

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS**

**POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS AGRÍCOLAS Y
FORESTALES**



EXTRACTOS DE ORIGEN VEGETAL PARA EL CONTROL DE *Fusarium oxysporum* y *Erwinia* sp, AISLADOS DE AGAVE (*Agave Tequilana* Weber variedad azul).

TESIS

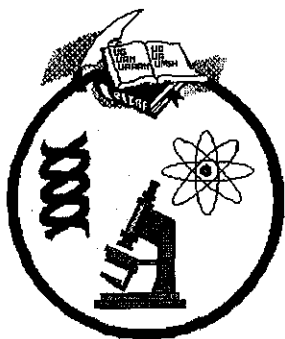
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

RAMÓN RODRÍGUEZ RUVALCABA

ZAPOPAN , JALISCO. JUNIO DEL 2002



POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS AGRICOLAS Y FORESTALES

PICAF

Esta tesis titulada "Extractos de origen vegetal para el control de *Fusarium oxysporum* y *Erwinia* sp, aislados de agave (*Agave tequilana* Weber variedad azul " fue realizada bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

MAESTRIA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS Y FORESTALES

CONSEJO PARTICULAR

TUTOR: _____
M.C. GIL VIRGEN CALLEROS

ASESOR: _____
DR. JOSÉ LUIS MARTÍNEZ RAMÍREZ

ASESOR: _____
DR. JOSÉ CÉSAR MENDOZA CORNEJO

ASESOR: _____
DR. JUAN FRANCISCO CASAS SALAS

ASESOR: _____
M.C. AURELIO PÉREZ GONZÁLEZ



UAA



UAAAN



UdeC



UdeG



UMSNH



UAN

DEDICATORIAS.

**A mi esposa
Ma. Irma Salazar Barajas**

**A mis Hijos
Cintia Briseida, Abril Dinorah, Astrid Euadne, Pedro Israel y Maria
José.**

**A mis padres:
Pedro Rodríguez González y Herlinda Ruvalcaba Jorge.**

**A mis hermanos:
Carmen Placida,
Ma, del Refugio,
Pedro,
Ma. Guadalupe y
Ana Maria.**

**A mis tíos:
Maria de los Ángeles,
Francisca
Soledad +
Jesús +
Pablo + y
Andrés +.**

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Guadalajara
Por mi formación.

Al MC. Salvador Mena Munguía
Rector del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias.
Por sus enseñanzas como maestro y amigo y el apoyo que me ha brindado como Rector del Centro.

MC. Santiago Sánchez Preciado
Srio. Académico del C.U.C.B.A.
Por el ánimo y apoyo para concluir este trabajo y su amistad.

A mi cuerpo tutorial
Dr. Gil Virgen Calleros
Dr. José Luis Martínez Ramírez
Dr. José Cesar Mendoza Cornejo
MC. Aurelio Pérez González y al
Dr. Jorge Molina Torres del C.I.N.V.E.S.T.A.V. Unidad Irapuato, Gto.
Por las enseñanzas que me transmitieron y la confianza que me han brindado.

Al Dr. Juan Francisco Casas Salas
MC. Carlos Manuel Duran Martínez
Por la paciencia que me tuvieron para concluir este trabajo.

Al MC. Salvador Hurtado de la Peña
Dr. Enrique Pimienta Barrios,
Dr. Marcelino Vásquez García
Dr. Mario Abel García Vázquez
Dr. Diego González Eguiarte
MC. Salvador de la Paz Gutiérrez
Dr. Fernando López Della Mari
Dr. José Ron Parra,
Ing. Jaime Santillán Santana
Ing. Leticia Josefina Frago Franco
Ing. J. Jesús Sepúlveda Mejía
Ing. Benito Monroy Reyes
Gracias Maestros, Compañeros y Amigos.

Anyer Carlos M. Iaras
Esteban A. Rojas Pérez

A mis compañeros del Posgrado;
MC. Esperanza Pérez Agís
MC. Moisés Martín Morales Rivera
Ing. José trinidad López Pérez
Ing. Antonio Talavera
MC. José Miguel Padilla García
Ing. Leonel González Borja.

Ing. Artemisa Bernal Alcocer
C. Maria Guadalupe Mata García
C. Daniel Flores Moreno
C. Francisco Camarena Muñoz
C. Víctor Manuel Silva Ronzon.
Por su valiosa ayuda en campo y laboratorio.

Sra. Aurora Aceves Núñez
Leticia Hernández Murillo
Sra. Ana María Sánchez
Sra. Esther Guadalupe Abarca
Por el apoyo para resolver los contratiempos que se suscitaron durante el transcurso de esta investigación.

Este trabajo se llevo a cabo con apoyo del Proyecto **"Epidemiología y manejo integrado de problemas fitosanitarios en *Agave tequilana* Weber variedad azul"** financiado por la Universidad de Guadalajara, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), el Gobierno del Estado de Jalisco y el Consejo Regulador del Tequila, Clave del Proyecto 07, Noviembre de 1997.

CONTENIDO

RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	ii
..	
CAPITULO I INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO II REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1 El cultivo de Agave (<i>Agave tequilana</i> Weber variedad azul).....	6
2.1.1 Etnobotánica.....	6
2.1.2 El cultivo del Agave.....	7
2.1.3 Taxonomía.....	7
2.1.4 <i>Agave Tequilana</i> Weber.....	9
2.1.5 Descripción Botánica.....	9
2.2 Enfermedades del agave.....	10
2.3 Enfermedades del <i>Agave tequilana</i> Weber variedad azul.....	11
2.4 Métodos de Control de Enfermedades.....	14
2.4.1 Control Químico.....	15
2.4.2 Control natural y biológico.....	15
2.4.2.1 Usos de extractos vegetales para el control de enfermedades en las plantas.....	17
2.4.2.2 Métodos de extracción de plantas con actividad biológica.....	18
2.4.2.3 Extracciones.....	19
2.4.2.4 Obtención de fracciones.....	20
2.4.2.5 Características de los solventes.....	20
2.4.2.6 Bioensayos.....	21

