

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Y AGROPECUARIAS
DIVISION DE CIENCIAS AGRONOMICAS



"CONTROL DE ALGUNOS HONGOS FITOPATÓGENOS CON
EXTRACTOS VEGETALES"

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTA:

LOPEZ TELLO JORGE MARTIN

SALAS ORTEGA MARIA ROSA

Las Agujas Mpio. de Zapopan, Jal. 1995



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE AGRONOMIA

SECCION COM. DE TIT.

EXPEDIENTE
1059/93

NUMERO

Octubre 29 de 1993

C. PROFESORES:

M.C. GIL VIRGEN CALLEROS, DIRECTOR
Q.F.B. ANGEL PEREZ ZAMORA, ASESOR
ING. JOSE SANCHEZ MARTINEZ, ASESOR

Con toda atención me permito hacer de su conocimiento, que habiendo sido aprobado el Proyecto del Trabajo de Titulación:

"CONTROL DE ALGUNOS HONGOS FITOPATOGENOS CON EXTRACTOS VEGETALES".

el cual fué presentado por:

LOPEZ TELLO JORGE MARTIN

y

SALAS ORTEGA MARIA ROSA

han sido Ustedes designados Director y Asesores respectivamente para el desarrollo de la misma.

Ruego a Ustedes se sirvan hacer del conocimiento de este Comité su Dictamen en la revisión del mencionado Trabajo. Entre tanto me es grato reiterarle las seguridades de mi atenta y distinguida consideración.

ATENTAMENTE

"PIENSA Y TRABAJA"

EL PRESIDENTE DEL COMITE DE TITULACION

M.C. SALVADOR MENA MUNGUIA



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE AGRONOMIA

SECCION COM. DE TIT.
EXPEDIENTE 1060/93
NUMERO _____

Octubre 29 de 1993

**M.C. SALVADOR MENA MUNGUA
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
PRESENTE**

Habiendo sido revisada la Tesis del (los) Pasante(s) _____
LOPEZ TELLO JORGE MARTIN SALAS ORTEGA MARIA ROSA

titulada:

"CONTROL DE ALGUNOS HONGOS FITOPATOGENOS CON EXTRACTOS VEGETALES".

damos nuestra Aprobación para la Impresión de la misma.

DIRECTOR

M.C. GIL VIRGEN CALLEROS

ASESOR

Q.F.B. ANGEL PEREZ ZAMORA

ASESOR

ING. JOSE SANCHEZ MARTINEZ

aom

MEM

LAS AGUJAS,
MUNICIPIO DE ZAPOPAN, JALISCO

AGRADECIMIENTOS

I

A la Universidad de Guadalajara.

Particularmente a la División de Ciencias Agronómicas por formarnos como profesionistas.

A nuestros sinodales:

Al M.C. Gil Virgen Calleros por la dirección del presente trabajo y aportar sus conocimientos y sugerencias.

Al M.C. José Sánchez Martínez por apoyarnos en el desarrollo del presente trabajo y por su gran amistad.

Al Q.F.B. Ángel Pérez Zamora por su valiosa colaboración en el desarrollo y culminación del presente proyecto.

Al Departamento de Ciencias Ambientales.

En especial al Doctor Eduardo López Alcocer, al Ing. Rafael Canales Santos, al Ing. Juan Pedro Corona Salazar, al asistente de dirección Imelda Navarro Pérez y al Ing. Roberto Esparza Santana: a todos ellos por las facilidades brindadas y el apoyo desinteresado en el desarrollo del presente trabajo.

Al Instituto de Botánica.

Especialmente: M.C. Gregorio Nieves Hernández, M.C. Hector Luquín Sánchez y al Biol. Ofelia Vargas Ponce por el material y bibliografía facilitada para el desarrollo del proyecto.

A la memoria de mis padres:

J. Jesús López Hernández (+)

Benita Tello Ramírez (+)

A mi esposa Teresa Ochoa Núñez por apoyarme y colaborar siempre conmigo

A mis hermanos:

Bertha, Rocío, Victoria, Gloria, José, Javier, Jesús,
Carlos y a la memoria de Cecilia (+).

A mis compañeros y amigos:

Juanita López N., Juanita Palacios L., Elizabeth Ruiz R., Rosa Salas O., Lily González C., Liliana Moreno M., Gabriela López O., Virginia Cabrera F., Apolonio Alvarez V., Omar Macias C., Mario Vázquez Gómez, Víctor Velazco O., Ricardo Flores O., Pedro Alvarez O., y al maestro Salvador González L.,

Jorge Martín López Tello

A mi madre:

María Trinidad Ortega Olmedo:

Como símbolo de gratitud por el apoyo y esfuerzo realizado durante mis años de estudio para lograr mi realización profesional, que constituye la herencia más valiosa que pudiera recibir.

A mis hermanos:

Bertha, Salvador, Soledad, Francisca, Guadalupe, Ignacio, Luz María, Gustavo y Gabriela.

Por el cariño y respeto que siempre nos mantendrá unidos.

A mis compañeros de laboratorio y amigos:

Juanita López N., Juanita Palacios L., Jorge Martín López T., Mario Vásquez G., Liliana Moreno M., Gabriela López O., A.L.O.C., Bertha Alicia Díaz de la C., Victor Velazco O., Lily González C., Omar Macias C., Delia Contreras R., Elizabeth Ruiz R., Rafaela., Refugio., Martha Morales G., Virginia Cabrera F. A ellos muchas gracias por su amistad incomparable.

María Rosa Salas Ortega

III. MATERIALES Y METODOS _____	47
3.1 Descripción del área de estudio_____	47
3.2 Especies utilizadas y lugar de colecta_____	47
3.3 Preparación de extractos_____	48
3.4 Aislamiento de fitopatógenos_____	48
3.5 Prueba de inhibición de la germinación_____	49
3.6 Análisis estadístico_____	50
IV. RESULTADOS_____	51
V. DISCUSIÓN_____	58
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES_____	60
6.1 Conclusiones_____	60
6.2 Recomendaciones_____	61
VII. RESUMEN_____	62
VIII. LITERATURA CITADA_____	63

INDICE DE CUADROS

Cuadro No	Pág.
Cuadro 1. Eficiencia de los extractos vegetales acuosos y por ciento de germinación de las conidias de <i>Botrytis</i>	52
Cuadro 2. Eficiencia de los extractos vegetales acuosos y por ciento de germinación de uredosporas de <i>Phragmidium</i>	54
Cuadro 3. Eficiencia de los extractos vegetales acuosos y por ciento de germinación de las uredosporas de <i>Puccinia</i>	56

INDICE DE FIGURAS

Figura	No	Pág.
Figura	1. Ciclo de vida de <i>Botrytis</i> _sp._____	6
Figura	2. Ciclo de vida de <i>Alternaria</i> _sp._____	9
Figura	3. Ciclo de vida de <i>Puccinia</i> _sp._____	12
Figura	4. Ciclo de vida de <i>Phragmidium</i> _sp._____	15
Figura	5. Esquema morfológico de <i>Melia azaderach</i> __	30
Figura	6. Esquema morfológico de <i>Trichilia hirta</i> __	32
Figura	7. Esquema morfológico de <i>Manfreda guttata</i> __	35
Figura	8. Esquema morfológico de <i>Manfreda</i> <i>jaliscana</i> _____	37
Figura	9. Esquema morfológico de <i>Prochnyanthes</i> <i>mexicana</i> _____	40
Figura	10. Esquema morfológico de <i>Sprekelia</i> <i>formosissima</i> _____	43

I. INTRODUCCIÓN

La agricultura representa la base en la alimentación para la humanidad. Desde hace varios años el hombre ha luchado por combatir los problemas que afectan los cultivos, siendo uno de los más graves el desarrollo de enfermedades causadas por diversos fitopatógenos. Se calcula que el 80% de las enfermedades en todas las plantas es provocado por estos microorganismos. Entre las plantas más afectadas por hongos se encuentran los frutales, las ornamentales y en general todas las hortalizas, así como una gran diversidad de productos almacenados. Diferentes métodos de control se han utilizado para reducir el efecto de dichos patógenos, entre ellos el uso de fungicidas sintéticos. Sin embargo, la demanda del público para evitar el uso indiscriminado de fungicidas en la agricultura, ha motivado la búsqueda de alternativas de control, sobre todo desde que en 1987 el N.R.C. (National Research Council) reportó que el 60% de los fungicidas son oncogénicos. Una alternativa prometedora para el control de hongos fitopatógenos es la utilización de extractos vegetales, algunos de los cuales pueden inhibir la germinación de las conidias de dichos hongos. Estos mismos extractos poseen propiedades insecticidas y medicinales.

Algunas plantas de las familias *Meliaceae* y *Liliaceae* poseen entidades fungicidas o fungistáticas que tienen un potencial de inhibición muy favorable; además, no ocasionan daños en los ecosistemas y no alteran la cadena trófica en los mismos.

El uso de extractos vegetales como medida de control de enfermedades fungosas representa una buena alternativa en el desarrollo de fungicidas naturales, con lo cual se puede enfatizar que se evitarán problemas de residualidad y contaminación.

1.1 Objetivo.

En base a lo anterior, se plantea lo siguiente:

Evaluar el efecto de extractos acuosos de plantas de las familias Liliaceae (*Manfreda guttata*, *Manfreda jaliscana*, *Prochnyanthes mexicana* y *Spreckelia formossisima*) y Meliaceae (*Melia azedarach* y *Trichilia hirta*) sobre los hongos fitopatógenos *Alternaria solani*, *Botrytis cinérea* y *Phragmidium disciflorum*.

II. REVISION DE LITERATURA

Los hongos son organismos del reino Fungi, consistentes en un talo carente de clorofila. El hábitat de los hongos es amplísimo: se encuentran en el suelo, en el agua, sobre plantas y animales; pueden desarrollarse en condiciones climáticas muy variadas; algunos a temperaturas de cerca de 0°C, otros a temperaturas tan altas como 40 a 50°C. Además, el 80% de las enfermedades son causadas por éstos y están dentro del grupo de las enfermedades bióticas o infecciosas. Los hongos contienen quitina en las paredes de la hifas; poseen núcleos y nucléolos con membranas bien definidas, y soma compuesto de filamentos tubulares llamados hifas. Los hongos producen esporas que son similares en función a las semillas de las plantas superiores; sin embargo, semillas y esporas difieren morfológicamente, ya que las esporas no tienen tejidos diferenciados como las semillas. Algunos hongos no forman esporas (Zenteno y Zevada, 1974).

2.1. Importancia de las Enfermedades en Estudio

Enfermedades causadas por *Botrytis* sp.

Etiología. Conidióforos largos y delgados, hialinos y pigmentados con ramificaciones cerca del apéndice, algunas veces dicotómicamente; las células apicales alargadas o redondeadas sobre las cuales se encuentran los conidios hialinos o dando coloraciones grisáceas cuando están en masas, son unicelulares y ovoides, y forman esclerocios negros irregulares.

