familias *Allium*, Crucíferas, Cucurbitáceas, Solanáceas, Compuestas, flores y malezas.

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary produce esclerocios grandes, globosos a cilíndricos (2-1.5 x 2-30 mm) con una corteza externa negra y el interior blanco, cada esclerocio puede llegar a producir de uno a varios apotecios en forma de salchicha de color variable de blanco a pardo con cortos pedicelos (Entwistle, 1990).

Ciclo de la enfermedad

Inicia en el suelo cuando las estructuras de reposo, denominadas 'esclerocios', comienzan el proceso de germinación que se puede presentar en dos modalidades: a) carpogénica, que produce apotecios los cuales forman ascosporas que se transportan a través del viento hacia plantas susceptibles; y b) miceliogénica, la de mayor frecuencia en el trópico, en la cual el esclerocio produce un micelio que ataca las partes de la planta que están en contacto con la superficie del suelo (Berlín, 1998). La dispersión del inóculo de la enfermedad se da a través del viento en el caso de las ascosporas, mientras los esclerocios y el micelio se diseminan por el movimiento de suelo contaminado de un lugar a otro; también mediante las herramientas de la finca, el calzado, plántulas infectadas, la fertilización con estiércol de animales alimentados con residuos de cosechas infectados y las semillas (Ferreira y Boyle, 1999).

Síntomas de la enfermedad

En el caso de la pudrición provocada por *S. sclerotiorum* se manifiesta a través de manchas blancas sucias en las catáfilas externas de los bulbos de cebolla y ajo. Aparecen manchas acuosas en la zona del seudocuello. Una masa de micelio blanquecino se puede formar alrededor de los bulbos, los cuales quedan con suelo y materia orgánica adherida. En la masa micelial, se forman esclerocios redondos

de color negro y no se agrupan. Los tejidos debajo son destruidos por el ácido oxálico, enzimas pectolíticas y celulolíticas producidas por el hongo. La infección se produce por penetración directa de las hifas del hongo a través de las catáfilas externas o por el cuello de los bulbos en maduración, pero esto ocurre en suelos arenosos. La temperatura óptima para el crecimiento del hongo es de 25-30 °C, el crecimiento decrece a menos de 15 °C. La humedad es importante para el desarrollo de la enfermedad (Delgadillo *et al.*, 2004).

Control de la enfermedad

En cuanto al control químico existen diferentes grupos de fungicidas recomendados para el control de Moho blanco, tal es el caso de los benzimidazoles y las dicarboximidas con los cuales se presentan riesgos de resistencia y dificultad en la aplicación (Mondito, 2005). Los tratamientos químicos incluyen los siguientes ingredientes activos: benomil, captan, clorotalonil, dicloran, iprodione, folpet, metil-tiofanato, tiabendazol, vinclozolin y procimidona. Este último pertenece al grupo de las dicarboximidas y es un fungicida sistémico con propiedades tanto de protección como curativas que inhibe la síntesis de triglicéridos del hongo (The Pesticide Manual, 2008).

Desde hace años, el control de las enfermedades fúngicas ha dependido, en gran medida, de los tratamientos con agroquímicos. Sin embargo, su uso representa un severo riesgo para la salud humana y contribuye al aumento de la contaminación al medio ambiente (Abdel-Monahim *et al.*, 2011).

Alternativas de Manejo

Una buena alternativa para el manejo de estas enfermedades que atacan y amenazan al cultivo de ajo, son productos con menos riesgos al ambiente y con respecto a la salud humana, es la utilización de productos de origen orgánico como son extractos vegetales o bien en su defecto el uso de aceites esenciales, por lo que la evaluación de efectividad biológica de este tipo de productos ha cobrado mayor importancia.

Además, han dado lugar a la aparición de microorganismos altamente resistentes que conducen a enfermedades fúngicas con mayor incidencia que antes. Para reducir este problema, existe la necesidad de buscar y adoptar estrategias que sean accesibles, sencillas de aplicar y no tóxicas para seres humanos y animales (Naeini *et al.*, 2010). Estudios alrededor del mundo revelan la actividad biológica de algunos metabolitos encontrados en las plantas que pueden ofrecer una alternativa promisoría para el control de plagas y enfermedades.

Estudios de la FAO

El CICDUP *Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas* (FAO, 2003). En su Art. 3, apartado 3.9 establece que “los gobiernos con el apoyo de las organizaciones internacionales y regionales pertinentes, deben alentar y promover la investigación y el desarrollo de alternativas que entrañen riesgos menores: agentes y técnicas de control biológico, plaguicidas que no sean químicos y entrañen un riesgo reducido para los seres humanos y para el medio ambiente”. Dentro del marco de la recomendación por parte de la FAO, se han realizado investigaciones con el objeto de encontrar, entre las plantas silvestres, algunas cuyos extractos tengan efecto fungicida o fungistático y puedan ser utilizadas como una alternativa de manejo de enfermedades en los cultivos.

Uno de los trabajos previos es el realizado por Castillo (2004), analizando veinte plantas del Parque Nacional Terepaima, en el estado Lara, Venezuela, en el cual se incluían *Phyllanthus niruri*, *Heliotropium indicum* y *Lippia origanoides*.

A los fenoles se les atribuyen funciones de defensa contra insectos, resistencia a parásitos y regulación de los procesos de crecimiento por interacción con hormonas vegetales, al igual con los alcaloides y Terpenoides, de allí la importancia que tiene desde el punto de vista Fitoquímico. La presencia de estos metabolitos secundarios en estas y otras especies de plantas representa un potencial para disminuir el uso de agroquímicos que no solo atentan contra la ecología y la salud, sino que también permanecen en el medio por años (Castillo, 2004).

Antibiosis

La antibiosis es la producción de metabolitos o antibióticos fúngicos, estos son toxinas que pueden ser nocivas para otros microorganismos a bajas concentraciones (Pal y McSpadden, 2006). Dichos metabolitos no solo actúan de forma directa contra los fitopatógenos, sino también de forma indirecta desempeñando un papel esencial en las respuestas de defensa en las plantas (Brotman *et al.*, 2010). Los metabolitos secundarios son en general divididos en varios grupos característicos; policétidos, terpenos, fenoles, alcaloides, que reflejan su origen y la biosíntesis (Sivasithamparam y Ghisalberti, 2002).

Historia de los aceites esenciales

La aparición de las primeras civilizaciones y su preocupación por la imagen y apariencia ante los demás puede considerarse como detonante indirecto para la búsqueda, el estudio y el conocimiento de los aceites esenciales. Los primeros testimonios escritos sobre aceites esenciales proceden de Egipto, China, India, Arabia, Persia y Grecia, en los que se demostraban los sofisticados conocimientos y tradiciones que imperaban en el cultivo y los usos de hierbas y especias (Loewenfeld y Back, 1980).

El primer manuscrito que define la destilación como método de obtención de un aceite esencial fue escrito por Arnald de Villanova (1235-1311), quien especificó detalladamente el proceso de destilación del aceite esencial de trementina. En el siglo XIII, los aceites esenciales se producían en farmacias y sus aplicaciones ya eran descritas en farmacopeias (Bauer *et al.*, 2001), pero su uso en Europa no parece extenderse hasta el siglo XVI, época en la que comenzaron a comercializarse en Londres (Crosthwaite, 1998).

En el siglo XVIII comenzó la revolución química con el planteamiento de la hipótesis sobre la naturaleza de las sustancias que componen estas mezclas y la forma de separarlas para conseguir su identificación. Houton (1887) fue el primero en detectar la relación carbono/hidrógeno, aunque no fue hasta 1918 cuando Wallach sentó las bases de los terpenos y su clasificación (Guenther, 1972). Como

consecuencia de los avances en la caracterización y propiedades de los aceites esenciales, el uso de los mismos se ha ampliado a lo largo de la historia.

Aceites esenciales

Diversos productos derivados de las plantas han mostrado un efecto antimicrobiano, entre estos compuestos destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas, polipéptidos y resinas (Hernández *et al.*, 2007).

La milenaria experiencia sobre el uso, enseña que la efectividad no depende exclusivamente del producto; es decir, no solo de sus principios activos según la química, sino también, y con la misma importancia, de su preparación y posibles combinaciones (González, 2004).

Contienen en algunos de sus órganos, principios activos, los cuales, administrados en dosis suficientes, producen efectos curativos en las enfermedades de los hombres, animales y plantas. Se calcula que de las 260,000 especies de plantas que se conocen en la actualidad el 10% se pueden considerar medicinales y además nos pueden ayudar a combatir enfermedades fúngicas, se estima que en México existen 5 mil plantas medicinales (Cosme, 2008).

Importancia de los aceites esenciales

Se considera que de manera natural juegan un papel importante en los mecanismos de defensa de la planta en contra de microorganismos fitopatógenos, algunos tienen efecto antifúngico, reducen el crecimiento de hifas, inducen la lisis provocando la evacuación citoplásmica del hongo e involucra cambios en la composición de la célula, ruptura de la membrana plasmática, desorganización estructural de la mitocondria e interferencia de las reacciones enzimáticas de la membrana mitocondrial (Kishore y pande, 2007). Además de que los aceites esenciales son compuestos naturales y por consecuencia son biodegradables, no son residuales y no afectan al ambiente (Tripathi *et al.*, 2004). De ahí la

importancia del uso de los aceites esenciales para el control de enfermedades fúngicas.