2.4.2.7	Plantas con actividad biológica.....	22
2.5	Descripción botánica de las plantas utilizadas.....	23
2.5.1	Ajo (<i>Allium sativum</i> L.).....	23
2.5.2	Cacahuete (<i>Arachis hipogea</i>).....	24
2.5.3	Betabel (<i>Beta vulgaris</i>).....	24
2.5.4	Higuerilla (<i>Ricinus cummunis</i>).....	25
2.5.5	Paraíso (<i>Melia azederach</i> , L).....	25
2.5.6	Acelga (<i>Beta vulgaris</i> L).....	26
2.5.7	Laurel (<i>Laurus nobilis</i> L.).....	27
2.5.8	Ruda (<i>Ruta graveolens</i> L.).....	27
2.5.9	Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>).....	28
2.5.10	Espinaca (<i>Spinacea oleracea</i> L.).....	28
2.5.11	Cebolla (<i>Allium cepa</i> L.).....	29
2.5.12	Granada (<i>Punica granatum</i> L).....	29
2.5.13	Cebada (<i>Hordeum vulgare</i>).....	30
2.6	<i>Fusarium oxysporum</i>	30
2.7	<i>Erwinia</i> sp.....	32
CAPÍTULO III	MATERIALES Y METODOS.....	33
3.1	Incidencia y severidad de <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Erwinia</i> sp.....	33
3.2	Aislamiento e identificación de <i>Fusarium oxysporum</i>	33
3.3	Aislamiento e identificación de <i>Erwinia</i> sp.....	34
3.4	Material vegetal para la obtención de extractos.....	34
3.5	Obtención de los extractos vegetales.....	35
3.6	Pruebas de sensibilidad de <i>Erwinia</i> sp a extractos vegetales.....	36
3.7	Pruebas de sensibilidad de <i>Fusarium oxysporum</i> a los extractos vegetales.....	37
3.8	Diseño experimental.....	37
3.9	Análisis estadístico.....	38

	3.10 Pruebas de hipótesis.....	38
CAPÍTULO IV	RESULTADOS	41
	4.1 Evaluación del estado fitosanitario.....	41
	4.2 Análisis de Varianza.....	46
	4.3 Extractos Vegetales.....	47
	4.4 Solventes.....	47
	4.5 Concentraciones.....	48
	4.6 Tiempo.....	48
	4.7 Tratamientos x solvente.....	49
	4.8 Tratamientos x concentración.....	49
	4.9 Tratamientos x tiempo.....	50
	4.10 Solvente x concentración.....	51
	4.11 Solventes x tiempo.....	52
	4.12 Concentración x tiempo.....	52
	4.13 Sensibilidad de <i>Erwinia</i> sp. a los extractos vegetales.....	53
CAPÍTULO V	DISCUSIÓN.....	55
CAPÍTULO VI	CONCLUSIONES.....	58
CAPÍTULO VII	LITERATURA CITADA.....	59

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1 Fitopatógenos asociados al cultivo del <i>Agave tequilana</i> Weber variedad azul (1998).....	12
2 Escala para evaluar el daño por marchites provocada por <i>Fusarium oxysporum</i>	13
3 Escala para evaluar el daño por marchites del agave por <i>Erwinia</i> sp.....	13
4 Plantas y la parte usada para elaborar los extractos (1999).....	34
5 Relación de tratamientos utilizando como solvente H ₂ O para inhibición de <i>Fusarium oxysporum</i>	35
6 Relación de tratamientos utilizando como solvente Alcohol para inhibición de <i>Fusarium oxysporum</i>	36
7 Relación de tratamientos utilizando H ₂ O y Alcohol para inhibición de <i>Erwinia</i> sp.....	36
8 Modelo estadístico para el análisis de varianza.....	37
9 Análisis de varianza de la inhibición de <i>fusarium oxysporum</i> con 14 extractos vegetales, Zapopan, Jalisco. (2001).....	46
10 Promedio de inhibición de <i>Fusarium oxysporum</i> con 14 extractos vegetales Zapopan, Jalisco. (2001).....	47
11 Eficacia de los solventes utilizados para la inhibición de <i>Fusarium oxysporum</i> . Zapopan, Jalisco. (2001).....	48
12 Diferencia estadística entre concentraciones utilizadas. Zapopan, Jalisco. (2001).....	48
13 Promedio de inhibición de <i>Fusarium oxysporum</i> en cuatro lecturas. Zapopan, Jalisco. (2001).....	48
14 Inhibición de <i>Erwinia</i> sp. aislada de Agave con diferentes extractos a 1500 p.p.m.....	54
15 Inhibición de <i>Erwinia</i> sp. aislada de Agave con diferentes extractos a 3000 p.p.m.....	54
16 Inhibición de <i>Erwinia</i> sp. Aislada de Agave con diferentes extractos a 4500 p.p.m.....	54

INDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Grado de severidad por <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Erwinia</i> sp. en el municipio de Arandas, Jalisco. Agosto-Diciembre de 1998.....	41
2	Grado de severidad por <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Erwinia</i> sp. en el municipio de Atotonilco, Jalisco. Agosto-Diciembre de 1998.....	42
3	Grado de severidad por <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Erwinia</i> sp. en el municipio de Jesús María, Jalisco. Agosto-Diciembre de 1998.....	43
4	Grado de severidad por <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Erwinia</i> sp. en el municipio de Tepatitlán, Jalisco. Agosto-Diciembre de 1998.....	43
5	Grado de severidad por <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Erwinia</i> sp. en el municipio de Zapotlanejo, Jalisco. Agosto-Diciembre de 1998.....	44
6	Grado de severidad por de <i>Erwinia</i> sp. en el municipio de Tequila, Jalisco. Agosto-Diciembre de 1998.....	45
7	Grado de severidad por de <i>Erwinia</i> sp. en el municipio de Santa Cruz del Astillero, Jalisco. Agosto-Diciembre de 1998.....	45
8	Interacción tratamiento-solvente.....	49
9	Interacción tratamiento-concentración.....	50
10	Interacción tratamiento-tiempo.....	51
11	Interacción solvente-concentración.....	51
12	Interacción solvente-tiempo.....	52
13	Interacción concentración-tiempo.....	53

RESUMEN.