Importancia.- Este hongo ocasiona pudriciones y tizones en frutos, flores y hojas en cultivos como el apio, berenjena, cártamo, haba, chile, fresa, jitomate, lechuga, cebolla, zanahoria, y en frutales como: vid, cerezo, ciruelo y manzano. También ocasiona pudriciones y tizones en muchas plantas ornamentales, como: violeta, begonia, caléndula, camelia, crisantemo, dalia, perrito, geranio, lila, peonia, nochebuena, rosal, etc. En todas ocasiona pérdidas en calidad y en cantidad, tanto en almacenamiento, como durante el transporte y en el campo; con exceso de humedad sus ataques son muy severos y las pérdidas pueden ser totales.

Síntomas.- Las plantas pueden ser afectadas en cualquier fase de su desarrollo en el campo, invernadero, transporte y en el almacenamiento. En el campo y almacén, sobre los cultivos con partes suculentas causa pudriciones que avanzan rápidamente; en cultivos con partes no muy suculentas ataca sus hojas, tallos y les ocasiona tizones.

El primer síntoma son manchas oscuras de consistencia blanda en la base del tallo o peciolo de las hojas, con aspecto de moho gris blanco que es característico de *Botrytis*.

Ciclo.- El hongo inverna como micelio y esclerocios sobre los residuos de cosechas y en el suelo, germinan y producen conidióforos que pueden atacar plántulas al nivel del cuello y en plantas infectan flores, hojas y frutos; donde germina, ocasionan las pudriciones que forman la capa o moho gris, y atacan otras

plantas. (fig 1); cuando las condiciones son favorables forman las pudriciones, las cuales le sirven como estructuras de sobrevivencia (Mendoza y Pinto, 1983).

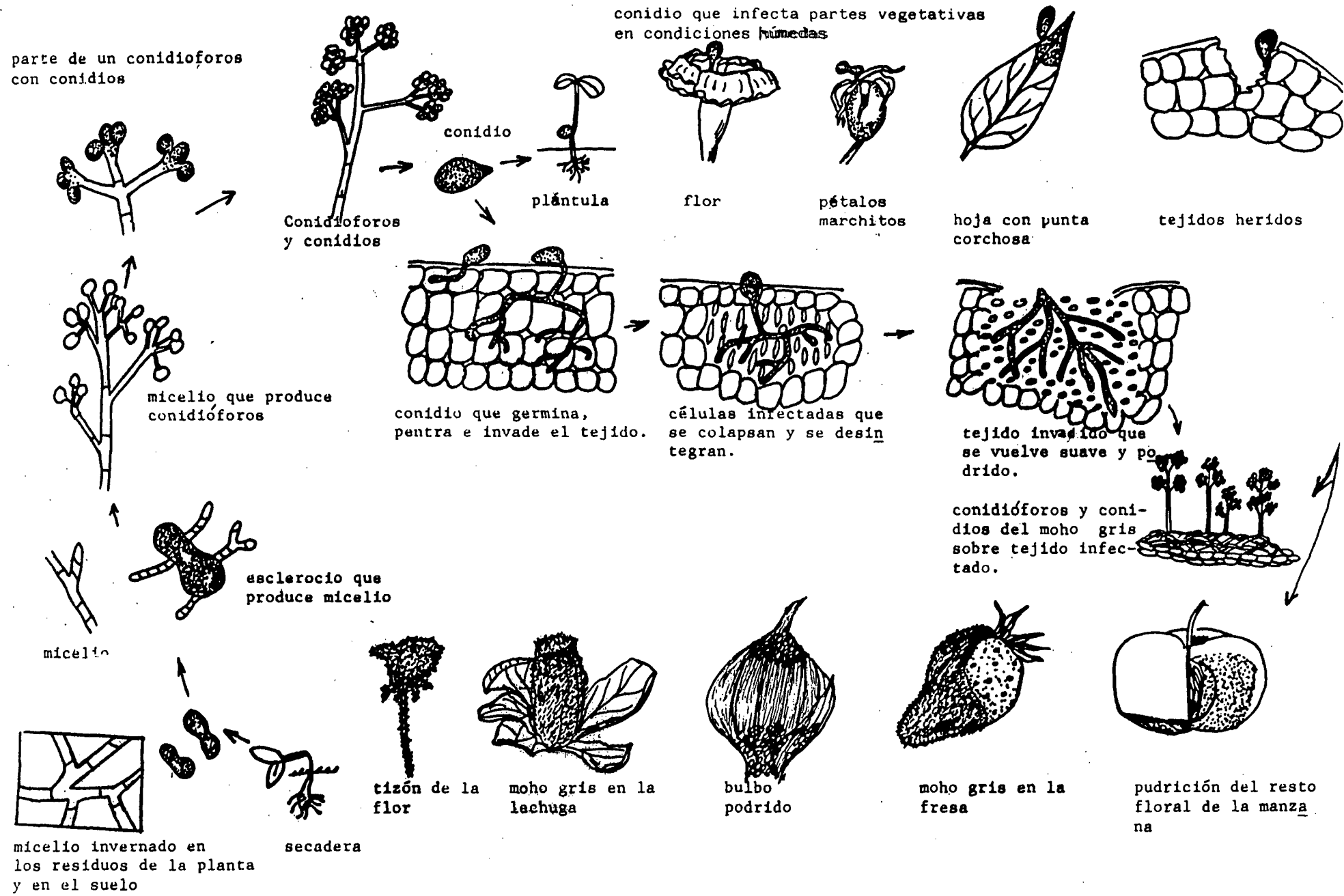


Fig. 1 Ciclo patológico de *Botrytis* sp. (Agríos 1978).

Alternaria solani.

Etiología.- Conidióforos oscuros simples cortos y alargados, conidios oscuros, muriformes, o clavados, elípticos a ovoides, presentando en el ápice un apéndice filiforme simple o ramificado, que se forma en cadena.

Importancia: ataca a la papa, tomate, berenjena, ocasionando tizones en hojas y pudriciones de frutos y tubérculos.

Síntomas: la enfermedad se presenta en hojas, tallos y frutos, en cualquier época del desarrollo del cultivo; cuando ataca en estado de plántula, éstas presentan una pudrición del cuello en el tallo al nivel del suelo, ("Damping - off").

Si se presenta en plantas desarrolladas, las hojas atacadas aparecen inicialmente con manchas circulares o angulosas de color café oscuro a negro, y forman anillos concéntricos, dándole apariencia típica, las manchas pueden dañar toda la hoja. Las hojas atacadas se tornan amarillas y se caen. Si el ataque es severo se defolia toda la planta, además deja los frutos expuestos a quemaduras por la acción del sol. En los tallos y ramas, las lesiones son alargadas con anillos concéntricos.

Daños: depende de la susceptibilidad de la planta y de las condiciones de humedad ambiental; pero en algunas regiones ha llegado a ocasionar pérdidas hasta del 30 % en ciertos cultivos, en condiciones favorables para su desarrollo. La enfermedad es más grave durante la fructificación.

Ciclo de la Enfermedad: puede sobrevivir por más de un año en los residuos de las plantas atacadas, como conidios sobre la semilla (Fig 2), contribuyendo a ello los días lluviosos o húmedos y a temperatura del aire de 24 °C. Los factores que la favorecen son humedad relativa alta, lluvias frecuentes, temperatura de 20 a 28 °C. y baja fertilidad (Mendoza y Pinto, 1983).

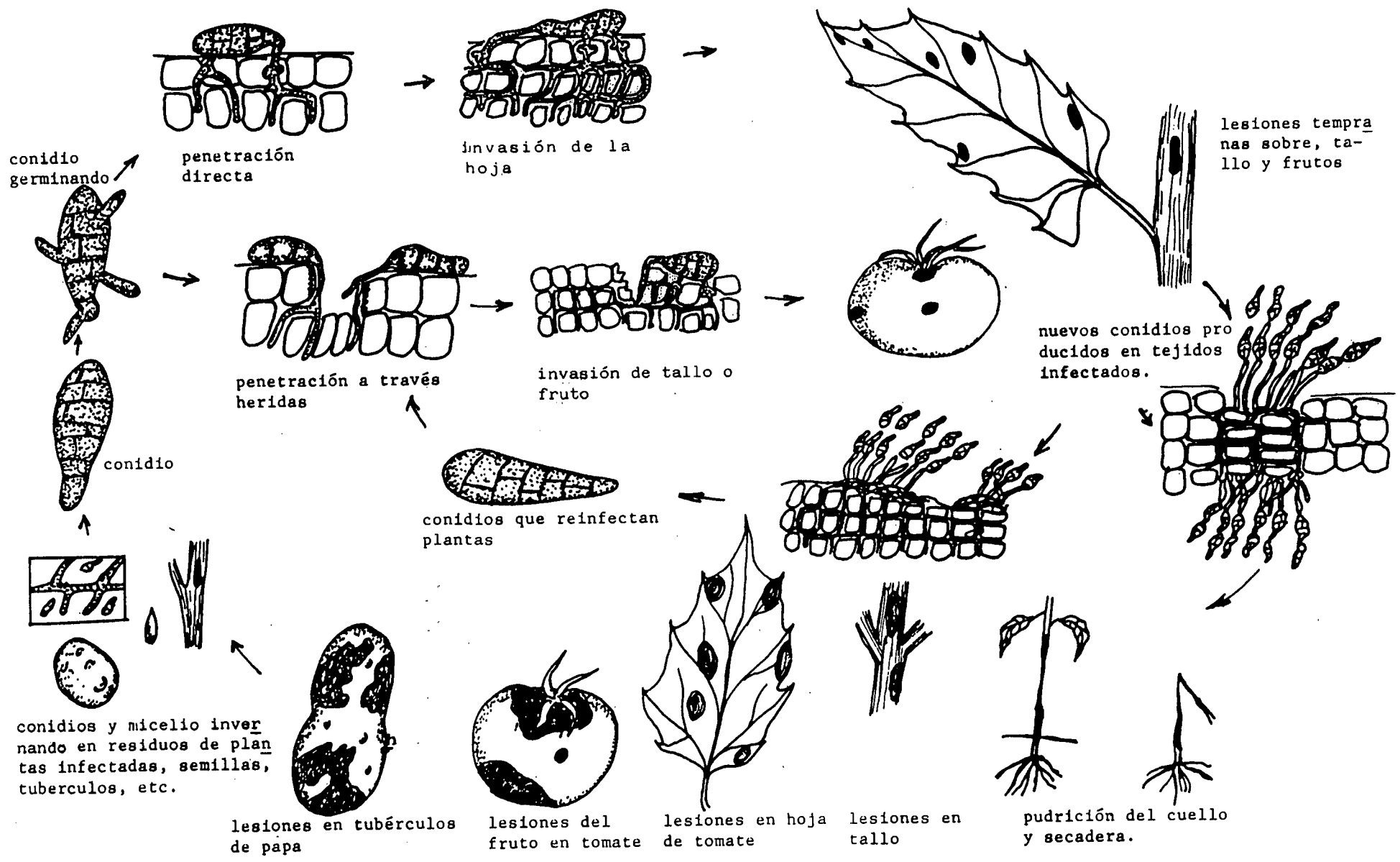


Fig. 2 Ciclo patológico de *Alternaria* sp. (Agríos 1978).