Composición química

Los aceites esenciales están constituidos por una mezcla compleja de compuestos, principalmente terpenos, alcoholes fenólicos como el caso del timol, carvacrol, eugenol; alcoholes no fenólicos como el geraniol, linalol, aldehídos, cetonas, ácidos y ésteres, entre otros y cada planta puede tener hasta 100 sustancias químicas distintas en diferentes cantidades y que en conjunto proporcionan al aceite esencial características propias (Tipathi *et al.*, 2004; Ortuño, 2006).

Normalmente, sus propiedades son atribuidas a dos o tres componentes mayoritarios (20-70%), que son los que determinan la actividad biológica de los mismos (Croteau *et al.*, 2000; Betts, 2001; Bowles, 2003; Pichersky *et al.*, 2006).

Extracción del aceite esencial

Para la extracción de un aceite esencial se puede usar un gran número de técnicas, con diferentes costos y nivel de complejidad. La extracción del producto varía en cantidad, calidad y composición dependiendo del clima, composición del suelo, órgano, edad, y estado del ciclo vegetativo de la planta.

También son importantes los tratamientos pre y post destilación, así como el método de destilación utilizado. La destilación a vapor y la hidrodestilación son las técnicas más comunes para la obtención del aceite (Paolini *et al.*, 2008). Con el fin de obtener un aceite esencial con composición constante, el proceso de extracción debe realizarse bajo las mismas condiciones y a partir del mismo órgano de la planta (Bakkali *et al.*, 2008).

Para ello, las semillas de clavo en este caso y los tallos son triturados antes de la destilación para facilitar la liberación del aceite de las células vegetales. El material vegetal es sometido a destilación a vapor o hidrodestilación durante un período de

8 a 24 horas. La destilación de las semillas enteras da lugar a un aceite esencial con mayor contenido en eugenol mientras que el uso de semillas trituradas produce una disminución del contenido de eugenol en el producto final debido a la evaporación del mismo durante el proceso de molienda (Guenther, 1948).

La extracción también se puede llevar a cabo mediante la utilización de fluidos en condiciones supercríticas. El compuesto más utilizado es el CO₂, a presión y temperatura superior a su punto crítico. En estas condiciones, se obtienen buenos rendimientos y se evitan alteraciones de los compuestos volátiles. Este tipo de extracción conlleva infraestructuras más caras, pero tiene grandes ventajas como fácil y rápida eliminación del gas extractor por descompresión, y ausencia de residuos de disolventes procedentes de la extracción (Bauer, 1995).

Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana de diferentes extractos de *Eugenia caryophyllata* ha sido demostrada frente a bacterias patogénicas, incluyendo *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* (Larshini *et al.*, 2001; Friedman *et al.*, 2002; Burt y Reinders, 2003; Cressy *et al.*, 2003; Feres *et al.*, 2005). Mytle y colaboradores (2006) observaron una reducción en la tasa de crecimiento de cepas de *Lysteria monocytogenes* a temperaturas de 15 y 5 °C con un tratamiento de aceite esencial de clavo a concentraciones de 1-2%. Otros autores han descrito diferencias en la acción antibacteriana de los aceites esenciales dependiendo de la procedencia del mismo. Cuando se ha estudiado el efecto de aceite esencial de clavo frente a un grupo de bacterias el aceite esencial extraído de la semilla ha mostrado una mayor actividad frente *Staphylococcus aureus*, mientras que el aceite procedente de las hojas inhibe con mayor intensidad el crecimiento de *Bacillus cereus* (Ogunwande *et al.*, 2005).

Actividad antifúngica

Las propiedades antifúngicas del aceite esencial de clavo se deben principalmente a su componente mayoritario eugenol (Manohar *et al.*, 2001). Cox y colaboradores, en 2001 demostraron que la actividad antifúngica es debida a su acción sobre la membrana celular, provocando la desestabilización de la misma e induciendo la muerte celular (Cox *et al.*, 2001).

La efectividad del aceite esencial de clavo ha sido demostrada en *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes* (Tampieri *et al.*, 2005) y *Aspergillus niger* (Pawar y Thaker, 2006). Núñez *et al.* (2001) estudiaron el efecto de la temperatura, el tiempo de contacto y la concentración (0,2%-0,8%) (v/v) de oleorresina de clavo dispersada en una solución saturada de azúcar sobre *Candida albicans*, *Penicillium citrinum*, *Aspergillus niger* y *Trichophyton mentagrophytes*. Los resultados demostraron un aumento del efecto fungicida a 37 °C. Esta temperatura permitió la eliminación de un inóculo de 10⁶ ufc de *Candida albicans* en un tiempo de contacto de aproximadamente un minuto. Los resultados también demostraron que la actividad fungicida de la solución de clavo-azúcar sobre *Candida albicans* después de dos minutos de contacto fue muy similar a los desinfectantes utilizados normalmente en centros hospitalarios, como povidona yodada y cloroxilenol. A pesar de que la oleorresina demostró un importante efecto letal, *Penicillium citrinum* y *Aspergillus niger* fueron más resistentes al tratamiento. Después de 60 minutos, la oleorresina de clavo (0,4%) (v/v) disuelta en soluciones acuosas causó un 99,6% de reducción de la población inicial de *Trichophyton mentagrophytes*.

Actividad antivírica

La actividad antivírica de *Syzygium aromaticum* también ha sido descrita por Hussein *et al.* (2000). El aceite esencial de clavo se ha utilizado para demostrar la fuerte actividad de éste en la inhibición de la replicación del virus de la hepatitis C (inhibición >90% con 100 µg/mL). También se ha demostrado la eficacia del aceite esencial de clavo sobre el virus del herpes simple (VHS) por inhibición de la actividad de la enzima VHS-1-DNA polimerasa (Kurokawa *et al.*, 1998).

Actividad insecticida

El uso de insecticidas de origen químico para el control de artrópodos y parásitos, presenta numerosos inconvenientes, incluyendo la resistencia y daños ambientales (O'Brien, 1999). La actividad biológica del aceite esencial de clavo ha sido probada frente a muchos parásitos. Hag y colaboradores en 1999 demostraron su efecto inhibitorio en el crecimiento de larvas de *Culex pipiens*. También ha sido descrita su actividad insecticida frente a mosquitos *Pediculus capitis* (Yang *et al.*, 2003) y *Anopheles dirus* (Trongtokit *et al.*, 2005), y su uso con fines acaricidas en diferentes especies como: *Dermatophagoides farinae* y *Dermatophagoides pteronyssinus*. Otros estudios han descrito su uso como fumigante frente a termitas japonesas (Park y Shin, 2005).

Aceite esencial de clavo

El clavo (*Syzygium aromaticum*) es un árbol tropical, originario de las islas Molucca, las islas Zanzíbar y en las islas vecinas de Bemba, pertenece a la familia *Myrtaceae*, se cultiva en muchas ciudades de clima tropical, es una especie herbolaria muy conocida, por su amplio uso como condimento, principalmente en el arte culinario o bien para elaborar productos como cremas, jabones, perfumes así como en el área médica (Santos *et al.*, 2008; García-González y Vázquez-Sánchez, 2006).

El clavo comprende un 14-21% de aceite esencial, el cual es más denso que el agua y fácilmente se oscurece al contacto con el aire, además tiene un olor fuerte, aromático y picante. El aceite esencial de clavo comprende principalmente fenoles (78-98%), como el eugenol y el acetileugenol, también contiene sesquiterpenos, algunos ésteres, cetonas y alcoholes (Kubeczka y Formacek, 2002; García-González y Vázquez-Sánchez, 2006).

Composición química

El aceite esencial de clavo está formado por una gran variedad de compuestos (Chaieb *et al.*, 2007). Su composición varía dependiendo de su procedencia. Entre sus componentes destaca el eugenol (49-98%) como compuesto mayoritario,

cariofileno (4-21%) y eugenil acetato (0,5-21%). Además también se pueden encontrar pequeñas cantidades de humuleno y trazas (< 1%) de otros 25 a 35 constituyentes.

Extractos vegetales

Un extracto vegetal se obtiene a partir de una solución resultado del tratamiento de plantas o partes de ellas, con un solvente, el cual es adicionalmente concentrado a través de evaporación, destilación o algún otro proceso (Carrillo, 2003). Los extractos de muchas plantas han mostrado tener compuestos de bajo peso molecular que inhiben el crecimiento de hongos in vitro. Esos compuestos pueden estar presentes en los extractos de plantas sanas (Compuestos antimicrobianos preformados o fitoanticipinas), o pueden encontrarse en extractos vegetales que han estado expuestos a patógenos o estrés (Fitoalexinas). (Calvo *et al.*, 2002), e incluyen diversos arreglos de metabolitos secundarios, como fenólicos, saponinas, sesquiterpenos, isoflavonoides, alcaloides y muchos otros compuestos.

Extractos y metabolitos secundarios

Las plantas han desarrollado diversas estrategias de defensa contra condiciones de estrés biótico y abiótico. Como parte de la protección química de las plantas frente a patógenos, una de las estrategias utilizadas por las plantas es la producción de metabolitos secundarios, con actividad antimicrobiana, en contra de herbívoros o con actividad antioxidante (Croteau *et al.*, 2000).