El notable incremento de enfermedades que afectan al agave (*Agave tequilana* Weber variedad azul), ha provocado considerables pérdidas en este cultivo, encarecimiento del mismo, costos del producto final, el tequila, además, de la falta de información sobre las enfermedades que lo atacan y la carencia de medidas de manejo adecuadas. Por otro lado se ha abusado en el uso de agroquímicos que únicamente han elevado el costo del cultivo. Ante esta situación, el presente trabajo tuvo como objetivos: a) determinar el estado fitosanitario en el cultivo de agave (*Agave tequilana* L. Weber variedad azul) en las zonas altas y centro del Estado de Jalisco en relación a *Fusarium* sp y *Erwinia* sp. b) buscar compuestos de origen vegetal con actividad biológica sobre los patógenos, *Fusarium oxysporum* y *Erwinia* sp de agave, y c) evaluar *in vitro* los compuestos bioactivos para el control de *F. oxysporum* y *Erwinia* sp. en agave. Se colectaron plantas de agave enfermas con diferentes grados de daño y síntomas de las principales zonas productoras de los altos y centro del estado de Jalisco durante los años 1997 y 1998. En el laboratorio los aislamientos mostraron la presencia de hongos tales como: *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora* sp., entre otros. Se aisló e identificó la presencia de la bacteria *Erwinia* sp. y se determinó la frecuencia de aparición de cada uno de los fitopatógenos identificados, donde *Fusarium oxysporum* y *Erwinia* sp. fueron los más importantes. Por otro lado, se hicieron extractos de compuestos presentes en 13 especies vegetales. Las extracciones se realizaron utilizando como solventes agua y alcohol. Se evaluó la eficiencia de los extractos sobre los patógenos a dosis de 0, 750, 1500 y 3000 p.p.m. para *Fusarium*, y 2000, 3000 y 4500 p.p.m. para *Erwinia*. Los resultados mostraron que los extractos de *Laurus novilis*, *Beta vulgaris*, *Melia azederach*, *Spinacea oleraceae* y *Allium sativum* resultaron activos para la inhibición *in vitro* de *Fusarium oxysporum*.

Palabras clave: Agave, *Fusarium*, *Erwinia*, tequila.

ABSTRACT

The increase in diseases that affect agaves (*Agave tequilana* Weber var. azul), have produced considerable losses in this crop, price raises, as well as raises in costs of the final product, the tequila. Also, the small amount of information about the diseases that attack this crop and the lack of adequate management strategies. There has been an excessive use of pesticide that has only raised the cost of crop production. The present investigation pretends the next goals: Identify phytosanitary statues in agave crop (*Agave tequilana* L. Weber blue variety) in the highlands and center of the state of Jalisco State; Research compounds of vegetable origin with biological activity so the pathogens, *Fusarium oxysporum* and *Erwinia* sp in Agave and *in vitro* evaluation of the bioactive compounds for the control of *F. oxysporum* and *Erwinia* sp in agave. Diseases plants of agave where collected with different degree of damage and by *Fusarium oxysporum* and *Erwinia* from the production areas of the highlands and center of the state of Jalisco, during the years 1998 to 1999, the samples where processed in the laboratory, the isolation showed the presence of : *Fusarium oxysporum* and *Phytophthora* sp.. The bacteria *Erwinia* sp. was isolated and identified. Was determined that *Fusarium oxysporum* and *Erwinia* sp. are the most important. Pathogens. Fourteen extracts were obtained. The extract were made using water and alcohol as solvents. With the extracts obtained the efficacy upon pathogens was evaluated at rates of 750, 1500 and 3000 p.p.m. for *Fusarium oxysporum* and for *Erwinia* sp. at rates of 2000, 3000 and 4500 p.p.m. The results obtained demonstrated that only the extracts of *Laurus nobilis*, *Beta vulgaris*, *Melia azederach*, *Spinaceae oleraceae* and *Allium sativum* resulted as active *in vitro* inhibitors for *Fusarium oxysporum*.

Key words: Agave, *Fusarium*, *Erwinia*, tequila.

CAPITULO I INTRODUCCIÓN

México es el único productor de Agave en el mundo y Jalisco ocupa el primer lugar como productor de agave (*Agave tequilana* L. Weber variedad azul) con una producción de 380,226.460 Kg. que se producen en un área de 50,000 has. (A. G. Valenzuela Zapata, 1994), de donde se obtienen 83,447.792 lts. de tequila, de los cuales se exportan 48,500.037 lts. a 50 países aproximadamente en 1997. El agave (*A. tequilana* L. W. Var. azul) materia prima cuya destilación da como producto final la bebida alcohólica llamada tequila, está pasando por una situación fitopatológica seria, donde no se ha dado la incidencia de intereses para resolver esta situación tanto por la industria tequilera como por los productores. El consumo de tequila se ha incrementado notablemente a últimas fechas, debido tanto a la demanda nacional como internacional. Esto ha provocado que se incremente la necesidad de materia prima, lo cual ha provocado un incremento en los últimos años de la superficie cultivada. Sin embargo, el aumento de la superficie cultivada, ha traído como consecuencia un incremento en la problemática fitosanitaria, lo cual ha limitado la producción del cultivo (C. R. T., 1998).

Algunos de los principales patógenos asociados al agave que se han identificado son : la bacteria del género *Erwinia* sp, así como los hongos; *Fusarium* sp. y *Phytium* sp (Valenzuela, 1994). La pudrición del tallo en *Agave tequilana* L. Weber es causada por *Fusarium oxysporum* (Luna, 1996).