Puccinia sorghi. Roya común del maíz.

Etiología.- teliosporas bicelulares con la célula apical más o menos redondeada de pared gruesa, color café oscuro, uredosporas más o menos esféricas, de pared delgada, color amarillo pálido y equinuladas (Mendoza y Pinto, 1983).

Distribución: está ampliamente distribuido en el mundo, principalmente en los climas templados ocasionando mayores daños a los maíces tropicales que se siembran en la altiplanicie.

Síntomas: puede atacar el maíz en cualquier edad pero sus síntomas son más visibles cuando las plantas están cerca de la floración; observándose pústulas pequeñas que se desarrollan en el haz y envés de las hojas. Pústulas alargadas de color café oscuro (uredosporas) en los primeros estados de la infección; conforme más tardan en madurar las plantas, las lesiones toman un color negro (teliosporas).

Daños: en plantas pequeñas y en condiciones favorables, causa secado de hojas; en plantas mayores sólo causa debilitamiento y pérdida de vigor, lo que redunda en una baja producción; sin embargo, esta merma no ha sido calculada en México.

Ciclo de la Enfermedad: este hongo es heteroico, tiene como hospedero alternante al agritos (*oxalis corniculata*), en donde se presentan pústulas color anaranjado claro que son las eciosporas del hongo, también en él se forman las picniosporas (fig 2).

Algunas uredosporas también sobreviven en el invierno en los residuos de cosecha e infectan al maíz en la primavera siguiente. (Mendoza y Pinto, 1983).

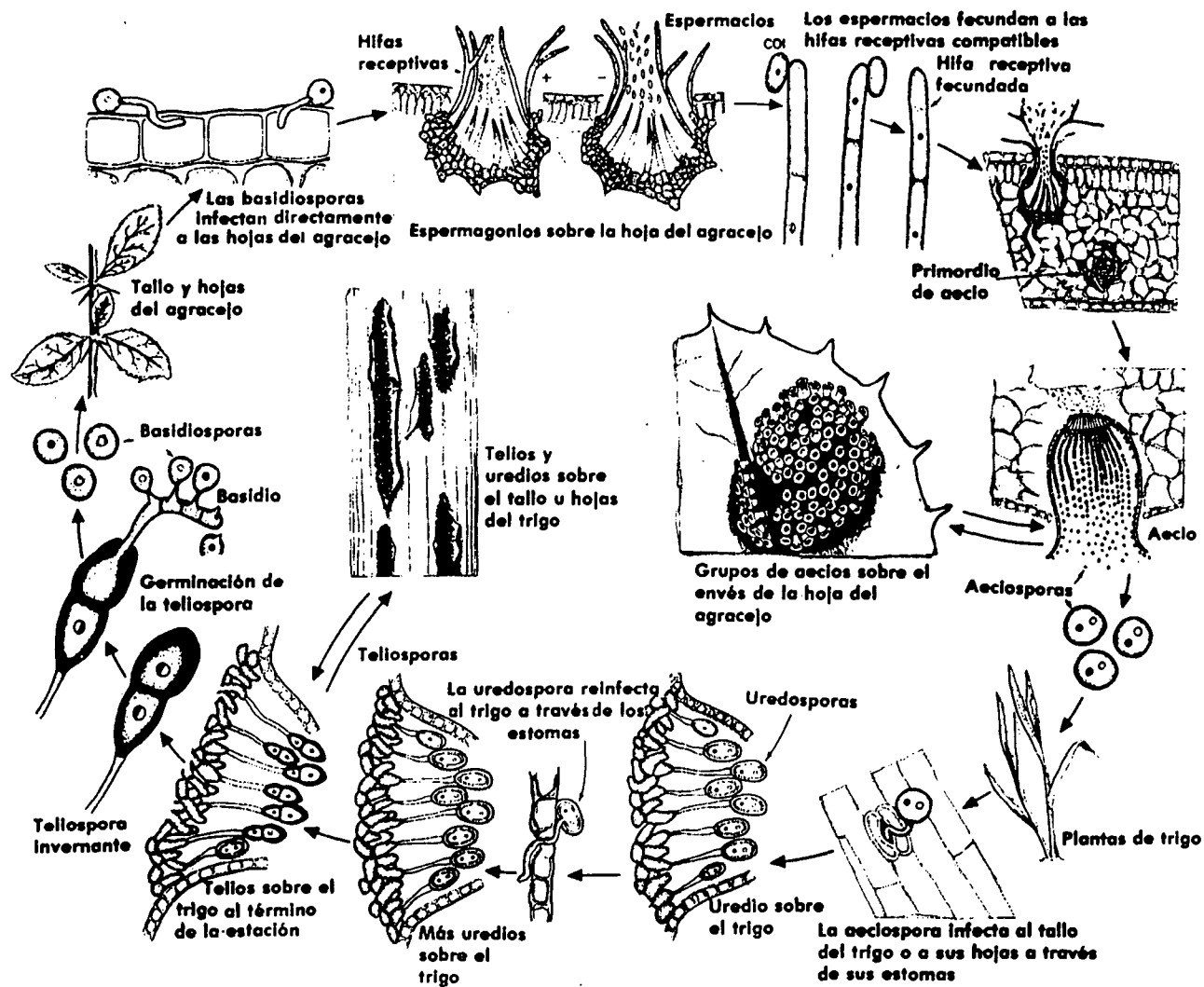


Fig. 3 Ciclo patológico de la roya producida por *Puccinia sp.* (Agríos, 1978).

Phragmidium disciflorum. Roya del rosal.

Es también frecuente que los rosales sean atacados de roya; la especie más común, aunque no la única, es *Phragmidium disciflorum* o sea, que todo el ciclo se desarrolla en la misma planta. En los años húmedos puede producir grandes daños, provocando la caída de las hojas, en las variedades más finas, la desecación de las ramas y aún de la planta. No todas las variedades son igualmente afectadas; según Oven, (1989), los rosales deté, los enanos y los híbridos de té son los más resistentes, mientras que algunas variedades reflorescentes son intensamente atacadas.

Caracteres Externos y Biológicos: comienza a manifestarse la roya en primavera por su fase ecídica, apareciendo en las hojas, en los pecíolos y ramas jóvenes manchas amarillas, esparcidas, después concluyentes.

Las manchas acídicas producen hacia la parte superior de las hojas, pícnicos, y por la inferior pústulas amarillas, que son los ecidiosporos, productores de ecidiosporas. Estas, al germinar sobre una hoja, comunican nueva infección y a continuación se producen los uredosporos de color naranja, productores de uredosporas (fig 3).

En verano y otoño aparecen en el envés de las hojas los teleutosporos, puntos negros de diámetro no mayor de 1/2mm. esparcidos rara vez concluyentes; los teleutosporos producen las teleutosporas, encargadas de cerrar el ciclo; pero no son

indispensables para producir la fase ecídica en la primavera siguiente, pudiendo comenzar la infección por el micelio, capaz de invernar en las ramas del rosal y producir en primavera nuevas ecidias (García-Tejero, 1989).

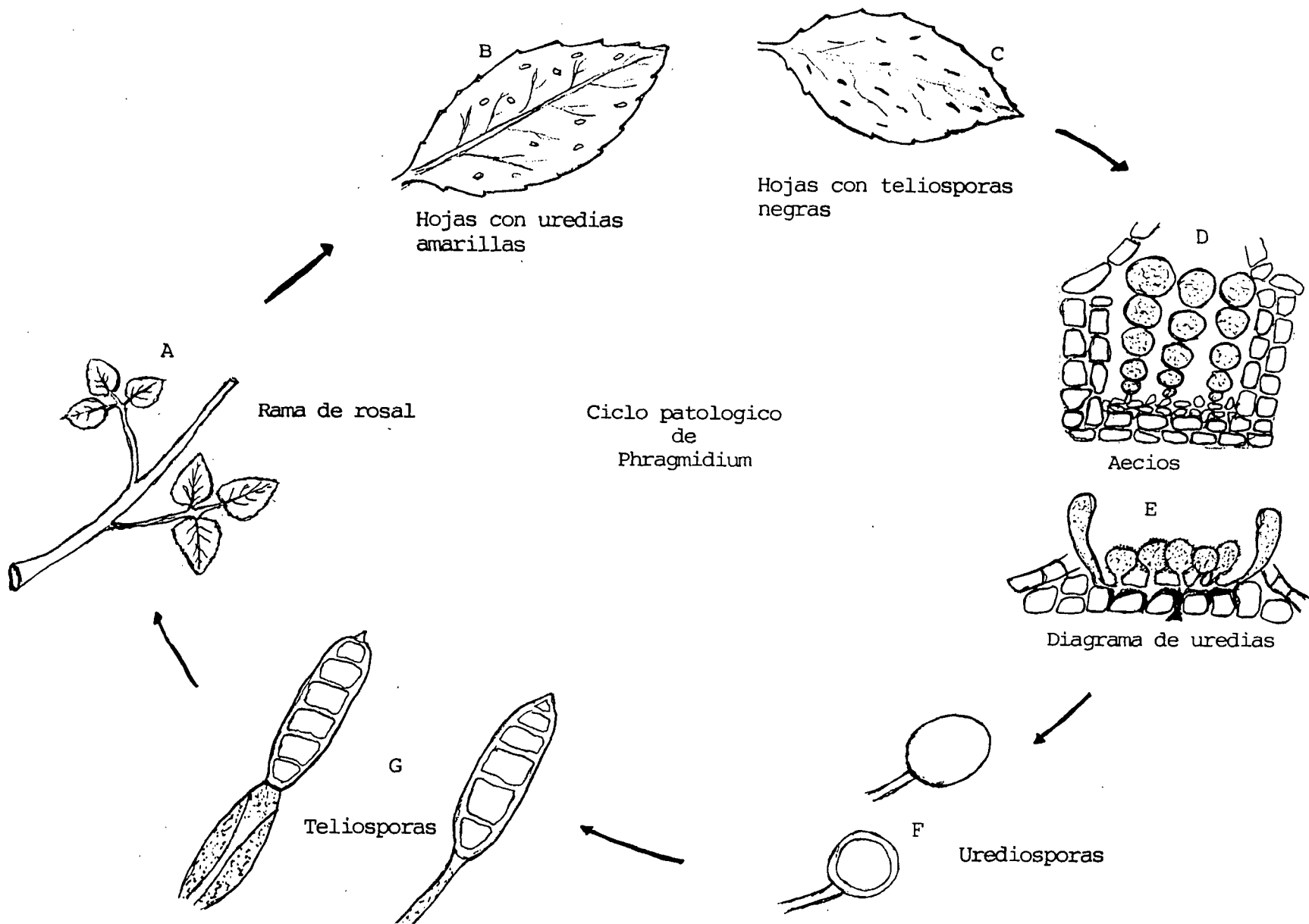


Fig. 4 Ciclo patológico de la roya producida por *Phragmidium* sp. (Agríos 1978).