Los metabolitos secundarios están presentes en todas las plantas superiores, usualmente con una alta diversidad estructural. El patrón de estos en una planta es complejo, cambia en un tejido u órgano específico; regularmente, se pueden observar diferencias entre diferentes estados de desarrollo, entre individuos y poblaciones. Los metabolitos secundarios pueden estar presentes en la planta en un estado activo que se activará por una herida, el inicio de una infección o el cuerpo de un herbívoro (Wink, 2003). Los metabolitos secundarios también se conocen como “Fitoanticipinas”, y los compuestos que se producen en respuesta al ataque de patógenos son llamados “fitoalexinas”. Los patógenos responden a

las defensas químicas de la planta hospedera por medio de genes que los ayudan a evitarlas, degradarlas y alteran su fisiología (Agrios, 2005). Los metabolitos secundarios de las plantas pueden ser divididos en tres grandes grupos: Terpenoides, Compuestos fenólicos y alcaloides, en base a sus orígenes sintéticos (López Belchi, 2008). Estas sustancias pueden ser una fuente importante de agentes antifúngicos. Pueden ser desarrollados como productos o bien ser usados como punto de partida para la síntesis de nuevos compuestos (Gullino *et al.*, 2000). Ha sido ampliamente reconocido que las plantas constituyen un inestimable reservorio de metabolitos secundarios biológicamente activos en el control de diversas enfermedades (Cos *et al.*, 2008; Gibbons 2008). Últimamente, se ha estimulado y orientado muy intensamente la investigación en la búsqueda y utilización de sustancias puras o extractos crudos de plantas en el control de diversas enfermedades fúngicas (Fenner *et al.* 2005).

Obtención de extractos vegetales

Para extraer dichos compuestos también es necesario el desarrollo de técnicas que permitan la obtención de éstos, como es el caso de la hidrodestilación (Hernández-Ochoa *et al.*, 2012) proceso por el cual, se obtienen los aceites esenciales que han sido ampliamente estudiados por su actividad biológica (Lambert *et al.*, 2001). Los aceites esenciales contienen hasta un 3 % de moléculas activas (Ortuño, 2006)

En el proceso de extracción de los aceite esenciales, existe una segunda fase, llamada extracto acuoso o agua floral, la cual, según recientes estudios, puede presentar actividad biológica contra diferentes tipos de bacterias y hongos, incrementando las expectativas para su utilización como conservador natural en alimentos, ya que algunos de los componentes activos contenidos en el aceite esencial pueden migran hacia el extracto acuoso (Hernández-Ochoa *et al.*, 2012).

Estudios de extractos acuosos de plantas, obtenidos por distintos métodos, ya se han utilizado recientemente para la producción de fungicidas alimentarios,

incluyendo extractos de pino (*Pinus sylvestris*) abeto rojo (*Picea abies*), ajo (*Allium sativum*), albahaca, romero, laurel entre otros (Eslaminejad *et al.*, 2012; Özcan *et al.*, 2011).

Extracto de cítricos

Los compuestos secundarios de plantas de interés comercial, han sido incluidos en tres principales categorías según sus rutas biosintéticas: terpenos, compuestos fenólicos y compuestos nitrogenados (Chinou, 2008). Los terpenos se forman por la polimerización de unidades de isoprenos y esteroides (Sarin, 2005) y se dividen en seis grupos: monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos y esteroides, dentro de los cuales se encuentran carotenos, glicósidos cardiotónicos, taxol, entre otros (Shilpa *et al.*, 2010).

Dentro de los extractos vegetales se encuentran los extractos de cítricos que han demostrado poseer propiedades antimicrobianas Ben-Yehoshua *et al.*, (1992) reportaron el efecto antifúngico del flavado del limón sobre *Penicillium digitatum*; mientras que von Woedtke *et al.*, (1999) y Ruiz (2004) reportaron el efecto bactericida del extracto de semillas de toronja bajo *condiciones in vitro*.

Estudios en cítricos

Se ha demostrado que el aceite esencial de *Citrus limon* muestra actividad inhibitoria sobre *A. flavus*, *Fusarium* spp. y *A. niger*, atribuyendo su efecto a una gran variedad de sustancias fitoquímicas tales como el E-citral, Z-citral, α -pineno, genariola y myirceno 1- β pineno, que en general pueden ocasionar granulación y ruptura de la membrana citoplasmática e inactivación y/o inhibición de la síntesis de enzimas intra y extracelulares, impidiendo la producción de micelio (Souza *et al.*, 2005). Por lo anterior, los resultados muestran el potencial de los productos evaluados como potenciales controladores de *Aspergillus flavus*. Los extractos vegetales, (productos biorracionales derivados de productos de las plantas, los que han mostrado un efecto antimicrobiano). Dentro de los extractos vegetales se encuentran los extractos de cítricos que han demostrado poseer propiedades antimicrobianas Ben-Yehoshua *et al.*, (1992) reportaron el efecto antifúngico del

flavado del limón sobre *Penicillium digitatum*; mientras que Von Woedtke *et al.*, (1999) y Ruiz (2004) reportaron el efecto bactericida del extracto de semillas de toronja bajo *condiciones in vitro*.

Extracto de limón (*Citrus limón* L.)

Árbol perennifolio proveniente de la india, perteneciente a la familia de las rutáceas. Hojas dentadas, lanceoladas o elípticas, acabadas en punta. Flores con pétalos blancos interiormente y con los extremos rosados. Entre los aceites esenciales más difundidos se encuentra el del limón, siendo Argentina uno de sus mayores productores en el mundo. El aceite de limón, contiene aproximadamente 2% de sustancias no volátiles en su mayoría en la forma de Coumarince, alrededor de 18 alcoholes, 16 aldehídos, 11 ésteres, 3 cetonas, 4 ácidos, y 23 hidrocarburos. Los terpenos son hidrocarburos complejos de forma general C_nH_{2n-4} , de la serie del isopreno, el que está formado por dos dobles enlaces y que unidos por cadenas orgánicas forman un grupo de compuestos con características propias y se encuentran en los aceites esenciales de las plantas (Ruiz, 2012).

Estudios en limón

Se ha demostrado que el aceite esencial de *Citrus limon* muestra actividad inhibitoria sobre *A. flavus*, *Fusarium* spp. y *A. niger*, atribuyendo su efecto a una gran variedad de sustancias fitoquímicas tales como el E-citral, Z-citral, α -pineno, genariola y mirceno y 1- β pineno, que en general pueden ocasionar granulación y ruptura de la membrana citoplasmática e inactivación y/o inhibición de la síntesis de enzimas intra y extracelulares, impidiendo la producción de micelio (Sourza *et al.*, 2005). El extracto de semilla de Limón ha demostrado su capacidad *in vitro* para matar o inhibir el crecimiento de una gran cantidad de bacterias potencialmente perjudiciales, hongos, virus y protozoarios parásitos (Trapman, 2004); además de ser un microbicida natural de amplio espectro, es un antioxidante biodegradable, no es tóxico a animales, ni es corrosivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de toxicología, perteneciente al Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Figura 2- Ubicación del experimento



(UAAAN, 2015)

Aislamientos de *S. cepivorum* y *S. sclerotiorum*

De una parcela experimental en el estado de Aguascalientes; se seleccionaron plantas que mostraban los síntomas sobre la pudrición blanca y síntomas relacionados a la marchites del bulbo mencionados por Velásquez *et al.*, (2011), el aislamiento de los fitopatógenos se llevó a cabo de acuerdo a la metodología mencionada por Agrios (2005). Los hongos se purificaron de acuerdo a la técnica de cultivo monosporico, se logró obtener a *Sclerotinia cepivorum* y a *Sclerotinia sclerotiorum* en forma pura.

Microorganismos estudiados

Sclerotinia cepivorum y *Sclerotinia sclerotiorum*, se incrementaron en cajas de Petri con medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA), colocando en el centro un explante de 5 mm de diámetro. Las cajas fueron incubadas en oscuridad a una temperatura de $28\pm 2^{\circ}$ C.

Extractos evaluados

Los tres extractos evaluados fueron proporcionados en el Laboratorio de Toxicología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Saltillo. Los extractos son productos que actualmente se encuentran en el mercado. Se utilizó material comercial en este caso extractos de cítricos, limón y un extracto de clavo que venían a una concentración del 100 %.

Bioensayo No. 1. Efecto de los extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de *S. cepivorum*, y *S. sclerotiorum*

Se evaluaron los tres extractos vegetales arriba mencionados, sobre *Sclerotinia cepivorum*, y *Sclerotinia sclerotiorum*. Para ello, se utilizó la metodología del medio de cultivo envenenado, utilizando las siguientes dosis: para el extracto de clavo: 50, 100, 150, 200, 250 y 300 ppm; para el extracto de cítricos: 50, 100, 200, 400, 800 y 1200 ppm, y para el extracto de limón: 50, 100, 200, 400, 800 y 1200 ppm.