Por lo anterior es de suma importancia el que se haga investigación para encontrar alternativas de control de las enfermedades, para lograr un manejo integrado del problema fitosanitario procurando que este sea eficiente y de bajo costo, económico y ambiental, resultando la alternativa como lo mas prometedor de los extractos vegetales, considerando que nuestro país es uno de los que tienen mayor riqueza en este aspecto.

Desde la aparición del libro "Primavera Silenciosa" (Carlson, 1961) ha sido cuestionado el uso indiscriminado de pesticidas, pero es hasta hace relativamente poco tiempo que la presión social se ha fortalecido (Montes-Belmont, 1996).

En el caso específico de los fungicidas, el Consejo Nacional de Investigación en Agricultura de la Academia de Ciencias de Estados Unidos, determinó que estos productos constituyen el 60% de los pesticidas usados en la producción de alimentos con riesgos oncogénicos por lo que su uso debe ser restringido (Wilson y Wisniewski, 1992). Además hasta el momento se conocen 150 especies de patógenos, principalmente hongos, que han desarrollado resistencia a los productos existentes en el mercado (Wierenga *et al.*, 1994).

Una alternativa que merece mayor atención es la posibilidad de utilizar los metabolitos secundarios desarrollados por las plantas para el combate de fitopatógenos (Montes-Belmont, 1996).

Existen antecedentes paleobotánicos de la presencia de hongos parásitos de plantas de alrededor de 400 millones de años (Swain, 1978), lo que indica que estos microorganismos probablemente han sido un factor en la presión de selección de especies habiendo surgido infinidad de variedades anatómicas y fisiológicas (polimorfismo genético) intraespecíficas e interespecíficas, relacionadas con su defensa al ataque de patógenos (Montes-Belmont, 1996)

El cultivo del agave tequilero ha pasado por un sinnúmero de problemas fitopatológicos, a pesar de la supuesta rusticidad que se le adjudica al cultivo, pero, con todo y esto ha sido presa de un grupo numeroso de plagas y enfermedades. Esto ha traído como consecuencia, problemas de mercadotecnia, en virtud de la escasez de planta para la industria tequilera y como material vegetativo para seguir propagando este cultivo, ya que otros tipos de propagación se encuentran aún en investigación y en la actualidad no se han llevado a campo, por lo que no se ha comprobado su efectividad.

Por otro lado existe el manejo agronómico adecuado en control de enfermedades, aspectos entomológicos y de malezas que compiten con el cultivo y además fungen como hospederas de los patógenos que aquejan al cultivo del agave. Ante esta situación, y además de las problemáticas añejas no resueltas,

se corre el riesgo de que el panorama que hoy se presenta con el cultivo de agave y todo su entorno fitopatológico que esto conlleva, puede llegar a ser un problema de tipo endémico y esto traería como consecuencia que se abrieran otras tierras al cultivo, pero, si partimos de la premisa de la "Denominación de Origen", con este manejo que hasta hoy se le ha dado a esta problemática, no serían suficientes, los estados de Guanajuato, Tamaulipas, Nayarit y Michoacán, porque lo único que se ha hecho hasta ahora es mover el problema a zonas donde éstas enfermedades no estaban presentes. De esta forma tenemos la responsabilidad histórica de contrarrestar, combatir y eliminar este riesgo de que el tequila deje de elaborarse de acuerdo a la norma y más adelante desaparezca este motivo de nuestra identidad nacional.

La agricultura del nuevo milenio debe establecer nuevas alternativas de control que produzcan un menor impacto ambiental, que permitan reducir significativamente el uso de plaguicidas, los cuales por su elevado costo, también representan una limitante para los productores. La utilización de extractos vegetales para el control de enfermedades representa una alternativa para el manejo integrado de los cultivos, debido a su bajo costo y al menor impacto sobre el ambiente y los alimentos. No obstante, hay pocos trabajos sobre el control de bacterias y hongos fitopatógenos con extractos de plantas.

En Jalisco, de acuerdo a la generación de agave, existen tres zonas productoras, las cuales se clasifican en, Altos, Centro y Sur, estas representan una fuente importante de divisas y además, la industria del tequila es un soporte económico sustancial para numerosas familias en el estado y del país.

Con estos antecedentes y aun con la importancia que reviste esta agroindustria, hasta ahora se encuentra en detrimento por que se ha visto afectada por las enfermedades en el cultivo del agave, las cuales, se han diseminado rápidamente causando severos problemas, y por ende, repercute en el factor económico. No obstante las pérdidas que esto ha ocasionado, no se ha dado la investigación por parte de las empresas tequileras, productores ni otras instancias involucradas para dar solución a esta problemática.

La investigación se debe llevar a cabo para determinar con precisión la etiología de dichas enfermedades, y con ello, disminuir fallas en el control, ya que continuamente se usan compuestos químicos que no son los adecuados para estos problemas.

Por esta razón, los productores de agave demandan constantemente tecnologías adecuadas para el combate y control de estas enfermedades.

El consumo de tequila se ha incrementado notablemente a últimas fechas, debido tanto a la demanda nacional como internacional. Ante esta situación, se han llevado a cabo algunos trabajos de investigación con la finalidad de establecer cuales son los principales problemas que inciden en el deterioro del cultivo, a pesar de ello, aun continúan sin esclarecerse estos problemas, y menos aun, cuales son los factores ambientales, genéticos y aquellos ligados a los sistemas de producción que influyen en que esta problemática se incremente año con año causando con ello, fallas en el manejo del cultivo, provocando un incremento principalmente en insumos tales, como fertilizantes, insecticidas, funguicidas entre otros agroquímicos, lo cual aumenta los costos de producción y una considerable reducción de esta.

Con esta panorámica de la situación que prevalece, es necesario establecer, cuales son las principales enfermedades que provocan este daño en el cultivo del agave, así como la búsqueda de alternativas de manejo de esta problemática para hacer más productivo y rentable este cultivo, con el beneficio a los productores de las zonas que enmarcan la denominación de origen y todo lo que conlleva esta importante agroindustria.