2.2 Control de enfermedades.

Uno de los medios más eficaces para controlar las enfermedades de las plantas antes mencionadas es el uso de sustancias químicas, o sintéticas. Con frecuencia el control químico es el único medio posible para atacar el problema de las enfermedades, y en general es más económico y eficaz que otros medios. Muchas enfermedades no se pueden controlar con ningún otro procedimiento: la calidad adecuada y el rendimiento de los cultivos requieren que la enfermedad sea controlada mediante sustancias químicas.

En el futuro próximo, el desarrollo de variedades resistentes, satisfactorias y un conocimiento más amplio de las influencias del medio sobre los patógenos permitirán la utilización general de los métodos de cultivo en el control de los mismos; así mismo, proporcionarán medios para sustituir o complementar muchos de los controles químicos actualmente en uso (National Academy of Sciences, 1968).

Fulton (1973), al referirse al control de enfermedades de plantas en los trópicos, indica que estas regiones reúnen problemas característicos que en conjunto forman un modelo único compuesto por: a) ecoclima óptimo, b) hospedantes susceptibles y c) diversidad de patógenos, por lo que el control químico es un recurso de gran importancia ya que permite cierta estabilidad económica a los países involucrados.

2.2.1 Control químico.

En México el control químico de enfermedades de plantas es frecuentemente empleado para cultivos de alto valor económico.

Desafortunadamente, en ocasiones su uso no es adecuado, ya que, en algunas zonas del país, especialmente en las de mayor desarrollo agrícola, hay una tendencia a aplicar los productos con mayor frecuencia y/o en dosis más altas de lo necesario. Indudablemente, una mejor asistencia técnica deberá traer en los próximos años un mayor aprovechamiento de este recurso que haga más redituable la producción agrícola y a su vez evite el deterioro del ambiente (Bauer, 1991).

Los fungicidas, lo mismo que los otros productos agroquímicos, han experimentado un avance considerable, si bien aún se recurre, como medios fundamentales de defensa, a los métodos clásicos que tuvieron su origen en el siglo pasado.

Los distintos métodos químicos que se utilizan pueden ser preventivos o curativos; los primeros han de aplicarse antes de que se observen síntomas en el vegetal tratado y se destinan a los hongos endoparásitos, ya que, por desarrollar su micelio en el interior de la planta, no es fácil llegar hasta él. En este caso hemos de limitarnos a dar un tratamiento cuando haya peligro de invasión con objeto de que, al caer alguna espora o conidia sobre la planta, se impida su germinación.

Los métodos curativos se emplean para combatir los hongos ectoparásitos como el oídio, ya que su micelio es exterior y fácilmente alcanzable por espolvoreos o pulverizaciones.

Los fungicidas preventivos son, principalmente, compuestos de cobre y ciertas sustancias orgánicas recientemente descubiertas; los curativos son, casi exclusivamente, el azufre y alguno de sus compuestos y un escaso número de compuestos orgánicos (Domínguez, 1989).

2.2.2. Control físico.

La utilización de agentes físicos, fundamentalmente temperatura, humedad y radiación solar, ocupa un lugar relevante en el control de enfermedades en plantas. Su aplicación tiende a la eliminación de patógenos, por ejemplo con prácticas de termoterapia (erradicación), o bien a proteger los productos contra el ataque de diversos agentes causales como en la refrigeración (protección) (Wellman, 1977).

2.2.2.1. Uso de altas temperaturas.

Desinfestación de Suelos.- La aplicación de calor para la desinfestación de suelo, se ha empleado desde el siglo pasado; sin embargo, sus costos limitan su uso, de tal manera que se utiliza sólo para suelo de invernadero y semilleros (Wellman, (1977).

2.2.2.2. Termoterapia.

El tratamiento térmico mediante el uso de agua caliente es empleado en la erradicación de patógenos de material vegetal, principalmente semillas y tubérculos; o sea, de órganos en estado latente. Aunque este tratamiento se sustituye al presente por fungicidas sistémicos cuando se trata de organismos fungosos, aún es muy útil para liberar material infectado por virus. Para partes vegetales tales como yemas, una exposición de varios minutos a varias horas en agua caliente inhibe, e inclusive llega a aniquilar al virus dentro del tejido.

Generalmente se hace una exposición de tres horas a 45-46°C, lo cual no afecta seriamente al hospedante, pero las exposiciones más largas pueden matar a los tejidos (Lozoya y Dawson, 1982). Para material vegetal en desarrollo, el agua caliente es sumamente peligrosa; debido a esto, se han desarrollado técnicas mediante las cuales las plantas completas se mantienen en temperatura de 35-40°C durante períodos que fluctúan desde varias semanas hasta varios meses. A menudo el virus se elimina de las puntas de las plantas tratadas pero no de las raíces, por lo que se puede hacer cortes de trozos de tallo o yemas que se enraizan o injertan para obtener material libre de virus. De esta manera, el material propagativo de ciertas drúpaceas se "limpia" y se puede certificar como libre de virus.

2.2.2.3. Métodos físicos poco usuales.

Por otra parte, se ha intentado también la utilización de otros medios físicos en la erradicación de patógenos; así, al probar el efecto de corriente eléctrica, luz ultravioleta y ultrasonido como agentes inhibidores de virus, se encontró que en el caso del virus de la papa, éste fue inhibido en tejidos de papa por corrientes eléctricas y por luz ultravioleta, en tanto que el tratamiento de ultrasonido no produjo resultados perceptibles.

Aun cuando estos resultados se obtuvieron a nivel experimental, indican ciertas posibilidades de utilización práctica. A nivel experimental se han obtenido resultados satisfactorios mediante el uso de rayos X para controlar infecciones fungosas de postcosecha en frutas y hortalizas. Sin embargo, la dosis de radiación requerida para aniquilar los patógenos llega a dañar los tejidos vegetales, por lo que esta medida carece actualmente de importancia práctica (Katan, 1980).

2.2.3. Control Genético.

El empleo de variedades resistentes a las enfermedades suele ser el medio más eficaz, sencillo y económico para controlar las enfermedades de las plantas, cuando se han creado variedades resistentes de tipo aceptable. Aunque fue costoso, el éxito logrado por los agricultores en el desarrollo y empleo de variedades resistentes a las enfermedades ha sido uno de los

factores principales en el incremento y sostenimiento de niveles elevados de producción agrícola (National Academy of Sciences, 1968).

Hay dos métodos fundamentales para la obtención de poblaciones de plantas resistentes: La simple selección y el proceso de hibridación.

2.2.4. Control Biológico.

Como fue utilizado por Garret (1991), el término "control biológico" implica el control de la enfermedad por medio de microorganismos vivos, en circunstancias tanto naturales como artificiales. Es un método en el cual se reduce la supervivencia o actividad del patógeno gracias a la acción de otros organismos vivos. El resultado es una reducción de la incidencia o gravedad de la enfermedad

2.2.4.1. Definición de control biológico.

El control biológico está basado en la reducción de la actividad del patógeno por medio de otro organismo. Puede ser biocida (un organismo mata al otro), o biostático (un organismo inhibe al otro). Es un aspecto del control por métodos de cultivo, prácticas que alteran la condición a) biótica - b) abiótica, para la primera que favorece a la enfermedad, y la segunda que reduce la acumulación de patógenos y la actividad nociva de los mismos ya sean hongos, bacterias, nematodos o

virus. El conocimiento es reducido para todos los patógenos, que viven en el suelo.

2.2.4.2. Antagonismo.

El fenómeno de antagonismo se detectó al tratar de controlar *Fusarium solani f. sp. phaseoli*, responsable de la pudrición seca de la raíz del frijol.

Desde el siglo pasado, se ha intentado hacer uso de organismos que parasitan o actúan como antagonistas, mediante la producción de sustancias tóxicas a fitopatógenos, como un medio de control de las enfermedades de las plantas. La acción hiperparasitaria es ejercida por: bacteriófagos, micoparásitos y nematoparásitos. Ya que tanto los efectos del hiperparasitismo como los antagónicos tienden al aniquilamiento de los fitopatógenos, por definición, el empleo de tales organismos puede considerarse como una medida erradicativa.

Sin embargo, recientemente se ha intentado su utilización en prácticas preventivas. Por otra parte, en los últimos años se ha prestado mayor atención a los fenómenos de inducción de resistencia mediante la acción de microorganismos, no sólo desde el punto de vista científico, sino con miras a su utilización práctica.

El control de nematodos parásitos se intenta, con ciertos resultados satisfactorios, mediante plantas que actúan como

trampa o con efectos antagónicos (Olivas y Romero, 1972).

Olivas y Romero (1972) determinaron en pruebas experimentales que al añadir melaza al suelo infestado, ocurría una disminución en la severidad de la enfermedad. Estos investigadores consideraron que dicho efecto puede deberse al incremento resultante de la población de Actinomycetes; además comprobaron que en la rizósfera de variedades de frijol resistentes ocurre normalmente un número mayor de dichos microorganismos que en la de los susceptibles. En trabajos similares se encontró que el efecto inhibitorio consiste en la lisis de micelio de los hongos patógenos, que resultan de la activación dentro del mismo, de las enzimas beta y alfa glucosidasa y quitinasa. Ya que este fenómeno es característico de deficiencia de nutrimentos, se considera que dicha deficiencia puede ser inducida por la competencia ventajosa de algunos microorganismos con los patógenos.

2.2.4.3. Producción de Sideróforos.

Vázquez (1986) realizó un estudio sobre el efecto inhibitorio in vitro de *Pseudomonas* sp. sobre microorganismos fitopatógenos, ya que ciertas *Pseudomonas* que habitan en el suelo pueden restringir el desarrollo de otros microorganismos, lo que puede deberse a que los primeros producen compuestos quelantes del ión férrico llamados sideróforos. El Fe^{+++} en forma compleja en muchos casos no es asimilado por otros microorganismos que

carecen de los receptores específicos de los ferrisideróforos.

En este trabajo se estimó in vitro el grado de inhibición que causan seis cepas de *Pseudomonas* sp. sobre 5 microorganismos fitopatógenos. Los valores variaron de 40% (7 SRI sobre *Corynebacterium fascians*) hasta 98% (Aislamiento #3 sobre *P. syringae*), realizado en medio líquido. En nueve de los 13 casos probados la presencia de Fe^{+++} en el medio permitió que los microorganismos se vieran liberados prácticamente de la inhibición. Todos los aislamientos resultaron pertenecer al género *Pseudomonas*, siendo todas ellas fluorescentes y no son fitopatógenos en base a pruebas realizadas. Resultados preliminares hacen pensar que el efecto inhibitorio ejercido sobre los microorganismos fitopatógenos es de tipo bacteriostático. Los valores de absorción máxima del principio activo variaron de 330 a 480 nm. Se puede pensar que este mecanismo podría ser utilizado para el control biológico de enfermedades de plantas de importancia para el hombre (Vázquez, 1986).

2.2.4.4. Resistencia Cruzada.

Si se expone una gran población del hospedante al ataque del patógeno, se distinguirán los individuos resistentes, que pueden ser empleados como fuentes de genes de resistencia en un programa de mejoramiento. En caso de que no existan individuos resistentes dentro de una especie se debe buscar la resistencia en especies

cercanas, inclusive en plantas silvestres parientes de las especies cultivadas.