Establecimiento del experimento

En la cámara de flujo laminar se prepararon seis diluciones de cada extracto, en concentraciones antes mencionadas, para la obtención de las dosis se tomó el extracto a una concentración del 100%, y luego se realizaron diluciones utilizando como solvente el medio de cultivo PDA a medio solidificar hasta obtener las concentraciones deseadas, las cajas se agitaron suavemente 10 veces en forma circular. Para cada concentración se establecieron cinco repeticiones y un testigo.

Las cajas se dejaron en observación por 24 h, esto para verificar que no hubiese crecimiento del algún contaminante.

Posteriormente transcurridas las 24 h de reposo, se inocularon las cajas de Petri, una vez obtenidos los medios de cultivo a las diferentes concentraciones se colocaron explantes de 5 mm de diámetro de los fitopatogenos evaluados, con 10 días de edad, se incubaron a 28 °C \pm 2 en oscuridad hasta que el crecimiento del micelio de la caja testigo (PDA sin extracto) alcanzó el tamaño de la placa. Se midió el crecimiento de cada uno de los hongos con un Vernier cada 24 h y se determinó el porcentaje de inhibición de *S. cepivorum* y *S. sclerotiorum* (Veloz-García *et al.*, 2010).

Variables estudiadas

El porcentaje de inhibición del crecimiento sobre *S. cepivorum* y *S. sclerotiorum*, se determinó con la fórmula de Samaniego *et al.*, (1989), citado por Ezziyyani *et al.*, (2004), $PICR = R1 - R2 / R1 \times 100$. Dónde: R1 es el radio mayor (radio del patógeno testigo) y R2 es el radio menor (radio del patógeno en contacto con el extracto).

Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con cinco repeticiones para cada concentración (Tratamientos) y el testigo que fue solo PDA. La variable a evaluar fue efecto de los extractos vegetales de cítricos, limón, y Clavo sobre el crecimiento micelial de *S. cepivorum* y *S. sclerotiorum*. Los datos se analizaron con el programa estadístico SAS System Versión 9.1, las medias fueron comparadas con la prueba Tukey al 0.05 de significancia.

Bioensayo No. 2. Efecto de los extractos vegetales sobre la producción de esclerocios respecto a *S.cepivorum* y *S.sclerotiorum*

Para medir el efecto de dichos extractos sobre la producción de esclerocios se procedió de la manera siguiente; al terminar las mediciones del bioensayo No. 1

(30 días después) se procedió a llevar a cabo los conteos de manera manual con la ayuda de una aguja de disección, los resultados se expresaron en Número de esclerocios por repetición.

Diseño experimental

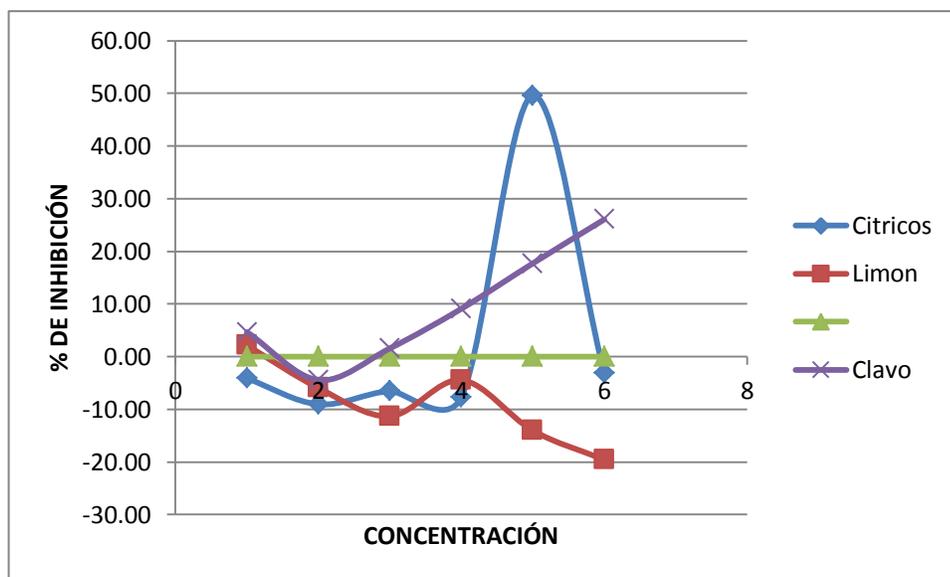
Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 6 tratamientos, cada uno con cinco repeticiones y el testigo. La variable a evaluar fue el efecto de los extractos vegetales de cítricos, limón y clavo, sobre la producción de esclerocios solo para el caso de *S. cepivorum* y *S. sclerotiorum*. Los datos se analizaron con el programa estadístico SAS System Versión 9.1, las medias fueron comparadas con la prueba Tukey al 0.05 de significancia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de los extractos sobre *Sclerotinia cepivorum* B.

Las curvas de crecimiento obtenidas de *S. cepivorum* a diferentes concentraciones de dichos extractos, muestran apenas la forma sigmoideal típica de las poblaciones que se encuentran en ambientes con limitaciones (Weir y Gil, 1999), estos autores señalan una fase uno de crecimiento retardado, donde el hongo se adapta al medio de cultivo, sintetizando enzimas para degradarlo, esto para el caso del extracto de limón donde no se ve un efecto con respecto al porcentaje de inhibición. Una fase dos de crecimiento exponencial, donde la división celular se acelera, y la fase tres de tendencia asintótica, en esta última fase la división celular disminuye debido a la menor nutrición y a la acumulación de desechos tóxicos, esta fase se relaciona más al extracto de clavo donde existe una correlación en base a la dosis con respecto al % de inhibición.

Figura 3– Curvas de inhibición de Crecimiento para *S. cepivorum*.



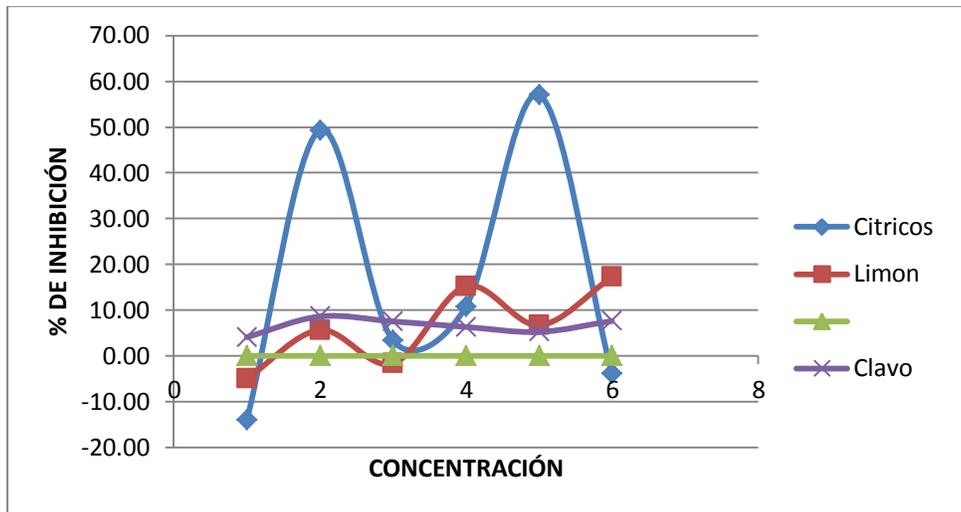
La dinámica de crecimiento de *S. cepivorum* se ve afectada en diferentes niveles, gracias al extracto de clavo, siendo el porcentaje de inhibición más alto a concentraciones de 250 ppm y 300 ppm (17.72 % y 26.07%) esto en comparación con el testigo.

El extracto de clavo presentó actividad biológica a 300 ppm solo para el caso de *S. cepivorum* en el presente estudio. Se ha demostrado que el aceite esencial de clavo posee actividad antifúngica *in vitro*, afectando especies que se desarrollan frecuentemente en los alimentos tales como *Paecilomyces*, *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Rhizomucor* spp., inclusive algunas especies de *Aspergillus* (Joseph and Sujatha, 2011) y que inhibe perceptiblemente el crecimiento de *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Fusarium oxysporum*, *F. chrysogenum*, *Penicillium* spp., a partir de 500 ppm y 1000 ppm (Kritzinger *et al.*, 2002).

Es difícil atribuir la actividad biológica de mezclas naturales y complejas como los aceites esenciales y extractos acuosos aun componente en particular. Generalmente, los componentes principales se encuentran para reflejar absolutamente bien las características biológicas de los extractos (Bakkali *et al.*, 2008). Sin embargo, es razonable asumir que la actividad antifúngica de este extracto se puede relacionar con la presencia de una alta concentración (75-100 %) de *Eugenol*. Los componentes con estructura fenólica como el eugenol son altamente activos contra microorganismos (Gupta *et al.*, 2008). Este compuesto fenólico puede desnaturalizar las proteínas y reacciona con los fosfolípidos de la membrana celular que cambian su permeabilidad (Bhuiyan *et al.*, 2010).

Efecto de los extractos sobre *Sclerotinia sclerotiorum* B.