El presente estudio con base a la selección de diferentes extractos acuosos, donde las plantas que no mostraron actividad contra hongos y bacterias se fueron eliminando hasta quedar finalmente las más prometedoras, primeramente *in vitro* para que en un futuro próximo se lleven a campo. El estudio se realizó en dos zonas productoras de agave en el estado de Jalisco (Altos y Centro) y en el Laboratorio de Fitopatología del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara. La evaluación

fitosanitaria para determinar la importancia de los problemas fitopatológicos en agave se realizó un muestreo aleatorio, en la zona de los altos para estimar la distribución, incidencia y severidad de las dos principales enfermedades ("pudrición de cogollo" y "marchites"). Se midieron empleando la escala arbitraria de 1 a 5, propuesta por Martínez-Ramírez *et al* (1998), donde 1 es planta sana y 5 planta muerta (cuadros). El muestreo se realizó utilizando un sitio de muestreo para cada 100 has. de cultivo. El muestreo dentro de los predios se realizó de una manera sistematizada. En cada uno de los predios muestreados se dejaron 4 hileras de plantas como borde y se inicio en la quinta hilera. Asimismo, se dejaron las primeras 20 plantas para evitar el efecto de orilla y se tomaron los datos de las siguientes 20 plantas. Lo anterior se repitió cada 20 surcos, para completar un total de 100 plantas por predio muestreado. Los datos obtenidos fueron usados para determinar el porcentaje de plantas enfermas y grado de severidad.

Con base a lo anterior, este trabajo de investigación tuvo como objetivos los siguientes: a) Determinar el estado fitosanitario en el cultivo de agave (*Agave tequilana* Weber variedad azul) en las zonas Altos y Centro del Estado de Jalisco en relación a *Fusarium oxysporum* y *Erwinia* sp. b) Búsqueda de compuestos de origen vegetal con actividad fungitóxica y bactericida para evaluarlos *in vitro*

Con los objetivos anteriores se planteo las siguientes hipótesis: La incidencia de *Erwinia* sp. y *Fusarium oxysporum* es alta en las zonas altos y centro del estado de Jalisco. Existen metabolitos vegetales capaces de controlar o inhibir el desarrollo de *Erwinia* sp y *Fusarium oxysporum* causantes de enfermedades en *Agave tequilana* Weber variedad azul.

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1. El cultivo de Agave (*Agave tequilana* Weber variedad azul)

2.1.1. Etnobotanica.

Los agaves fueron usados por las tribus mesoamericanas como alimento, para producir bebidas, fibras, protección y los suplieron de una gran diversidad de productos naturales. Los agaves fueron las primeras plantas junto con los nopales (*Opuntia sp.*) en ser domesticadas por las poblaciones prehispánicas que se asentaron en las regiones áridas de México y han formado parte de la dieta humana desde hace 9000 años (Nóbel, 1994).

Los indígenas seleccionaban para cultivar los fenotipos más dulces y solían cocinar las partes más suaves de la planta, cabe hacer notar que las poblaciones indígenas denominaron "mezcal" a los agaves del noroeste de México y "maguey" a los agaves del centro de México (Gentry, 1982).

Las bebidas fermentadas eran las de mayor importancia ya que se incorporaban en sus ceremonias religiosas y místicas, la bebida del agave estuvo asociada con una gran cantidad de dioses, aunque la más representativa fue la diosa Azteca del pulque "Mayahuel", quien está representada de diferentes maneras en los códices mexicanos, pero se identifica por las hojas y la estilizada inflorescencia del maguey (Goncalves de Lima, citado por Valenzuela, 1994)

El jugo de agave o pulque se tomaban mucho antes del periodo Azteca. Con todo esto, es notable la labor que hicieron los Aztecas entre otros náhuatl en la refinación, elaboración y extensión del cultivo del agave y sus productos; así como la elaboración empírica de las bebidas fermentadas (Gentry, 1982).

El pulque es una bebida rústica, poco o no destilada elaborado a partir de la pulpa de agave fermentado que ha sido conocido como la bebida de los plebeyos entre los indígenas y mestizos de la mesa central (Smith, 1997).

El pulque se ha producido desde los tiempos prehistóricos, aunque su registro data de 300 años A.C. (Granados, 1993) su uso es generalmente local, este es el producto que estimuló el cultivo de agave y llegó a ser básico para las civilizaciones ancestrales mexicanas (Gentry, 1982).

2.1.2. El cultivo del Agave.

El nombre agave proviene del Griego "Agavus" que significa "noble" o "admirable". Este género fue descrito por primera vez por Carlos Linneo en 1753 (De la Cerda, 1967), donde nombró la primera especie, *Agave americana*, que a su vez ha sido denominada vulgarmente como la planta del siglo. Recientemente Nóbél, (1994) reconoce que el agave y las cactáceas desempeñan un papel importante en la agricultura de las principales zonas áridas y semiáridas. El agave y otras especies suculentas de importancia económica en el mundo han sido reconocidas como parte de un grupo de plantas notables, destacadas, extraordinarias e insólitas. Los agaves son plantas suculentas con un grado alto de adaptación a la aridez debido a que presentan modificaciones estructurales y fisiológicas que le permiten subsistir en ambientes en que el agua es el principal factor ecológico que limita el desarrollo vegetal. Entre las modificaciones estructurales resalta la suculencia, cutícula gruesa, baja densidad de estomas, raíces someras superficiales y lo más relevante es que presentan metabolismo ácido crasuláceo (CAM) lo cual aumenta la eficiencia en el uso del agua (Nóbél, 1994).

2.1.3. Taxonomía.

El origen de la diversidad de variedades y morfoespecies de agave son el resultado de varias acciones, entre las que destacan: la selección de fenotipos sobresalientes en poblaciones nativas, la hibridación natural cuando algunos de estos fenotipos coincidían simpátricamente en un mismo sitio y la dispersión de

esta variación por los mismos habitantes, lo que significa un caso de selección masal recurrente.