Estos genes de resistencia pueden ser incorporados mediante cruza. En el caso de cultivos como maíz, trigo o cebada, se cuenta con colecciones mundiales que comprenden un amplio acervo del material cultivado y especies silvestres cercanas. Las colecciones mundiales de germoplasma del hospedante se forman mediante colectas del material existente en los centros de origen primarios y secundarios de la planta. Es el caso de las especies de papa, consideradas originarias de América, en especial del sur de México, Centro y Sudamérica. En México se ha colectado la especie *Solanum denissum* cuyos genes de resistencia se han incorporado a la papa comercial (*Solanum tuberosum*). (Guevara, 1991).

2.2.4.5. Utilización de extractos vegetales.

Los suelos del estado de Jalisco poseen una gran diversidad de microorganismos y plantas superiores, las cuales representan un gran potencial económico para el hombre. Además, dentro de la vegetación existe la posibilidad de extraer productos de origen natural que pudieran tener un efecto de control biológico de ciertos fitopatógenos, lo que es de gran importancia si se considera que, en un estudio del Instituto Mundial de Recursos (W. R. I.) realizado en 1984, se registró que en 1980 se conocían más de 150 especies de fitopatógenos que crearon resistencia a

los agroquímicos.

Además, los plaguicidas pueden provocar dos tipos de toxicidad: aguda y crónica, esta última caracterizada por 1) Carcinogénesis, 2) Mutagénesis, 3) Teratogénesis y 4) Trastornos del sistema nervioso. A pesar de ello los plaguicidas son ampliamente utilizados y, para 1988, del total de los mismos usados en el mundo los fungicidas constituyeron un 20.5% (Arnold, 1992).

El uso de extractos de plantas con propiedades fungicidas o fungistáticas representa una alternativa en el control de enfermedades para evitar el uso constante de productos químicos que pueden originar resistencia en los patógenos, o bien, por su toxicidad, ocasionar daños a la salud o al medio ambiente. (Hernández, 1992).

Se ha demostrado que muchas especies de la familia Liliacea poseen propiedades medicinales; además, se han observado efectos fungicidas de *Allium sativum* (Rode et. al., 1989).

La presencia de compuestos antifungales en algunas plantas superiores ha sido largamente reconocido como un factor importante de resistencia a enfermedades (Mahadevan, 1982). Tales compuestos, por ser biodegradables y selectivos en su toxicidad, se consideran valiosos para controlar ciertas enfermedades de plantas (Fawcett y Spencer, 1970; Thapliyal y Nene, 1967).

Se ha demostrado que el jugo de hojas crudas o los extractos acuosos de varias plantas exhiben una interesante actividad

antifungal. Gilliver (1947), Kickell (1959), Skinner (1955), y Thapliyal y Nene (1967), hicieron pruebas sobre la fungitoxicidad de *E. cannabium* contra patógenos del suelo cuyos resultados no han sido reportados aún, mientras que los aceites esenciales de ciertas plantas poseen toxicidad contra algunos hongos patógenos en humanos (Mall, 1987). Rode et al (1989) investigaron las propiedades antibacteriales y antifungales de un extracto acuoso de ajo. Se utilizó la técnica de difusión capa-agar para obtener un indicador de la total actividad. El método de dilución fue empleado para determinar la concentración mínima de inhibición con el mínimo de concentración bacteriana y el tiempo de la reacción del extracto de ajo. Estos experimentos in vitro sugieren que un extracto acuoso de ajo es potencialmente útil contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas.

Los ejemplos de plantas con propiedades insecticidas son abundantes en la naturaleza. En México se ha encontrado un buen número de plantas que pueden usarse para controlar insectos plaga en cultivos y en almacenes (Lagunes y Rodríguez, 1989), como es el caso del árbol llamado neem (*Azadirachta indica* A. Juss) que, siendo originario de la India, ahora se encuentra en muchas partes del mundo.

2.2.4.5.1 Descripción de las especies utilizadas

Familia Meliaceae. *Melia azedarach*, *Trichilia hirta*, en estas especies se utilizaron las semillas.

Familia Liliaceae. *Manfreda jaliscana*, *Prochnyanthes mexicana*, *Sprekelia formrsissima*, *Manfreda guttata*, de todas ellas se utilizaron los bulbos.

En la colecta de las plantas las muestras botánicas de bulbos y semillas fueron trasladadas al laboratorio en bolsas de papel y puestas en refrigeración para su mejor conservación.

A continuación se describen las seis especies que se utilizaron.

Familia Meliaceae:

Melia azedarach, " árbol del paraíso " (fig. 5) localizado en la zona de amortiguamiento del bosque La Primavera. Descripción; este árbol procede de China y el norte de la India, y está ampliamente distribuido en nuestro país. Es pequeño, de 3 a 6 m. de altura, aunque en su tierra natal puede alcanzar de 10 a 12 m. Tiene la corteza gris; las hojas son bipinadas partidas con folíolos ovales, lanceoladas y de bordes cerrados. Las inflorescencias son panículas con flores de 5 a 6 pétalos de color que varía entre el rosa y el púrpura. (Pennington T.D. 1981).



Fig. 5 *Melia azedarach*. Arbol llamado Baya china. Flores izquierdas mas bajas que las flores derechas; arriba racimos de bolitas amarillas con hueso. Pennington T. D. (1981).

Trichilia hirta, " palo del tlacuache " procedente de San Ramón, municipio de Zapopan, Jal. De este árbol se utilizó las semillas. Descripción; ese árbol generalmente de 5 a 10 m. de altura pero en situaciones de bosques húmedos llegan a medir 25 m. de altura; las ramas jóvenes son escasas, el tronco de color grisáceo y liso, rara vez verde oscuro; sus hojas son emparipinadas de 5 a 10 o 30 a 35 cm. de largas, peciolo con raquis áspero pubescente; los folíolos laterales duran mucho más tiempo bronceados, que los folíolos opuestos de color oro. Las flores son verde - amarillento y son producidas por lo menos dos veces al año. Las cápsulas son café - verdoso o marrón con un delgado y correoso pericarpio que contiene una pequeña cantidad de exudados blancos. Las semillas están casi completamente rodeadas por una carnosidad grasosa de color naranja o rojo amarillosa. Pennington T.D. (1981).

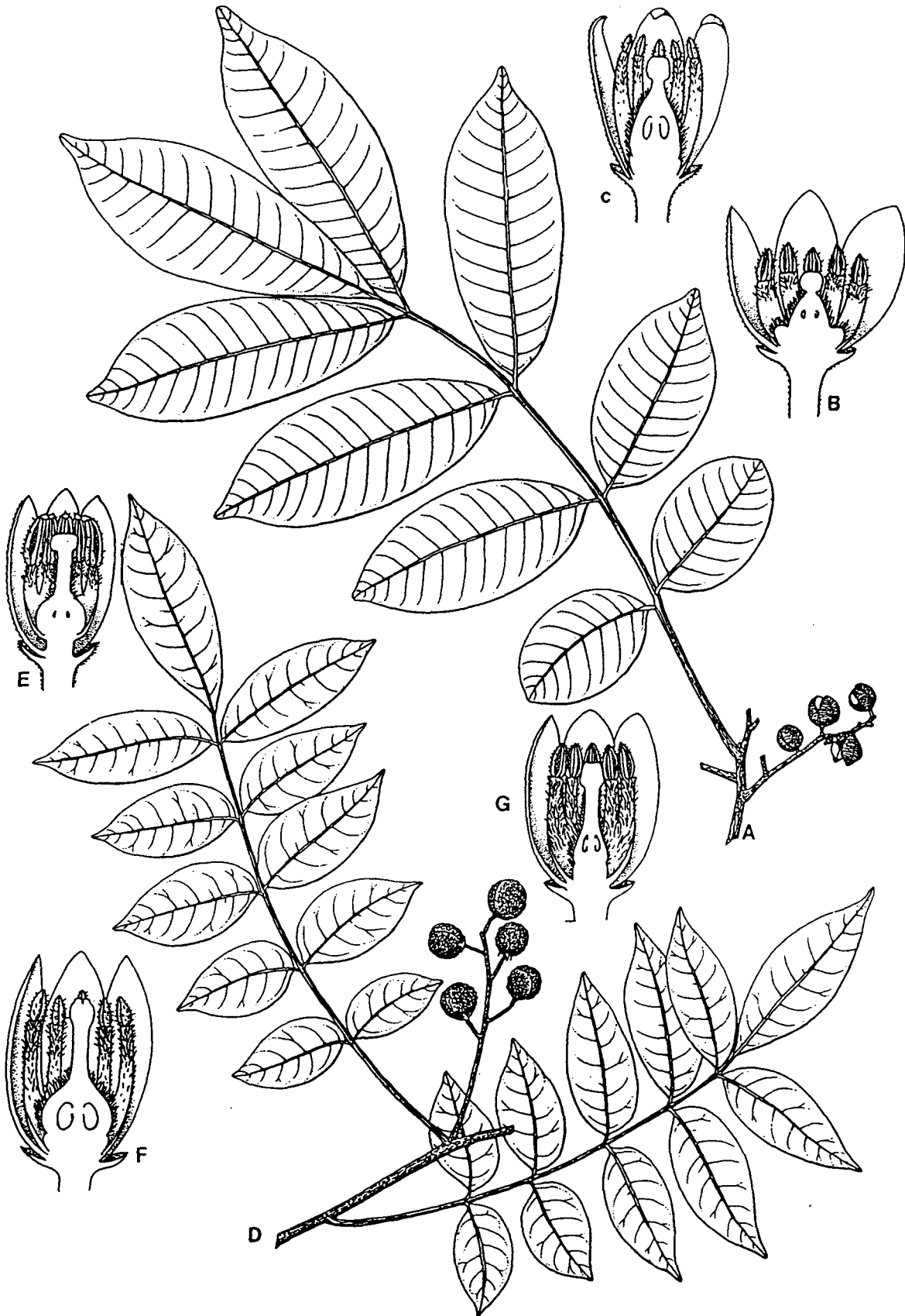


Fig. 6 *Trichilia hirta* L.D, hábito X 0.5; E, ♂ flores X 7.5; F, ♀ flores X 7.5; G, ♂ flores X 7.5 (A, Chitty & Benkowski 3248; B, Gentle 2732; C, Conzatti et al. 322; D, Pennington et al, 10016; E, Lundell 7316; F, Matuda 1649; G, Hodge et al. 4779). Pennington T. D., (1981).