Figura 4– curvas de inhibición de Crecimiento para *S. sclerotiorum*

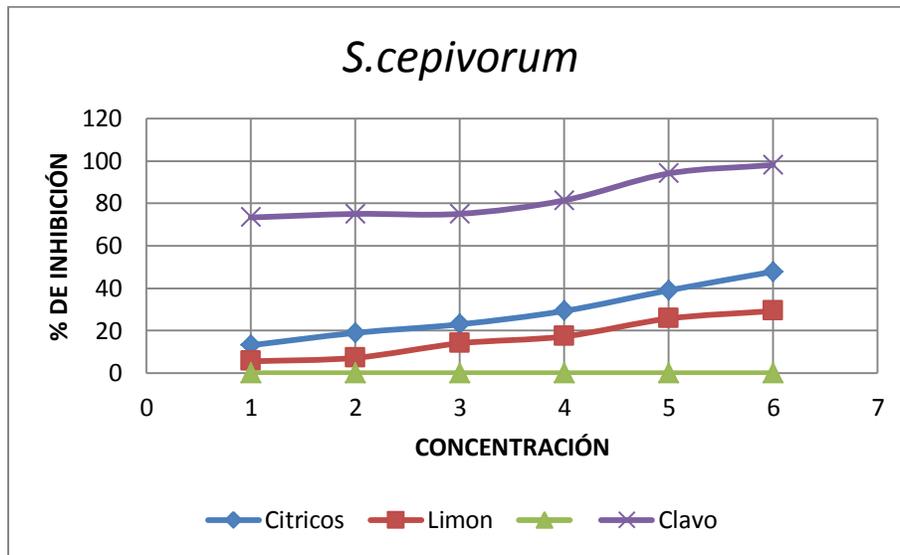


Extractos de cítricos y limón

Los extractos de Cítricos y Limón parecen no presentar algún efecto fungistático ni a las dosis más altas de 1200 ppm, Como se puede apreciar, estas concentraciones resultan bastante altas, incluso superando el valor máximo recomendado para productos comerciales con actividad fungicida, las cuales se encuentran alrededor del 1%. Estos resultados diferenciales en la actividad fungicida de dichos extractos indican que existe una estrecha relación entre la composición del extracto vegetal empleado y la actividad biológica, ya que la composición de volátiles puede variar afectando el grado de actividad observado. Incluso algunos aceites esenciales con actividad fungicida conocida pueden resultar ineficaces cuando son evaluados sobre otras cepas de hongos o bajo condiciones diferentes (Aldred *et al.*, 2008). Sin embargo el aceite esencial y/o extracto vegetal de cascara de naranja ha demostrado, en estudios anteriores, actividad fungicida sobre una modesta variedad de hongos fitopatógenos (Caccioni *et al.*, 2005).

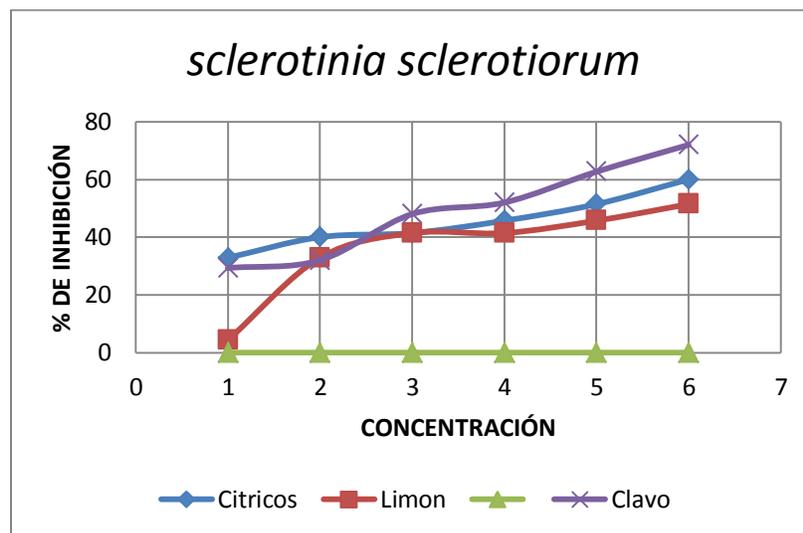
Inhibición de esclerocios

Figura 5– curvas de Inhibición de Esclerocios (*S. cepivorum*).



Los tres extractos vegetales presentaron diferentes capacidades al momento de inhibir el desarrollo de esclerocios para el caso de *S. cepivorum*, siendo en este caso el mejor el aceite esencial de clavo, el cual a 50 ppm inhibió un 73.37 % y a una concentración de 300 ppm presentó un 98.09% de inhibición, debido a una alta concentración de eugenol que va de un 75% a 100%.

Figura 6– Curvas de Inhibición de Esclerocios (*S. sclerotiorum*).



Para el caso de *S. sclerotiorum*, se muestra una inhibición de esclerocios para los tres casos siendo el extracto de clavo el que tiene una mayor eficacia, donde a una concentración de 300 ppm alcanza una inhibición del 72% Respectivamente, mientras que el extracto de cítricos a una concentración de 1200 ppm, solo presenta un 60% con respecto a la reducción de esclerocios.

Estos resultados coinciden con los mostrados en estudios realizados por Sharma y Tripathi, citado por Bejarano y Centeno (2009) quienes demostraron que los extractos de *Citrus sinensis* y *Cymbopogon citratus* poseen efectos sobre el crecimiento *A. flavus* y *A. niger*, inhibiendo alrededor del 65% del desarrollo de estos hongos después de cinco días de incubación y retrasando el proceso de esporulación, en comparación con el control.

De igual manera se coincide con los estudios realizados por Aguilar *et al.*, (2014) quienes demostraron que el aceite esencial de citronela *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle con buen nivel de control de *S. sclerotiorum*, también mostró actividad fumigante sobre los hongos *Aspergillus* spp., *Colletotrichum musae* y *Pyricularia grisea*.

CONCLUSIONES

El extracto de Clavo presentó la mejor capacidad de inhibición de crecimiento a una concentración de 300 ppm para *S. cepivorum*.

Por otra parte, el extracto de clavo a 300 ppm presentó un 98.09% de inhibición para *S. cepivorum* y un 72% para *S. sclerotiorum* respecto a la producción de esclerocios.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Monaim, M. F.; Abo-Elyousr K. A. M., y Morsy, K. M. 2011. Effectiveness of plant extracts on suppression of damping-off and wilt diseases of lupine (*Lupinus termis Forsik*). Crop protection, 30(2), 185-191.
- Agrios, G. 2005. Plant pathology. Fifth Edition. Amsterdam. Elsevier Academic Press. P 992.
- Agrios, G.N. 2006. Fitopatología. Limusa Noriega, Eds. 2ª Ed. México. 838 p.
- Al- Bayarti F., A. 2008. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oil and methanol extracts. Journal of Ethnopharmacology 116: 403-406.
- Aldred N., A., Lopez V., K., Marin H., A. y Murillo A., W.(2008) Evaluacion preliminar de la actividad fungicida de los aceitesesenciales de eucalipto (*Eucalyptus tereticornis*, myrtaceae)y cascara de naranja (*Citrus sinensis*, rutaceae) sobrealgunos hongos fi lamentosos.
- Alvarado, M. S. 1987. Estudio de las enfermedades fungosas del ajo (*Allium sativum* L.) en Zacatlán, Puebla. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México. 53 p.
- American Phytopathological Society. 1995. Compendium of onion and garlic diseases. H. F. Schwartz and S. K. Mohan (Eds.). The APS Press. St.Paul, MN, USA. 54 p.
- Apodaca, S. M. A.; Cortez, M. E. y García, E. J. A.2011. Enfermedades infecciosas del cultivo de frijol es Sinaloa. Universidad Autónoma de Sinaloa. Colegio de Ciencias Agropecuarias-Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte. Colección Agro Folletos. Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa, México 36 p.

- Arévalo V. A., Montes P.H., Narro S.J. y Redondo J. E. 2002. Los patógenos y su efecto en la reducción del potencial de rendimiento y calidad del ajo. CEBAJ-INIFAP. 2003. Gto. México. Pp.73.
- Bakalli F, Averbeck S, Averbeck D, and Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils-A review. *Food and Chemical Toxicology* 46:464-475.
- Ben-Yehoshua S, Rodov V, Kim JJ and Carmeli S. Preformed and induced antifungal materials of citrus fruits in relation to the enhancement of decay resistance by heat and ultraviolet treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40:1217-1221. 1992.
- Bhuiyan N, Begum J, Nandi N, Akter F. 2010. Constituents of the essential oil from leaves and buds of clove (*Syzygium caryophyllatum*). *African Journal of Plant Science* 4: 451-454.
- Brotman, Y., Lisek, J., Willmitzer, L., Chet, I. and Viterbo, A. 2010. Analyzing the transcriptome and metabolome of *Arabidopsis* inoculated with *Trichoderma* and the pathogen *Pseudomonas syringae*, in: Books of Abstracts, *Trichoderma* Molecular Mechanisms and Applications of Biocontrol in Agriculture. Technion, Haifa, Israel, P. 24.
- Bujanos, M. R. y Marín, J. A. 2000. Plagas: descripción, daños y control. El ajo en México. Origen, mejoramiento genético, tecnología de producción. Libro Técnico Núm. 3. División Agrícola. INIFAP. León, Guanajuato, México. P. 64 – 67.
- Burba J. L. 2006 Producción de semilla de sanidad controlada en hortalizas de propagación agámica. Curso Taller en tecnología de producción de semillas Hortícolas para pequeños agricultores. FAO-INTA. P 245-250.
- Burt S. 2004. Essential oil: their antibacterial properties and potential application in foods –a review. *International Journal of Food Microbiology* 94 223-253.