Linneo fue el primero en identificar cuatro especies en el género en 1753. Posteriormente Salm Dyck, en 1834 y en 1859 describió 45 especies y dividió el género en 5 secciones. En 1915, Berger describió 274 especies, estableciendo tres subgéneros: *Manfreda*, *Littaea* y *Euagave*, su concepto de especie, se basa en las variaciones vegetativas, más que en la morfología floral. Trelease, también se enfoca en las características vegetativas de materiales fragmentados, con escaso uso de los caracteres florales, por lo que también se limitó en su concepto de especie; Berger y Trelease, reconocieron 310 especies, a las que después otros botánicos adicionaron 35 propuestas más de especies (Gentry, 1985).

Generalmente, la clasificación de las especies fue en base a características vegetativas y cuando se presentaron plantas con diferencias significativas se consideraron como nuevas especies. Gentry (1982), consideró mejor la taxonomía basada en la morfología de la hoja y de la flor. De esta manera identificó dos formas distintas en la inflorescencia, una que agrupó dentro del subgénero *Littaea*, que presenta flores unidas al eje floral, en pares, agrupadas, y rara vez en racimos en pequeños grupos distintos, un ejemplo es *Agave obscura*.

Por otro lado, las plantas con flores paniculadas en grandes grupos con umbelas en ramas laterales se clasifican en el subgénero *Agave*. Con *A. tequilana* como un ejemplo típico. La clasificación en grupos se llevó a cabo principalmente en la morfología de hojas, flores y zonas geográficas donde se colectaron estas plantas.

Recientemente, Gentry (1982), ubica el género *Agave* en la familia *Agavaceae* y reconoce 136 especies, 25 subespecies, 29 variedades y 7 formas, concluye su prefacio y menciona que deja a los futuros taxónomos de *Agave* una buena oportunidad para mejorar.

Granados (1993), al hacer un análisis de relaciones citotaxonómicas y citogenéticas concluye que el género *Agave* presenta un problema desde el punto de vista taxonómico por su gran variación genotípica y consecuentemente

fenotípica, incluso dentro de una misma población y aún en una misma planta. Observó una inconsistencia en el número de cromosomas, ya que varía en una planta joven y en una adulta de la misma especie, al igual que el número de cromosomas somáticos y gaméticos en las diferentes partes de la planta, como raíces, tallo y hojas.

2.1.4. *Agave tequilana* Weber.

En la actualidad, la especie de *agave*, (*Agave tequilana* Weber variedad Azul) es la que se cultiva en alrededor de 50,000 has. en tierras sin riego en el estado de Jalisco, con la cual se elabora el tequila, se señala como la *agaveacea* de mayor superficie sembrada en el mundo. *Agave tequilana* Weber pertenece al subgénero *Agave* y a la sección *Rigidae*, a la cual pertenecen las especies cultivadas para producir fibras, como el henequén (*A. fourcroydes* Lem.) y el espadín (*A. angustifolia* Perrine) para la elaboración de mezcal en Oaxaca. Durante la segunda mitad del Siglo XIX, se cultivaron una gran cantidad de *A. tequilana* y otras variedades de *agave* para producir tequila, los que se denominaron como, "mano larga", "bermejo", "pata de mula", "siguín" y "zopilote". Gentry (1982), considera estas como sinónimos.

Es notable la falta de estudios taxonómicos para una caracterización completa dentro de estas variedades y la necesidad de conservar el germoplasma en todas las especies de *agave* (Valenzuela, 1994).

2.1.5. Descripción Botánica.

Agave tequilana Weber variedad azul es descrita por Gentry (1982) como "una planta surculosa, extendida radialmente, con una altura de 1.2 a 1.8 m. con tallos gruesos y cortos de 30 a 50 cm de altura en su madurez. Las hojas son de 90 a 120 cm, lanceoladas, acuminadas, de fibras firmes, la mayoría de ellas rígidamente estiradas, cóncavas, ascendiendo a horizontal, donde lo más ancho de las hojas se encuentra a la mitad, disminuyendo y engrosando hacia la base, generalmente de color azulado glauco a verde grisáceo, algunas partes con zonas

de coloraciones cruzadas, con un margen de recto a ondulado o pando; los dientes son de color café claro a oscuro, generalmente regulares en tamaño y espaciamiento, y en pocos casos irregulares, en su mayoría de 3 a 6 mm. de largo a través de la parte media de la hoja, se encuentran separados 1 a 2 cm., raramente son remotos o más largos; las espinas son generalmente cortas, de 1 a 2 cm., de longitud, rara vez son mas largas achatadas o surcadas abiertamente arriba, con base ancha, de color café oscuro, decurrente o no recurrente; la panícula tiene de 5 a 6 m., de altura con gran densidad de ramas con 20 a 25 umbelas grandes difusas de flores verdes con estambres rozados; las flores tienen de 68 a 75 mm., de largo en pequeños pedicelos bractéolados de 3 a 8 mm., de longitud; el ovario es de 32 a 38 mm., de largo, cilíndrico, con cuello corto no constricto terminado ligeramente en punta sobre la base; el tubo floral es de 10 mm., de profundidad, de 12 mm., de ancho, funeliforme y surcado; los pétalos son desiguales de 25 a 28 mm., de longitud con 4 mm., de ancho lineares, erectos pero rápidamente flojos en antésis, tornándose en cafés y secos; los filamentos son de 40 a 50 mm., de longitud doblados hacia adentro contra el pistilo, insertados a 7 y 5 mm., arriba de la base del tubo; las anteras miden 25 mm. de largo; el fruto es una cápsula ovada o brevemente cuspidada”.