Familia Liliaceae

Manfreda gutatta, se localiza en Cerro Gordo municipio de Arandas y en la Sierra de Nayarit. Descripción; plantas con tallo comúnmente de 1 a 1.5 m. se reproduce vegetativamente con brotes desde el almacenamiento del rizoma y cerca del rizoma se esparce desde la base, del almacenamiento al rizoma estos cilindricos, periódicamente cubiertos con anillos fibrosos, cada una produce plántulas en los extremos; hojas de 2 a 5 o más, carnosas, flexibles, débiles y percederas en las primeras heladas. Las hojas lanceoladas o lance - elípticas, obtusas en ápice con una punta firme, corta, muchas veces angosta en la base (excepcionalmente con peciolos arriba de 10 cm. de largo) principalmente de 15 a 40 cm. de largo, de 1-3-4 cm. de ancho, cubiertos verde moteado; en los márgenes una angosta faja blanca cartilaginosa, erecto - denticulado o meramente papiloso o rara vez completamente liberado; púas relativamente cortas y apiñonadas, arriba de 15 cm. de largo, algunos florecencias; escapo - brácteas cerca de 5, verdes, subabrochadas, largo - puntiagudo o atenuado, arriba de 5-7 cm. largo; brácteas diminutas, un secundario de 5-10 mm. de largo; flores sésiles o el más bajo subpedicelado, cerca de la maduración se levanta,

perianto verde, el tubo cilíndrico o comprimido, bastantes ápices abruptamente expandidos entre el limbo, en base no apretado, insertado al rededor de lo alto del ovario, de 6 a 12 mm. de largo, en especímenes secos 2-4 mm. de ancho en medio del tubo; lóbulos recurvados o dobladas, el tubo comúnmente más largo 1-1.7 cm. de largo; estambres verde pálido o cubierto con rosa, exertado, sobresaliente el tubo de 2-3 cm.; anteras amarillas, 10-15 mm. de largo; estilo más alargado que los estambres; estigma clavado, triangulares, surcados, frutos elipsoides, 1.6 - 2.4 cm. de largo, 1-1.9 cm. de diámetro, este extremo voladizo es como un domo o cono 3-4 mm. de alto dentro el persistente remanente del perianto la base del perianto o la cicatriz izquierda después está cae 6-8 mm. en diámetro, (fig. 7). Mc. Vaugh (1989).



Fig. 7 *Manfreda guttata*. (Jacobi & Bouche) Hierba perene con rizoma feculoso bulbos suculentos grandes, hojas anchas, suaves, poligamodioicas, flores comunmente de 6 petalos del perianto, ovario opuesto, fruto una capsula septecilada, floración con dote terminal, endospermo copioso. Mc. Vaugh (1989).

Manfreda jaliscana, se localiza en el municipio de Mezquitic, al nort-noreste de Puerto Vallarta y en barrancas de Guadalajara. Descripción. Planta frecuentemente de 1-1.5 m. de alto; hojas de 5-10 , herbáceas, verdes, esparcidas, lineales, puntiagudas o atenuadas, de 50-70 cm. de largo (raramente arriba de 1 m.), 0.6-1.4 cm. de ancho, con márgenes y nervaduras dispersas apilados, apañamiento de 10-40 cm. de largo, con flores en intervalos de 1 cm.; escapo-bractees verdes adbructamente pequeñas con las hojas, lance-atenuadas, arriba hasta 10 cm. de largo; pequeñas bractees florales, deltoides-acuminada; flores erectas o a veces esparcidas, sésiles o subpediculadas; perianto amarillo-verdoso o purpuroso (algunas veces adelgazadas rosados), bastante en su textura (apariencia no muy carnosa) el tubo fenelforme, muchas, y algunas veces apretadas, encima se encuentra el ovario, 4-6 mm. de largo; lóbulos esparcidos , 9-17 mm. de largo, usualmente muy largo de el tubo; estambres rojizos o purpuroso, visiblemente largo-asectado, 5-7.5 cm. de largo del tubo-perianto; anteras 10-12 mm. de largo; estilo más largo que los estambres, algunas veces sobresale el tubo por casi 10 cm.; estigma clavado-capitado, triangulares, profundamente surcados; frutos globosos a rectangulares algunas veces subtípitado, 1-2.5 cm. largo, 1.2-1.7 cm. de diámetro; semillas arriba de 6-6 mm. de ancho, (fig. 8). Mc. Vaugh (1989).



Fig. 8 *Manfreda jaliscana*. Rose. Hierba perene con cormo poco leñoso con crecimiento secundario hojas simples comunmente verticiladas angostas y paralelinervas, suaves renovadas anualmente, segmentos unidos en dirección del tubo del perianto estambres 12, distintos y libres, anteras abiertas, ovarios opuestos estilo 1, raramente 3, endospermo copioso. Mc. Vaugh (1985).

Prochnyanthes mexicana, se encuentra en el municipio de San Martín de Bolaños; al nort-este de Tequila, Cerro Gordo, sur de Mazamitla. Descripción. Plantas frecuentemente maduras cerca de 2 m. de alto; hojas de 1-5 (varias veces 2), erectas o algunas veces juntas a la espalda en medio, las hojas 20-50 cm. de largo, 1-5 cm. de ancho, ligeramente verde oscuro, frecuentemente manchadas o moteadas con rojo-púrpura, puntiaguda o atenuada en el ápice; algunas con 20 nodos; primera floración principalmente brácteas 1-4 cm. de largo, las bracteas secundarias cetáceas arriba de 5-6 mm. de largo; pedicelos de un par generalmente desiguales, unos largos y otros cortos (3-10 mm.) o arriba de 1-4.5 cm. de largo; flores maduras con ovarios erectos o esparcidos, el completo funcionamiento colgado por la adbructa inclinación en el tubo-perianto; periantos externos verdoso blanco, verde, o verdoso amarillo, o teñido con rojo ("envotado-rojo" "cefesoso-rojo" "naranja-rojo" "verdoso-púrpura" extremos rosas, rojo, blanco; verde "rojizo verde, destellos verde" "manchado purpuroso con flores pegajosas") dentro cubierto de verde o verdoso amarillo; campanulado (distal) parte del tubo-perianto frecuentemente casi 2 cm. de largo (1.1-2.7 cm.), los pequeños lóbulos se esparcen, deltoides 3-10 mm. de largo, 3-6 mm. de ancho; filamentos verdes o blancos en las primeras a lo alto al costado de la corola, declinación como los estilos elongados; anteras amarillas o verdosas, 5-8 mm. largo (cuando se humedece, arriba de 9 mm. de largo o

más); frutos globosos o cercano, 3-lóbulos, de 1-1.7 cm. en diámetro; semillas de perfil semicircular que miden 4-6 mm. en el diámetro. (fig. 9). Mc. Vaugh (1989).



Fig. 9 *Prochnyanthes mexicana* : Base de planta, X 0.5 (Fedde 342) ; Planta de floración con dote terminal, X 0.5 (Mc Vaugh 18621); otras figuras para Mc Vaugh & Koelz 406: Planta fructificada de porción terminal, X 0.5; flores X 1, filamentos de inserción expuesta de almacenes abiertos; flores, X 0.75, corte sobre las agrupaciones expuesta de filamentos en el lado superior; anteras, X 2.5; estilo - tip), X 5; semillas, X 5, lado - panorámico y margen - panorámico. Mc. Vaugh, (1989).

Sprekelia formosissima, se localiza en los estados de Chihuahua, Durango, Nayarit, Aguascalientes. Descripción. Plantas usualmente desde un desproporcionado largo negruzco, bulbos superos cerca de un cuello oscuro 5-12 cm. de largo 1-2 cm. de grueso, hojas comúnmente 5 o 6 (dobles como muchas plantas con 2 escapos), las líneas de las hojas puntiagudas o atenuadas, en maduración 20-40 cm. de largo casi 1 cm. de ancho, en tiempo de floración algunas veces son escasos y algunas veces maduras comúnmente inmaduras, 10-20 cm. de largo, 5-8 mm. de ancho; escapo (arriba de la base de la espada) 15-25 cm. de alto, arriba de 5-8 mm. de grueso cerca de la base; espada 5-8 cm. de largo, rojizo, erectos, más o menos cilindricos e inconcluso el pedicelo, las flores aparentes que emergen lateralmente desde el ápice, y la prolonga al extremo (1-3 cm. de largo) de estos 2 lóbulos voladizos más allá de la base de las flores; pedicelos firmes, en anteras 2-5 cm. de largo, en frutos más largos, 5-7 cm. de largo; perianto-segmentado elíptico lanceolado disminuido a la base, puntiagudo o atenuado en el ápice, 9-12 cm. de largo, 1-1.5 cm. de ancho o la supera 1 a 2.5 cm. de ancho; estambres 9-11 cm. de largo inclinado, antera lineal, 6-8 mm. de largo cuando están secas, 6-13 mm. de largo cuando están húmedas o empapadas; estilo 10-12 cm. de largo, comúnmente un pequeño estambre superior lóbulos estigmáticos ampliamente lineales,

recurvados, 1.5-2.5 mm. de largo; frutos verdes, 3-lóbulos, algunas veces rectangulares en la base y el ápice 2.3 cm. de ancho y alto; semillas planas, 12-13 mm. de largo, 7.5-8.5 mm. de ancho (fig. 10). Mc. Vaugh (1989).