- Cabrera, C. y P. Elliot. 1996. La cabeza que solo tiene dientes. Primer Encuentro sobre agricultura urbana y su impacto en la alimentación de la comunidad. *Se puede*. 1(5); 22-23.
- Caccioni R.L.; Guizzardi, M.; Biondi, D.M.; Renda, A.; Giuseppe, R. (2005). Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum*. And *Penicillium italicum* International Journal of Food Microbiology 43, 73–79.
- Calle B. J. 2005. Caracterización Morfológica y Molecular de Hongos Fitopatogenos de Suelo e Identificación de Bacterias Foliares en el Cultivo de la Cebolla. Tesis de Maestría. UPRM. Mayagüez, Puerto Rico. P. 6. Universidad de Puerto Rico Recinto Universitario de Mayagüez.
- Calvo A. M, Wilson B.R, Keller N.P. Relationship between secondary metabolism and fungal development. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2002; 66: 447-59.
- Carrillo, L., 2003. Mohos y Micotoxinas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1-24.
- Castillo J (2004) *Determinación de Metabolitos Secundarios en Plantas Silvestres del Parque Nacional Terepaima, Municipio Plavecino, estado Lara*. Tesis. Universidad Centro occidental Lisandro Alvarado, Venezuela, 103 pp.
- Chinou, I (2008) Primary and secondary metabolites and their biological activity. En: Waksmundzka- Hajnos M, Sherma J, Kowalska T (Eds) *Thin layer chromatography in phytochemistry*, pp. 59-76. CRS Press, Boca Raton
- Coley – Smith, J.R., Parfitt, and I. M. Taylor. 1987. Studies of dormancy in sclerotia of *Sclerotium cepivorum*. *Plant Pathology*. 36: 594-599.
- Coley- Smith, J. R, C. M. Mitchel, and E. C. Sansford 1990. Long-term survival of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and *Stromatinia gladioli*. *Plant Pathology*. 39: 58-69.

- Conci, V., Lunello, P., Canavelli, A., Nome, S., Bracamonte, R., Alochis, P. y Perotto, C. 2003. Incidencia de los virus en la producción de ajo y su control. *Idia XXI*:55-60.
- Conles M.Y., Cragolini C.I., Yossen V.E., Balzarini M. y Macchiavelli R.E.2011. Estimación de curvas de progreso de la incidencia de podredumbre blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk.) en cultivos de ajo mediante un modelo no lineal mixto. *Agriscientia*. Vol.XXVII:61-74.
- Cos P., L. Maes, A. Vlietinck & L. Pieters. 2008. Plant-derived leading compounds for chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection – an update. *Planta Med.* 28: 1323-1337.
- Couch. B. C., and L. M. Kohn. 2000. Clonal spread of *Sclerotium cepivorum* in onion production with evidence of past recombination events. *Phytopathology*. 90: 514-521.
- Croteau, R., Kutchan, TM y Lewis NG. 2000. Natural products (secondary metabolites). Pp 1250 – 1318. En Buchanan, B., Grissem, W., Jones, R. (eds) *Biochemistry and molecular biology of plants*. Vol 24. American society of plant physiologists. Maryland. USA.
- Crowe, F. J., H. S. Hall, A.S. Greathead, and K.G. Baghott. 1980. Inoculum density of *Sclerotium cepivorum* and the incidence of white rot of onion and garlic. *Phytopathology*. 70: 64-69.
- Davis, R. M., Hao, J. J., Romberg, M. K., Nunez, J. J., and Smith, R. F. 2007. Efficacy of germination stimulants of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* for management of white rot garlic. *Plant Disease* 91:204-208.
- Delgadillo, S. F. 2000. Enfermedades: descripción y tratamiento. *El ajo en México*. Origen, mejoramiento genético, tecnología de producción. Libro Técnico Núm. 3. Comps. E. Heredia G. y F. Delgadillo S. Campo Experimental Bajío-INIFAP. León, Gto., Méx. P 102.

- Díaz de Castro, F. J.; Restrepo, M. A.; Rojas, W. 2007. Microbiología de las infecciones en plantas. Primera edición. Corporación para las investigaciones Biológicas. Medellín Colombia P 102-105.
- Dugan F.M., B.C Hellier and S.L. Lupien, 2007. Pathogenic Fungi in Garlic Seed Cloves from the United States and China, and Efficacy of Fungicides against Pathogens in Garlic Germplasm in Washington State. *Journal of Phytopathology* 155 437– 445.
- Entwistle, A. R. 2000. Root Diseases *In*: Rabinowith, H.D., and J. M. Brewster (Eds) Onions and allied Crops. Vol. II. CRC Press. Inc. Boca Raton, Florida. U. S. pp. 117-121.
- Eslaminejad P, Maziah Z, Eslaminejad T. 2012. Anti-fungal activity of cold and hot water extracts of spices against fungal pathogens of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) *in vitro*. *Microbial Pathogenesis* 52:125-129.
- Espinosa, P. M., Enríquez, R. S., González, C. M., Ramos, N. J.M. 2003. Cadena Agroalimentaria de Ajo. Pp 12-15.
- Everhart E., Haynes C. y Jauron R. 2003. Guía de Horticultura de Iowa State University. Traducción. Pp. 2.
- Ezziyyani, M., Pérez, S. C., Sid, A. A., Emilia, R. A. y Maria, E. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Anales de Biología*, 26: 35-45.
- Fajardo, T. V. M., Nishijima, M., Buso, J. A., Torres, A. C., Avila, A. C. & Resende, R. O. 2001. Garlic viral complex: identification of Potyviruses and Carlavirus in Central Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 26:619-626.
- FAO (2003) *Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. 36 pp.

- Fenner R., M. Sortino, S.M. Rates, R. Dall'Agnol, A. Ferraz. 2005. Antifungal activity of some Brazilian Hypericum species. *Phytomedicine* 12(3): 236 ,240.
- FOASTAT. 2011. Producción Mundial de Ajo. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. http://faostat3.fao.org/home/index_es.html?locale=es#DOWNLOAD 23/09/14.
- Fuentes O. Y. M., Cerna C. E., Gallegos M. G., Landeros F. J., Delgado O. J. C., Hernández C. S., Rodríguez G. R. y Olalde P. V. 2012. Identificación de especies de *Fusarium* en semilla de ajo en Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Micología*. 36: 27-31.
- Fuentes O. Y. M., Delgado O. J. C., Cerna C. E. Hernández C. F. D., Flores O. A., Gallegos M. G., Vázquez M. O., y Rodríguez G. R. 2013. The first report of *Fusarium proliferatum* causing garlic bulb rots in Mexico. *African Journal of Agricultural Research*. 8: 570-573.
- Galvan G.A., C.F.S. Koning-Bouxorin, W.J.M. Koopman, K. Burger-Meijer, P.H. González, C. Waalwijk, C. Kik and O.E. Scholten, 2008. Genetic variation among *Fusarium* isolates from onion and resistance to *Fusarium* basal rot in related *Allium* species. *European Journal of Plant Pathology* 12 499– 512.
- García A. C. R. 1998. *El Ajo*. Ed. Mundi Prensa Edición Barcelona España. P. 158.
- García-González, K. Y. y A. Y. Vázquez- Sánchez. 2006. El clavo ¿una esperanza contra el cáncer? (*Sysigium aromaticum*). In *FARMATe.9*
- Gibbons S. 2008. Phytochemicals for bacterial resistance – strengths, weaknesses and opportunities. *Planta Med*. 74: 594-602.
- Gohel, V.,A. Singh, M. Vimal., P. Ashwini, and H.S. Chhatpar.2006. Bioprospect and antifungal potencial of chitinolytic microorganism *African Journal of Biotechnology*. 5: 54-72.

- González V. S. E. 1979. Efectos comparativos de cuatro nematicidas para el control del nematodo de bulbos y tallos *Ditylenchus dipsaci* Kuhn, en ajo (*Allium sativum* L.). Tesis profesional. Instituto tecnológico y de estudios superiores de Monterrey, división de ciencias agropecuarias 43 p.
- Groenewald, S. 2006. Biology, pathogenicity and diversity of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. Trabajo de grado de maestría. Universidad of Pretoria. Sudamérica.P. 23-24.
- Gullino, L., Leroux, P., Smith, C. 2000. Uses and challenges of novel compounds for plant disease control. *Crop Protection* 19: 1-11.
- Gupta Ch, Garg AP, Uniyal RC, Kumari A. 2008. Comparative analysis of the antimicrobial activity of cinnamon oil and cinnamon extract on some food-borne microbes. *African Journal of Microbiology Research* 2:247-251.
- Heredia G. E. y F. Delgadillo S. 2000. El ajo en México: origen, mejoramiento genético y tecnología de producción. Libro Técnico Núm. 3, Celaya Gto., México. SAGAR, INIFAP, Campo Experimental Bajío. 102 p.
- Hernández A. A. M., Juárez L. G., Fucikovsky Z. L., Zavaleta M. E. y González H. V. A. 2006. Impacto del almacenamiento en la brotación de bulbos de ajo y especies patogénicas de *Penicillium* y *Erwinia* asociadas. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29:283-290.
- Hernández-Ochoa L, Macías-Castañeda C.A, Nevárez- Moorillón G.V, Salas Muñoz E, Sandoval-Salas F. 2012. Antimicrobial activity of chitosan-based films including spices essential oils and functional extracts. *Journal of food* 10:85-91.
- Holliday, P. 1980. *Fungus diseases of tropical crops*. Dover Publications, Inc. New York, USA. P. 607.
- Izquierdo O. H. 2006. Instructivo Técnico para la producción de Ajo-Semilla de Alta Calidad Fitosanitaria Mediante el empleo de Técnicas Biotecnológicas. *Temas de Ciencia y Tecnología*. 10: 63.