2.2. Enfermedades del agave.

Varios autores mencionan ciertos antecedentes del género *Agave*, en relación a las enfermedades, entre ellos Lezama (1952), señala algunas de las plagas que afectan al cultivo de agave. Pérez (1980) y Villalvazo (1986), consignan que dos de las enfermedades fungosas mas importantes que atacan al agave pulquero en la mesa central de México así como el *Agave tequilana* L. Weber, en la región de tequila, Jalisco, son la mancha negra (*Asterina mexicana* Ell y Ev.) y la Antracnosis (*Colletotrichum agaves*). Otras enfermedades en *Agave tequilana* lo son; el tizón de las pencas causado por *Alternaria* sp y *Stangonosporae gigantea*, la pudrición roja de las pencas es causada por

Chalariopsis sp, la pudrición de raíz es causada por los hongos *Armillaria melleosa* y *Fusarium* sp. (Granados 1993).

Algunos de los principales patógenos asociados al agave que se han identificado son : la bacteria del genero *Erwinia* sp, así como los hongos; *Fusarium* sp. y *Phytium* sp, (Valenzuela, 1994). La pudrición del tallo en *Agave tequilana* L. Weber es causada por *Fusarium oxysporum* , (Luna, 1996).

2.3. Enfermedades del *Agave tequilana* Weber variedad azul.

Entre los fitopatógenos que más daño ocasionan a este cultivo destacan aquellos asociados a la marchites del agave, este síntoma se ha asociado a fitopatógenos tales como *Erwinia* sp y *Fusarium* sp, o por la acción de ambos fitopatógenos (Martínez, 1994 y Vélez *et al.*, 1996). Los síntomas típicos de la marchites bacteriana son lesiones necroticas y acuosas en las hojas que en la mayoría de los casos inician en la espina apical o en las espinas laterales, estas lesiones avanzan hacia el centro de la hoja, y en el centro del cogollo causan una pudrición descendente que llega hasta la piña y puede provocar la muerte de la planta. Por otra parte el hongo *Fusarium* sp produce síntomas iniciales tales como: encarrujamiento y decoloración de las hojas que contrasta con el azul típico de las plantas sanas, también causa una pudrición seca del sistema radicular, dejando una apariencia polvosa, la cual avanza hasta la piña (muerte ascendente). A diferencia de la pudrición bacteriana no existen lesiones acuosas en las hojas (Martínez *et al.*, 1998).

Los principales fitopatógenos que se identificaron en las diferentes partes de la planta de acuerdo a las observaciones hechas los fitopatógenos mas importantes por sus efectos sobre el desarrollo de la planta así como por su distribución, fueron *Erwinia* sp. (pudrición del cogollo) y *Fusarium oxysporum* .(marchitamiento o encarrujamiento). La presencia de estos fitopatógenos no es constante durante el año, al menos con la misma intensidad ya que depende

directamente del inóculo y este a su vez del hospedero, así como de las condiciones climáticas. Aunque se trabajó principalmente con *Erwinia* y *Fusarium* también se encontraron otros hongos y bacterias causantes de enfermedades (Cuadro 1).

También se encontró que la presencia de *Erwinia* sp. se asoció en la mayoría de las ocasiones con un inicio a nivel de la base de las espinas, ya fueran laterales o apicales, predominando en estas últimas, sobre todo en las hojas centrales de la planta, de donde posteriormente avanzó la enfermedad hacia la piña.

CUADRO 1. Fitopatógenos asociados al cultivo de *Agave tequilana* Weber variedad azul. (1998)

Enfermedad	Nombre científico	Parte afectada
Anillo rojo	<i>Erwinia</i> sp	Hojas
Marchites bacteriana	<i>Erwinia</i> sp	Hojas y piña
Pudrición de la raíz	<i>Fusarium oxysporum</i>	Raíces y piña
Pudrición de la raíz	<i>Phytophthora</i> sp	Raíces
Mancha anular	<i>Didymosphaeria</i> sp (<i>Asterina mexicana</i>)	Hojas
Mancha foliar	<i>Botrydiplodia</i> sp	Hojas
Viruela	<i>Pleospora</i> sp	Hojas
Virus	No identificado	Hojas
Nemátodos	<i>Pratylenchus</i> sp	Raíces
Nemátodos	<i>Dorylaimus</i>	Raíces
Nemátodos	<i>Helicotylenchus</i> sp	Raíces

Estos fitopatógenos han provocado un incremento considerable en el desarrollo de las enfermedades, lo cual puede ocurrir debido a que existe poca variabilidad genética en esta planta (Gil, 1996).

Dado que la marchites se considera que es una de las principales enfermedades de este cultivo Martínez *et al.* (1998), propusieron una escala para evaluar el daño por *Fusarium* sp. y *Erwinia* sp. (Cuadros 2 y 3).

Cuadro 2. Escala para evaluar el daño por marchites provocada por *Fusarium oxysporum*.

ÍNDICE	DESCRIPCIÓN
1	Planta sana.
2	De una a cinco hojas externas con encarrujamiento ligero.
3	De 6 a 10 hojas externas con encarrujamiento.
4	Planta con mas de 10 hojas con encarrujamiento acentuado.
5	Planta muerta fácil de desprender del suelo.

Cuadro 3. Escala para evaluar el daño de marchites del agave por *Erwinia* sp.

ÍNDICE	DESCRIPCIÓN
1	Planta sana.
2	De una a cinco lesiones acuosas con una longitud de 1 a 30 cm., iniciando en las espinas apicales o laterales.
3	Una o más lesiones acuosas de mas de 30 cm., o bien, mas de 6 lesiones de 50 a 30 cm.
4	Lesiones necroticas en el cogollo que avanzan hasta casi llegar a la piña.
5	Cogollo completamente dañado, llegando hasta la piña, planta evidentemente muerta.

En el estudio de la marchites, en plantas de *Agave tequilana* L. Weber cultivadas en maceta, el análisis microbiológico, se identifico y se hicieron conteos de *Fusarium* spp. en tierras estériles, no estériles e interior y exterior de las plantas.. El análisis de clorofila mostró valores mayores en los grupos de plantas sembradas en tierras estériles en relación a las sembradas en tierras no estériles indicándose una correlación entre el contenido de clorofila y el estado de marchites de la planta causado por *Fusarium* sp (Salinas *et al.*, 1999).