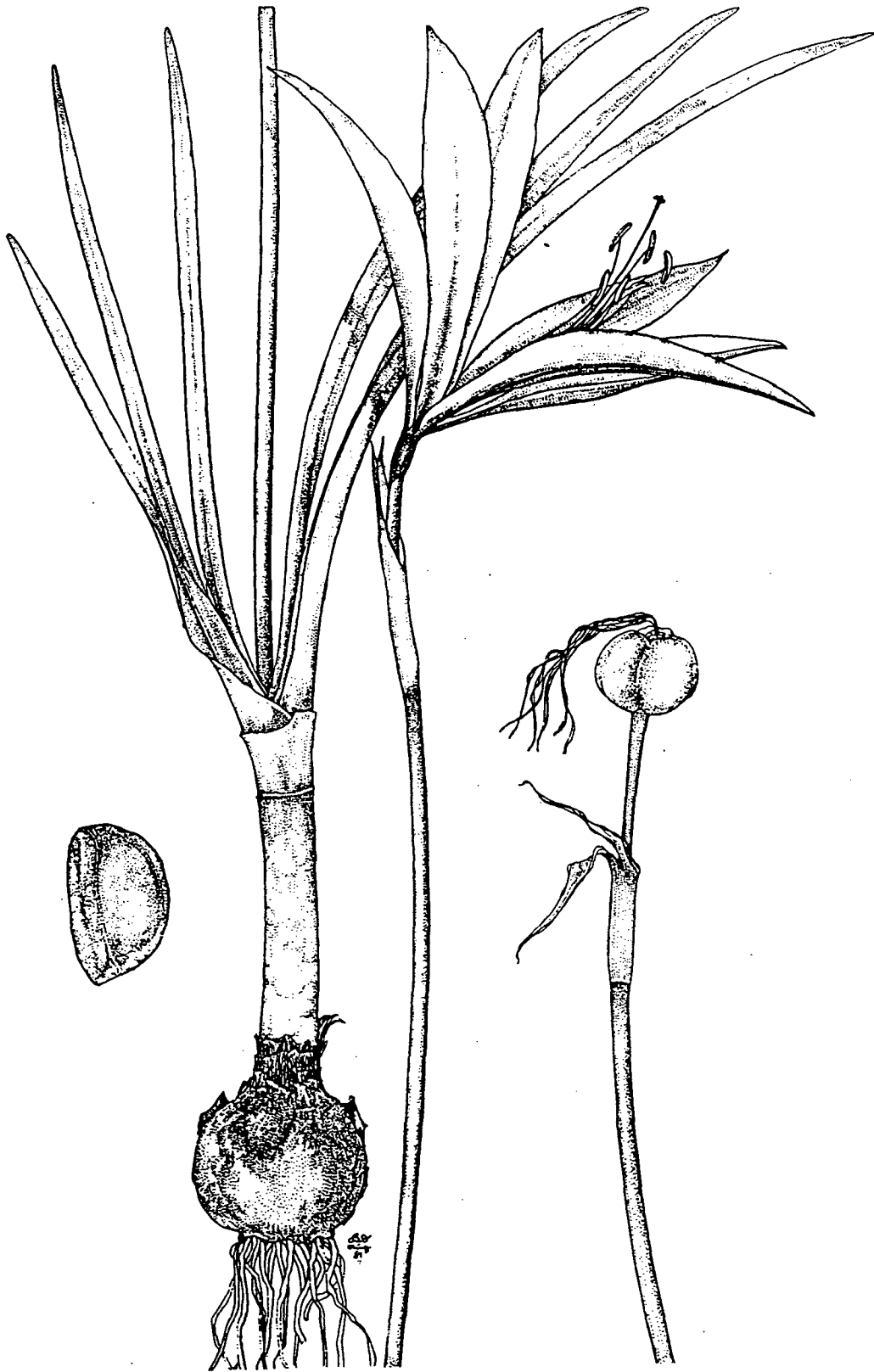


Fig. 10 *Sprekelia formosissima*: Floración de planta, X 0.5 (Mc Vaugh 14892); pedunculo y capsula, X 0.5, y semillas, X ca 2 (ambos por Mc Vaugh 15409). Mc. Vaugh, (1989).

2.3 Plantas fungitóxicas:

El control de fitopatógenos es una de las maneras más aceptables de manejo de los mismos, ya que desde el punto de vista ecológico altera poco el ecosistema. Como parte de control destaca la utilización de microorganismos y productos de origen vegetal (Cook, 1985).

Muchas son las especies de plantas que, en su proceso evolutivo, han logrado desarrollar mecanismos de defensa mediante la liberación de metabolitos de origen secundario con propiedades antimicrobianas. (Schaffer et al, 1950). En México muchas especies de plantas no se han explorado como agentes de control a enfermedades (Guevara y Velázquez, 1984). Mientras que Dukey y Kishore (1988) encontraron que aceites esenciales de hojas de *Melanleuca leucadendron*, *Ucimum canum* y *Citrus medica* protegieron a frutos almacenados de la biodegradación causada por *Aspergillus flavus*.

Asimismo, Pandey et al (1983) reportaron que los extractos de las hojas de las plantas medicinales *Azadirachta indica* y *Ocimum sanctum* inhibieron la germinación de *Pestalotia psidi* y controlaron la pudrición de los frutos de guayaba.

Por otra parte, Montes et al (1990) encontraron que de 74 especies de plantas, 24 de ellas inhibieron la germinación de las urediosporas de *Uromyces phaseoli*,

variedad típica entre el 74 y 100%. También López et al (1990) reportaron que el abrojo (*Tribulus cistoides*) redujo en 100% la infección causada por *Mycosphaella ligulico* en crisantemo. de igual manera, Montes et al (1990) mencionaron que extractos de diferentes plantas, entre ellas el guamúchil (*Pithecellobium dulce*) redujeron la enfermedad de la roya del frijol, comparada con el testigo, al aplicar extractos de estas plantas; además los extractos de guamuchil casi triplicaron el rendimiento. Muchos son los compuestos en las plantas involucrados en el control de fitopatógenos y de otros organismos. Delaveau y Vida - Tessier (1988) mencionan que compuestos polifenólicos, diterpenos y triterpenos poseen actividad antifungal, antibacteriana y algicida e insecticida. Mientras que Wilson et al (1987) encontraron que compuestos volátiles de frutos de durazno son altamente fungicidas, y Wilson y Wisniewski (1989) sugieren que los productos volátiles de las plantas están implicados en la resistencia a enfermedades. Hasta hace algunos años solamente se conocían alrededor de 900 antibióticos, de los cuales solo el 14% eran de origen vegetal; esto probablemente es sólo una pequeña fracción de lo que ocurre en la naturaleza, ya que falta realizar investigación al respecto.

Así pues, existen distintas variedades de plantas que representan una alternativa para la búsqueda tanto en la producción de antibióticos como de fungicidas (Arnold, 1992).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Descripción del Area de Estudio.

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología, de la División de ciencias Agronómicas del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, ubicada en el predio Las Agujas, municipio de Zapopan, Jalisco, (Km. 15.5 carretera a Nogales).

3.2 Especies utilizadas y lugar de colecta.

Las plantas utilizadas en el presente estudio fueron:

Familia Melaceae. *Melia azedarach* y *Trichilia hirta*, de las cuales se utilizó las semillas.

Familia Liliaceae. *Manfreda jaliscana*, *Prochnyanthes mexicana*, *Sprekelia formosissima* y *Manfreda guttata*; de todas ellas se utilizó los bulbos.

Para la clasificación de las especies utilizadas se contó con la colaboración de investigadores del Instituto de Botánica, así como material bibliográfico existente en el mismo Instituto

3.3 Preparación de Extractos.

Para la obtención de los extractos, 12.5 gr. de bulbo o semillas de cada una de las diferentes especies se maceraron en un mortero y se les agregaron 50 ml. de agua destilada estéril; posteriormente se filtró en un embudo Buchner con un papel filtro Whatman N° 4, colocado sobre un matraz Kitazato de 500 ml. el cual se conectó a una bomba de succión al vacío para de esta forma obtener en extracto.

El extracto obtenido se considera a una concentración del 25% (250000 ppm).

1 ml. De cada extracto obtenido, se diluyó en 100 ml. de agua esterilizada para tener una concentración de 2500 ppm.

3.4 Aislamiento de Fitopatógenos

En cada una de las muestras del material vegetativo se tomaron muestras de *Botrytis sp.*, *Puccinia sp.*, *Phragmidium sp.*

Las muestras de las plantas mostraban la presencia de la enfermedad. El primer paso consistió en lavar el tejido infectado en agua, para separar la materia orgánica extraña; posteriormente se desinfectó superficialmente el tejido con hipoclorito de sodio al 1% durante 1 minuto, se lavó 2 veces con agua destilada estéril para quitar el exceso de cloro, enseguida se realizó la siembra en el medio PDA (papa-dextrosa-agar) y se incubaron las muestras a una temperatura de 22 a 24°C, para favorecer el desarrollo de los hongos.

Una vez que se obtuvieron las cepas de los hongos, se probó su inhibición utilizando para ello extractos vegetales acuosos, y como testigo agua esterilizada.

3.5 Pruebas de Inhibición de la Germinación.

Para la realización de esta prueba se utilizaron: hongos fitopatógenos, portaobjetos, extractos vegetales, agua esterilizada.

En cada portaobjetos se colocaron de 1 a 2 gotas de extractos vegetales de las especies evaluadas y se agregaron conidias de los hongos en estudio, que fueron transportados con una aguja de disección a cada una de las gotas de extractos. Realizando un total de 3 repeticiones por extracto, y por último se dejó un testigo con agua esterilizada.

Todos los porta objetos fueron colocados en cámara húmeda para evitar la evaporación de las gotas. Se puso dentro de una caja petri un pedazo de papel húmedo con agua esterilizada, y sobre el papel se colocó el portaobjetos que contenía el extracto junto con las conidias y esporas de los hongos estudiados y se dejó a la temperatura ambiente, de 24 a 25°C. Después de 24 hrs. de la inoculación, se hicieron observaciones al microscopio para determinar el % de conidias o esporas germinadas usando 3 campos visuales de 10, 20, 40 aumentos a cada uno de los portaobjetos, realizando las lecturas de 24 y 48 hrs. Se tomó como germinación cuando la longitud del tubo germinativo fue mayor o igual que la longitud de la conidia.

3.6 Análisis Estadísticos.

Los resultados se analizaron en un diseño completamente al azar el cual consistió de 7 tratamientos con 3 repeticiones.

Los valores de los porcentajes obtenidos de la germinación se transformaron mediante la formula:

$$\text{ArcSen}^{-1} = \sqrt{\frac{X}{100}}$$

donde X = valor en porcentaje de la germinación

Las medias de los tratamientos se compararon mediante la prueba de Tukey al 0.05% de significancia.

Para conocer la actividad y eficiencia de los extractos con respecto al testigo, se corrigió la inhibición de la germinación mediante la fórmula de Abbot (1925); la cual es como sigue:

$$IC = \frac{X - Y}{Y} (100)$$

Donde:

IC = Inhibición corregida

X = Porcentaje de inhibición observada en cada extracto

Y = Porcentaje de inhibición del testigo

IV. RESULTADOS.

Los resultados obtenidos sobre la inhibición de la germinación de las conidias de *Botrytis sp.* y las uredosporas de *Phragmidium* se muestran en los cuadros 1 y 2.

Como se puede apreciar en el cuadro 1, los mejores extractos vegetales para inhibir la germinación de las conidias de *Botrytis sp.*, fueron los de frutos (pulpa y semilla) de *Melia azedarach* y *Manfreda jaliscana* (bulbo)

Cuadro 1.- Eficiencia de los extractos vegetales acuosos
y por ciento de germinación de las conidias
de *Botrytis sp.*

Extracto	% germinación	Inhibición corregida
<i>M.azedarach</i>		
(fruto)	4.65 A *	94.98
<i>M.jaliscana</i>		
(bulbo)	15.81 AB	82.93
<i>M.guttata</i>		
(bulbo)	56.72 BC	38.76
<i>S.formosissima</i>		
(bulbo)	65.11 BC	29.70
<i>M.azedarach</i>		
(hojas)	94.28 C	-----
Testigo		
(agua)	92.63 C	-----

*Tratamientos con letras iguales no difieren estadísticamente Tukey
(P = 0.05).

Así mismo también se puede observar que en el caso del extracto de hoja de *M.azedarach*, este no tiene ningún efecto inhibitorio, dando un porcentaje de germinación incluso, aún mayor que en el testigo.

Por otra parte el cuadro 2 muestra los resultados obtenidos en la inhibición de la germinación de uredosporas de *Phragmidium*.

Como se puede apreciar en este cuadro, los mejores extractos para la inhibición del hongo fueron: *Prochnyanthes mexicana* y *Melia azedarach* (fruto) con un 9.99 y 10.66 % de germinación respectivamente, no existiendo diferencia estadística entre ellos, lo cual significa que de manera práctica cualquiera de los extractos tendrá la misma eficiencia.

El extracto de hoja de *M. azedarach* no tuvo efecto sobre la inhibición de las uredosporas, no existiendo diferencia estadística con respecto al testigo, considerándose como uno de los peores tratamientos.