- Jayaprakasha G.K., L. Jagamohan R. and K. Sakariah k. 2003 Volatile constituents from *Cinamomun zeylanicum* fruit stalks and they antioxidant activies. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 4344- 4348.
- Jayaprakasha G.K., P.S. Negi, B.S. Jena, R. Mohan and L. Jagan. 2007 Antioxidant and antimutagenic activies of *Cinamomun zeylanicum* fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis 20 330-336.
- Jayaprakasha, G.K., M. Ohnishi-Kameyana, M. Ono Hiroshi, Yoshida Mitsuru, and R. Jaganmohan. 2006. Phenolic Constitued in the Fruit of Cinamomun zeylanicum and their Antioxidant Activity. Journal of Agricultural. Food Chemistry. 54: 1672- 1679.
- Joseph B, Sujatha S. 2011. Bioactive compounds and itsautochthonous microbial activities of extract and cloveoil (*Syzygium aromaticum*) on some food borne pathogens. Asian Journal of Biological Sciences 4:35-43.
- Kavanagh, K. 2005. Fungi: biology and applications. Ed. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, UK.. 267 p.
- Kishore K.G. and S. Pande. 2007. Evaluation of Essential Oil and Their Components fro Broad- Sperctrum Antifungal Activity and Control of Leaf Sport and Crow Rot Diseasses in peanut. Plant.Dis. 91: 375- 379.
- Koch, M., Ta´anami, Levi, S., and Salomon, R.1995. Testing garlic gloves and bublets for onion yellow dwarf virus by ACP – ELISA. Phytoparasitica 23:27-29.
- Kordali S., A. Cakir, H. Ozer, R. Cakmakci, E. Mete (2008) Antifungal, phytotoxic and insecticida properties of essential oil isolated from Turkish Origanum actitudens and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. Bioresource Technology. 99: 8788- 8795.
- Kritzinger Q, Aveling T, Marasas W. 2002. Effect of essential plant oils on storage fungi, germination and emergence of cowpea seeds. Journal of Seed Science and Technology 30:609-619.

- Kubeczka K. H., V. Formacek V. 2002. Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon-13 nmr spectroscopy. 2a ed. Editorial John Wiley; Nueva York; Chichester, England. P. 461.
- Lambert RJW, Skandamis PN, Coote PJ, Nychas GJE. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology* 91:453-462.
- Leslie J.F. and B.A. Summerell (eds.), 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA. P. 212-264.
- Leslie, J. F., Summerell, B. A. and Bullock, S. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. Ed. Blackwell Publishing. 1a Ed. Iowa. EUA, P. 212.
- Lincoln, T., Zeiger, E., (2007). *Fisiología vegetal*, (4ª. Ed.) Metabolitos secundarios (pp.529-540).
- López Belchi, M.D. 2008. Toxicidad volátil de monoterpenoides y mecanismos bioquímicos en insectos plaga del arroz almacenado. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- Lot, H., Chovelon, V., Souche, S., and Delecolle, B.1998. Effects of onion yellow dwarf and leek yellow stripe viruses and yield loss of three French garlic cultivars. *Plant Disease* 82:1381-1385.
- Macías V. M., F. J. Robles, E. y R. Velásquez V. 2000. Guía para que los productores de ajo seleccionen su semilla. Folleto para productores Núm. 27. Campo Experimental Pabellón –INIFAP. Aguascalientes, Ags., México. 12 p.
- Magallanes, C., Córdova, C., Orozco, R., 2003. Actividad antibacteriana de extractos tanólicos de macroalgas marinas de la costa central del Perú. *Rev. Peru. Biol.* 10, 125–132.
- Maguna F.P., A. M. Romero, O.A. Garro y N.B.Okulik. 2006. Actividad Antimicrobiana de un grupo de Terpenoides. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas.

- Mena C. J. 2006. Manejo integrado de plagas: una propuesta para el cultivo de ajo. Programa y Memorias. II Foro Nacional de Ajo. Zacatecas, México. 124 p.
- Mendoza, Z. C. 1996. Enfermedades fungosas de hortalizas. Departamento de Parasitología. Universidad Autónoma de Chapingo. Texcoco, México. 85.
- Mendoza, Z. C. 1999b. Enfermedades fungosas de hortalizas y fresa. p. 25-63. In: Hortalizas. Plagas y enfermedades. Ed. Trillas. México, D. F. 544.
- Mendoza, Z. C. y Pinto, C. B. 1985c. Principios de Fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Universidad Autónoma Chapingo. Imprenta Universitaria, Chapingo, México. 311.
- Metcalf, D.A., and C.R. Wilson. 2001. The process of antagonism of *Sclerotium cepivorum* in white rot affected onion roots by *Trichoderma koningii*. Plant Pathology. 50: 249-257.
- Michielse, C. B. and Rep, M. 2009. Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. Journal Molecular Plant Pathology, 10:311-24.
- Montes B. R., Nava J. R. A., Flores M. H. E. y Mundo O. M. 2003. Hongos y nematodos en raíces y bulbos de cebolla (*Allium cepa* L.) en el estado de Morelos, México. Revista Mexicana de Fitopatología 21:300-304.
- Naeini, A.; Ziglari, T.; Shokri, H., y Khosravi, A. R. 2010. Assessment of growth inhibiting effect of some plant essential oils on different *Fusarium* isolates *Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology*, 20(3),174-178.
- Ortodena, M.; Guarro, J.; Madrid, M.; Caracuel, Z.; Ronchero, M. I.; Mayayo, E.; 2004. *Fusarium oxysporum* as a multihost model for the genetic dissection of fungal virulence in plants and mammals. Infection and Immunity 72: 1760-1766.
- Ortuño MF. 2006. Métodos de obtención de aceites esenciales. En: Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Aiyana Ediciones Murcia, España. 20-62p.

- Ortuño S M. F. 2006. Manual Práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes.España. Ed.AIYANA, pp.51-111.
- Özcan MM, Fahad Y, AL Juhaimi. 2011. Antioxidant and antifungal activity of some aromatic plant extracts. Journal of Medicinal Plants Research 5:1361-1366.
- Pal, K. K. and B. McSpadden Gardener. 2006. Biological control of plant pathogens. The Plant Health Instructor, 10:1094.
- Palmero D., M. De Cara, C. Iglesias, M.M. Moreno, N. González and J.C. Tello, 2012. First report of *Fusarium proliferatum* causing rot of garlic bulbs in Spain. Plant Disease 94, 277.
- Pereira J.C., Chávez G.M., Zambolim K.L., Acuna R.S. y DoVale F.X.1996. Control de *Sclerotium cepivorum* con el Uso de Vermicomposta, Solarización y *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*. Summa-Phytopalogica. 22: 228-234.
- Pérez M. L., Santiago G. D., Rico J. E., Ramírez M. R. y Mendoza C. B. 2008. Efecto de virus fitopatógenos sobre características agronómicas y calidad del ajo (*Allium sativum* L.), en el estado de Guanajuato, México. Revista Mexicana de Fitopatología 26:40-48.
- Pérez M.H., Arévalo V.A y Narro S. J.2002. Evolución de la Efectividad Biológica de Nematicidas para el Control del Nematodo (*Ditylenchus dipsaci* Kuhn) Filipjev en Ajo. CEBAJ-INIFAP. P 83-101.
- Pérez- Moreno, L., J. Sánchez- Pale, and A.R. Entwistle. 1998. Control de la pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk.) del ajo (*Allium sativum* L.) con esterilizantes en la zona del bajío, México. Revista de Fitopatología. 16: 72-78.
- Pérez-Moreno, L., Córdova-Rosales, Z. V., Rico-Jaramillo, E., Ramírez-Malagón, R., Barboza-Corona, E., Zuñiga-Zuñiga, J., Ruiz-Castro, S. y Silva-Rosales, L. 2007. Identificación de virus fitopatógenos en ajo (*Allium sativum* L.) en