Prochnyanthes mexicana, sin embargo no fue utilizado en el caso de *Botrytis sp* dado que las pruebas realizadas para ambos patógenos fueron en etapas, lo cual no permitió la utilización de esta planta, que puede representar un buen potencial en el control de fitopatógenos, tal como se aprecia en el cuadro 1.

Cuadro 2.- Eficiencia de los extractos vegetales acuosos y porcentaje de germinación de uredosporas de *Phragmidium sp.*

Extracto	% de germinación	Inhibición corregida
<i>P.méxicana</i>		
(bulbo)	9.99 A *	96.04
<i>M.azedarach</i>		
(fruto)	10.66 A	94.97
<i>T.hirta</i>		
(fruto)	23.27 AB	74.68
<i>M.guttata</i>		
(bulbo)	55.87 BC	13.83
<i>S.formosissima</i>		
(bulbo)	57.53 C	13.17
<i>M.azedarach</i>		
(hojas)	59.13 C	8.36
Testigo		
(agua)	62.02 C	-----

*Tratamientos con letras iguales no difieren estadísticamente Tukey (P = 0.05).

En este mismo cuadro se muestra que no existe diferencia estadística entre *Prochnyanthes mexicana*, *Melia azedarach* (fruto) y *Trichilia hirta*, aunque este último representó solamente un 74.68 % de inhibición corregida, es decir solo tuvo un 74.68 % de eficiencia con respecto a un 100 % de eficiencia deseada para cualquier sustancia que actué como fungicida; en este sentido, solamente *P. mexicana* y *M. azedarach* (fruto), se acercaron casi al 100 % de eficiencia, ya que el primero dio un 96.04 % y el segundo dio un 94.97 %, que se consideran como compuestos aceptables para la utilización contra fitopatógenos.

A su vez el cuadro 3, muestra los resultados obtenidos para la inhibición de la germinación de *Puccinia sp.*

Cuadro 3.- Eficiencia de los extractos vegetales acuosos
y porcentaje de germinación de uredosporas de
Puccinia sp.

Extracto	% de germinación	Inhibición corregida
<i>M.guttata</i>		
(bulbo)	22.33 A *	51.99
<i>T.hirta</i>		
(fruto)	28.57 A	39.72
<i>P.mexicana</i>		
(bulbo)	29.89 A	37.20
<i>M.jaliscana</i>		
(bulbo)	48.90 B	-----
Testigo		
(agua)	48.90 B	-----
<i>S.formosissima</i>		
(bulbo)	67.97 C	-----
<i>M.azedarach</i>		
(fruto)	69.15 C	-----

*Tratamientos con letras iguales no difieren estadísticamente
Tukey (P = 0.05).

Como se puede observar en este cuadro el extracto que dió una mayor inhibición fue *Manfreda guttata*, con un 22.33 % de germinación, sin embargo no existe diferencia significativa con *Trichilia hirta* y *Prochnyanthes mexicana*.

Así mismo se muestra que la inhibición corregida para *Manfreda guttata* es de 51.99, lo que significa, que aunque existe diferencia entre este tratamiento y el testigo, la potencialidad de inhibición es baja con respecto a este último.

Cabe mencionar que solamente se realizaron pruebas de inhibición de la germinación, y no se realizaron pruebas sobre el crecimiento miceliano de los hongos.

V. DISCUSIÓN

Como se observa en los resultados obtenidos los extractos vegetales representan una buena alternativa en el control biológico de enfermedades, dentro de los programas de manejo integrado.

Aquí se puede observar que los mejores extractos fueron *Melia azedarach* (fruto), *Manfreda jaliscana*, *Manfreda guttata* (bulbo) para *Botrytis sp*, mientras que *Prochnyanthes mexicana* y *Melia azedarach* (fruto) tuvieron una mayor inhibición para *Phragmidium*, aunque no existe diferencia significativa con *Trichilia hirta*.

Como se puede observar en los 3 cuadros existe una buena alternativa para el control de estos fitopatógenos, sin embargo al parecer las uredosporas de *Puccinia sp* mostraron mayor resistencia a la inhibición, probablemente debido a que aquellas estructuras pigmentadas presentan mayor resistencia a la inhibición por extractos (Pandey et al 1983).

Se ha determinado que compuestos tales como: meliacin y melicarpin, ambos del grupo de tetranortriterpenoides, están presentes en *Melia azedarach* (Lee et al, 1991). Probablemente estos compuestos sean los principios activos contra *Botrytis* y *Phragmidium*.

Asimismo no existe reporte de que *Manfreda jaliscana* o *Prochnyanthes mexicana* inhiban a *Botrytis* y *Phragmidium* (Grainge y Ahrnes, 1988), lo que puede deberse a que dichas Liliaceae se

restrinjan a áreas endémicas de México; sin embargo en otras Liliaceas, como el ajo, se ha reportado que posee propiedades fungicidas y antibacterianas debido a la presencia de Allicin y Ajoene (Rode et al, 1989. Singh et al, 1990. y Singh, 1992). Estos compuestos o algunos similares pudieran estar presentes en las Liliaceas utilizadas en este trabajo, por lo tanto se necesita hacer un estudio de sus componentes.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones.

1.- Se concluye que los mejores extractos que inhibieron la germinación de *Botrytis* fueron: fruto (pulpa y semilla) de *Melia azedarach* y *Manfreda jaliscana* (bulbo).

2.- El mejor extracto que inhibió la germinación de *Phragmidium* fue *Prochnyanthes mexicana* (bulbo) y *Melia azedarach* (fruto) cualquiera de los extractos tienen casi la misma efectividad de inhibición.

3.- El mejor extracto que inhibió la germinación de *Puccinia sp* fue: *Manfreda guttata*, sin embargo no existe diferencia significativa con *Trichilia hirta* y *Prochnyanthes mexicana*.

4.- El extracto de hoja de *Melia azedarach* no tiene ningun efecto inhibitorio dando un porcentaje de germinación incluso aún mayor que el testigo.

6.2 Recomendaciones.

1.- El estudio mostró que los extractos pueden ser utilizados para pruebas de campo, sin embargo se necesita, realizar estudios sobre el potencial de los extractos, en el campo.

2.- Es necesario realizar estudios fitoquímicos para determinar los principios activos de cada uno de los extractos que mostraron mayor actividad.

VII. RESUMEN

Se determinó la inhibición de la germinación de *Botrytis* sp., *Puccinia*., y *Phragmidium* con extractos acuosos de meliáceas y liliáceas, mediante la técnica de "gota". Los mejores extractos fueron; *Melia azedarach* (fruto) y *Manfreda jaliscana* (bulbo) para la inhibición de *botrytis* sp. dando un 4.65% y 15.81% de germinación, respectivamente. Mientras que *Prochyranthes mexicana* (bulbo) y *Melia azedarach* dieron un 9.99% y 10.66% respectivamente, para la inhibición de *Phragmidium* sp. Así mismo *Manfreda guttata* fue el mejor tratamiento para la inhibición de *Puccinia* sp., dando un 51.99 por ciento de inhibición.

VIII. LITERATURA CITADA

Arnold E., (1992) The BMA guide to Pesticides, Chemicals and health. British Medical Association, Londres 215 pp.

Bauer, L.I. (1991) Fitopatología, Colegio de Posgraduados. LIMUSA.

Cook, R.J. (1985) Biological Control of Plants Pathogens: Theory Application 75 (1): 25-28.

Delaveau y Vida - Tessier (1988) Flora fanerogamica del Valle de México autor Jesey y Redosky.

Dominguez F. y G. Tegero (1989) Plagas y enfermedades de las plantas cultivadas. Ediciones Mundi - Prensa. Octava edición. Madrid, España. 821 p.

Dukey y Kishore (1988) Citado por Wilson y Wisneewsky (1989).

Fawceh. C. H. and Spencer, D.M. (1970) Plant chemo the rapy with natural products, Annu, Rev. Phytopathol. 8.403 - 418 p.

Fulton, R.H. (1973) Chemical control of plant diseases in the tropical environment. phytopathology 63: 1441 - 1445 p.

Gillever (1947) Ann. Appl. Biol. 34. 136 - 143 p.

Katan (1980) Solar posteurization of soils for disease control.
Pl. Dis. 64: 450 - 454 p.

Kishose, N., Dukey, N. K., Tripahi, R: D. and Singh. S. K. (1982)
Fungitoxic activity of Leaves of some higher plants. Nat. Acad.
Sci. Letters 59 - 100.

Lagunes y Rodriguez (1989) Simposio Nal. sobre sustancias vegetales
y minerales en el combate de plagas abril (1991) pag. 107.

Lozoya - Saldaño, H. y Dawson, W. O. (1982) The use of constant and
alternating temperature regimes and tissue culture to abtan PVS -
free potato plants. Am Potato. J. 59: 221 -230 p.

Mahadevan A. (1982) Foday and tomorrow's Printers and Publishers,
New Delhi India.

Mall H V (1987) Ph. D. Thesis, University of Gorakhpur, India.

Mendoza Z.C., Pinto C. B., (1983) Principios de Fitopatologia y
Enfermedades causadas por hongos p. 208 - 246, 255 - 256.

Montes et, al, (1990) Extractos vegetales inhibidores de la germinación de ureodosporas de *Uromyces phaseolivaritipica* Arth. y su espectro de acción antiesporulante. Rev - Mex. Fitopathol. 8 (1): 64 - 67 p.

National Academy of Sciences (1968) Plant Disease. Development and Control. Washington, D. C. 194 pp.

Nickell (1959) L - G, Eco. Bot. 13, 281 - 318 p.

Olivas E.E., y Romero, S. (1972) Estudio sobre el control biológico de *Fusarium solani* f. *phaseoli*. Agrociencia 9 (D): 83 -90 p.

Pandey et, al, (1990) Antifungal activit y of ajoene, a constituent of garlica (*Allium sativum*) Cam. I. Bot.

R. Montes B., V. Cruz C. M. Domingo P. (1990)
Agrociencia, serie protección vegetal, Colegio Postgraduados;
Montecillo México. 94 -104 p.

Schaffer et, al. (1950) Principios de Fitopatología y Enfermedades causadas por hongos Autores Cecilio, Mendoza, Zamora.

Skinner (1955) Antibiotics, Chapter 16. In Modern Methods. of Plant. Analysis Nol - 3 Eds. K Peach and MN trecey pp 626 - 725 Springer - Verlag y Berlin.

Thapliyal y Nene (1967) J. Sci. Ind. Res. 26 , 289 - 299 p.

Wellman R.H. Annu Rev. Phytopathol 15: 155 - 163 p.

Wilson y Wisniewski (1992) Biological Control of Plant. Diseases. Ed. E.S. Tjamos Plenum Press 133 - 138 p.

Wilson et, al, (1987) Fruits volatiles inhibitory to *Monilinia fruticola* and *Botrytis cinerea*. *Planta Dis.* 71: 316 - 319 p.

Zenteno y Zevada, M. (1974) Bibliografía, sobre hongos fitopatógenos en México. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 8: 107 -136 p.