- el estado de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25:11-17.
- Ravi Sankar N. 2012. First Report of *Fusarium proliferatum* causing rot of garlic bulbs (*Allium sativum*) in India. *Plant Disease* 9 290.
- Reveles H. M., Velásquez V. R. y Bravo L. A. G. 2009. Tecnología para cultivar ajo en Zacatecas. Libro Técnico No. 11. Campo Experimental Zacatecas – INIFAP. Calera de V. R., Zacatecas, México. P. 272.
- Reveles, H. M. y Rubio, D. S. 2006. Panorámica del ajo y su cultivo en Zacatecas (primera parte). *Zacatecas en la producción* 1:Pp. 3-5.
- Rojas-Fernández, J.A., Balza-Quintero, A., Marcano, V., Rojas, P.A., Dávila-Vera, D., Peña-Contreras, Z., Mendoza-Briceño, R.V., Palacios-Prü, E., 2008. Metabolitos secundarios de líquenes de la zona nival de la Sierra Nevada de Mérida-Venezuela y su papel en la absorción de la radiación ultravioleta. *Anales Jard.Bot. Madrid* 65, 59–72.
- Rubio, R. G.; Baltodano S. F.; Abanto C. L.; Wilson K. J.; y Muñoz R. M. 2008. Resistencia *in vitro* de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* a los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai-WP. *Revista Biológica de la Universidad de Trujillo, Perú.* 28 (2), 34-46.
- Ruiz López L. 2004. Tratamiento poscosecha contra *Fusarium roseum* en melón reticulado (*cucumis melo L.*), *Revista Iberoamericana de Tecnología Poscosecha*, enero, año/vol. 6, numero 002. Asociación Iberoamericana de Tecnología Poscosecha, S.C. Hermosillo, México pp. 110-116.
- Sanabria, N.; Guadarrama, A.; Romero, H.; 2002. Caracterización de especies de *Fusarium* mediante patrones electroforéticos de proteínas. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia.* 28:161-173.
- Santos C., E., E. de Oliveira L., S. Leite E. and F. Barbosa de S. 2008. Effect of *Cinnamomun zeylanicum* blume essential oil on the grow and morphogenesis of some potentially pathogenic *Aspergillus* species, *Brazilian Journal of Microbiology.* 39; 91-97.

- Sarin, R (2005) Useful metabolites from plant tissue cultures. *Biotechnology* 4:79-93
- Shilpa, K, Varun K, Lakshmi BS (2010) An alternate method of natural drug production: Eliciting secondary metabolite production using plant cell culture. *J Plant Sci* 5:222-247.
- SIAP, 2013. Producción de ajo en México por estado productor Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <http://www.siap.gob.mx> 19/05/2015.
- Singh G, Maurya S, De Lampasona MP, Catalan C. 2007. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food and Chemical Toxicology* 45:1650-1661.
- Sivasithamparam, K. and Ghisalberti E.L. 2002. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*, in: *Trichoderma and Gliocladium*. Vol. 1. C. P. Kubicek and G. E. Harman, eds. Taylor & Francis, London, P. 141.
- Souza E, Lima E, Freire K, Paiva C. 2005. Inhibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of various moulds isolated from foods *Braz Arch Biol Technol.* 48:245-50.
- Stankovic S., J. Levic, T. Petrovic, A. Logrieco and A. Moretti, 2007. Pathogenicity and mycotoxin production by *Fusarium proliferatum* isolated from onion and garlic in Serbia. *Plant Pathology* 11: 165– 172.
- Stepien L., G. Koczyk and A. Waskiewicz, 2011. Genetic and phenotypic variation of *Fusarium proliferatum* isolates from different host species. *Journal of Applied Genetics* 5: 487– 496.
- Sumalan, R. M.; Alexa, E., y Poiana, M. A. 2013. Assessment of inhibitory potential of essential oils on natural mycoflora and *Fusarium* mycotoxins production in wheat. *Chemistry Central Journal*, 7(1), 1-12.
- Sward, R. J. and Brennan, A. P. 1994. Diagnosis and control of *Allium* virus diseases in Victoria, Australia. *Acta Horticulturae* 358:295-298.

- Takaichi, M., Nagakubo, T., and Oeda, K. 2001. Mixed virus infections of garlic determined by a multivalent antiserum and virus effects on disease symptoms. *Plant Disease* 85:71-75.
- Thorne, G. 1968. *Principles of Nematology*. McGraw Hill Book Co. Inc. New York, cap. 6:115-158.
- Trapman, M. 2004. Evaluation of grapefruit seed extract as natural fungicide to control apple scab in organic apple growing. *In*: Boos, M. (Ed.). *Ecofruit 11th international conference on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing: proceedings to the Conference from 3th February to 5th February, 2004 at Weinsberg/Germany* 202-207. p.
- Tripathi P., D., N. K. Benerji R. and P. N. Chansouria J. 2004. Evaluation of some essential oil as botanical fungitoxicants in management of post-harvest rotting of citrus fruit. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 20: 317-321.
- Tullio V., A. Nostro, N. Mandras, P. Dugo, G. Bache, and A. Carlone. 2007. Antifungal activity of essential oils against filamentous fungi determined by broth microdilution and vapour contact methods. *Journal of Applied Microbiology*. 10:1544-1550.
- Ulacio D., Zavaleta E., García R., Delgadillo F., Pedroza A. y Martínez. 2003. Materia orgánica y microorganismos antagonistas como estrategias de un manejo de *Sclerotium cepivorum* Berk. y su impacto en el en el progreso de la pudrición blanca en ajo *Allium sativum* L. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21: 346-354.
- Ulacio-Osorio, D., E. Zavaleta-Mejía, y R. García- Espinosa. 2003. Materia orgánica y microorganismos antagonistas como estrategia de manejo de *Sclerotium cepivorum* Berk. y su impacto en el proceso de la pudrición blanca en ajo (*Allium sativum*L.) *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21: 346-354.

- Velásquez, V. R. y Amador, R. M. D. 2009. Enfermedades bióticas de ajo y chile en Aguascalientes y Zacatecas. Libro Técnico No. 9. Campo Experimental Zacatecas CIRNOC-INIFAP. P. 187.
- Velásquez, V. R. y Medina, A. M. M. 2004a. Características Vegetativas de Variedades de Ajo *Allium sativum* L. Infectadas por *Fusarium* spp. Revista Mexicana de Fitopatología. 22: 436-437.
- Velásquez, V. R. y Medina, A. M. M. 2004b. Guía para conocer y manejar las enfermedades más comunes de la raíz del ajo en Aguascalientes y Zacatecas. Folleto para Productores Núm. 34. Campo Experimental Pabellón. INIFAP. Aguascalientes, Ags., México. P. 18.
- Velásquez, V. R., Reveles, H. M. y Medina, A. M. M. 2011. Ecología del hongo causante de la pudrición blanca del ajo y la cebolla y saneamiento de parcelas infestadas. Folleto Técnico No. 32. Campo Experimental Zacatecas, CIRNOC-INIFAP, 24 p.
- Von Woedtke T, Schluter B, Pfliegel P, Lindequist U, Julich WD. 1999. Aspects of the antimicrobial efficacy of grapefruit seed extract and its relation to preservative substances contained. *Pharmazie*, 54(6):452-456.
- Wink, M. 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry* 64: 3–19.
- Zavaleta E. 1999. Alternativas de Manejo de Enfermedades de las Plantas *Terra*. 17: 202-220.
- Zulueta-Rodríguez R, Trejo-Aguilar D, Trigos-Landa A. 2007. Maravillosos mundo de los hongos. Editorial Universidad Veracruzana, Xalapa Veracruz, México. 91-102 p.

APENDICES

Cuadro 1A. Porcentaje de inhibición para cada uno de los extractos vegetales con respecto al patógeno *S. cepivorum*.

EXTRACTOS	PPM	% INHIBICIÓN
	50	4.66
	100	-4.44
CLAVO	150	1.57
	200	9.10
	250	17.72
	300	26.07
	50	-4.12
	100	-9.05
CITRICOS	200	-6.55
	400	-7.70
	800	49.57
	1200	-3.17
	50	2.14
	100	-5.95
LIMON	200	-11.32
	400	-4.44
	800	-14.04
	1200	-19.58

Cuadro 2A. Reducción de esclerocios en % de *S. cepivorum*.

	50 ppm	100 ppm	200 ppm	400 ppm	800 ppm	1200 ppm
Cítricos	13.165	18.992	23.021	29.318	39.025	47.84
Limón	5.601	7.273	14.07	17.325	25.717	29.318
	50 ppm	100 ppm	150 ppm	200 ppm	250 ppm	300 ppm
Clavo	73.37	75.05	75.07	81.4	94.07	98.09

Cuadro 1B. Porcentaje de inhibición para cada uno de los extractos vegetales con respecto al patógeno *S. sclerotiorum*.

EXTRACTOS	PPM	% INHIBICIÓN
CLAVO	50	4.08
	100	8.61
	150	7.53
	200	6.32
	250	5.23
	300	7.61
CITRICOS	50	-14.10
	100	49.30
	200	3.38
	400	10.75
	800	57.04
	1200	-3.89
LIMON	50	-4.98
	100	5.64
	200	-1.69
	400	15.22
	800	6.70
	1200	17.22

Cuadro 2B. Reducción de esclerocios en % de *S. sclerotiorum*.

	50 ppm	100 ppm	200 ppm	400 ppm	800 ppm	1200 ppm
Cítricos	32.86	40	41.43	45.71	51.43	60
Limón	4.29	32.86	41.43	41.43	45.71	51.43
	50 ppm	100 ppm	150 ppm	200 ppm	250 ppm	300 ppm
Clavo	29.33	32	48	52	62.67	72