El clavo (*Fusarium* sp) síntoma que presenta la planta por la falta de crecimiento y desprendimiento de las hojas del cogollo. Al desenterrarla y partirla

en dos, el daño se observa desde el tronconcito del rizoma hasta la cabeza. Se observa un endurecimiento vertical de color rojizo a ocre, está presente en hijuelos de reciente plantación, al cabo de un tiempo mueren (Valenzuela, 1997).

Vélez, *et al.* (1996) señalaron que *Fusarium* sp se caracteriza por la pudrición en la raíz y cabeza, hojas encarrujadas color violeta y en la base de éstas una coloración amarilla.

Fusarium oxysporum a 10°C es donde muestra el mayor crecimiento del micelio este se dio en pH de 5.0 a 8.0 y requiere de 46 días para alcanzar el diámetro total de la caja de Petri (8.5 cm). A 15°C requiere 19 días y el crecimiento fue mayor a 5.5 de pH. El desarrollo del micelio total a 20°C fue a los 9 días de incubación con pH de 5.0 a 7.5. El crecimiento micelial del hongo avanzó mas rápido a 25°C requiriendo de 7 días de incubación para su crecimiento total y el pH fue de 5.0 a 7.5. En la mayoría de las temperaturas estudiadas el pH favorable fue de 5.0 a 7.5 (Bernal *et al.*, 2001).

En *Fusarium oxysporum* la germinación de microconidias a 15°C se ve favorecida desde un pH de 5.0 en adelante. A 20 y 25°C la germinación se favorece de 5.0 a 6.0 de pH. A 15°C se da la mayor germinación de macroconidios a 5.0-6.5 de pH. A 20°C la germinación se favorece a 5.0 y 5.5 de pH; y a 25°C la mayor germinación se dio a pH de 5.5 y 6.0. La germinación de clamidosporas se ve favorecida a 10 y 25°C con un pH de 5.5 (Bernal *et al.*, 2001).

La secazón (*Erwinia* sp) donde los primeros síntomas se observan en el cogollo; las hojas cercanas a éste se marchitan y presentan ciertos puntos en relieve. La marchites se torna general, en ocasiones acompañada con la pudrición del cogollo. Las tonalidades rosas y rojizas en las bases de las hojas aparecen como una falsa madurez. Esta enfermedad se acompaña de exudados de color rojizo (sanguinolentos) en la base de las hojas (Valenzuela, 1997).

2.4. Métodos de control de enfermedades.

En la búsqueda permanente de atacar a las enfermedades y proteger a los cultivos, los investigadores han desarrollado estrategias que permitan llevar un cultivo de la manera mas sana posible.

2.4.1. Control químico.

El control químico estuvo dirigido durante muchas décadas al control de los hongos, por lo que comúnmente se realiza el término fungicida para referirse a los productos químicos que controlan las enfermedades en las plantas el primer producto o combinación de productos que alcanzó uso extensamente para el control de enfermedades fungosas, fue el caldo bordeles, cuyo inicio se dio en 1880. Le siguieron los productos mercuriales inorgánicos y estos fueron desplazados casi por completo por los mercuriales orgánicos en la década de 1910. En la década siguiente se desarrollaron los azufres inorgánicos para espolvoreo y los mojables para partículas más pequeñas. Otra década más tarde, los cobres fijos y los azufres orgánicos (ditiocarbamatos) cobraron actualidad. Le siguieron las quinonas. En los años posteriores a la II Guerra Mundial se desarrolló el uso de los desinfectantes, fumigantes derivados de compuestos orgánicos no aromáticos y de muchos otros fungicidas orgánicos muy eficaces que dieron gran impulso al uso de pesticidas. Las guanidinas, derivadas de compuestos heterocíclicos, algunos con efecto acariciadas comenzaron a aparecer a partir de 1959. Los derivados de compuestos aromáticos que le siguieron fueron más específicos. Los aceites pesticidas de origen mineral (petróleo) o vegetal, sirvieron para combinarlos con los pesticidas pero en algunos casos actúan solo eficazmente. Todos los tipos de pesticidas mencionados son de dos clases; los fumigantes y los que actúan por contacto. Los antibióticos fueron los primeros de un nuevo tipo de pesticida, los sistémicos que se han desarrollado en las décadas del 60 y 70. Le siguieron varios más como los organofosforados, los heterocíclicos y los aromáticos, y se siguen desarrollando otros (French, *et al.*, 1980).

Sin embargo el empleo y uso inadecuado de los plaguicidas, pueden causar serios daños al ambiente y a los usuarios.

2.4.2. Control natural y biológico.

Uno de los métodos para prevenir y controlar enfermedades es el que se realiza a través de un pronóstico según lo señala Pérez (2000), quien dice que

algunos cultivos son susceptibles de controlar las enfermedades conociendo la estación de crecimiento del cultivo y el desarrollo biológico de la enfermedad.

La utilización de materiales biológicos como controladores y antagonistas para abatir enfermedades de las plantas se viene dando a nivel experimental desde 1926 en donde G. B. Sanford trabajó con la costra de la papa. G. B. Sanford y W. C. Broadfoot publicaron lo referente al hongo *Gamanoomyces graminis* que provoca el mal del pie del trigo donde por primera vez se utilizó el término de "Control Biológico" en patología de plantas (James-Cook, 1984).

Actualmente ha tomado fuerza en un sector de la comunidad científica el Control Biológico en virtud de que en los países del primer mundo se han alarmado por lo que se ha publicado en el sentido de que el 60% de los pesticidas usados en la producción de alimentos poseen riesgos oncogénicos por lo que su uso debe ser restringido (Wilson y Wisniewski, 1992). Por tal motivo el mercado Europeo y el Norteamericano hacen hincapié en que los productos que importan para consumo humano sean manejados al momento de producirlos con materiales inocuos para la salud.

Los mecanismos de control biológico para la reducción o supresión de fitopatógenos involucran antibiosis, competencia y exclusión del nicho, parasitismo y lisis, resistencia sistémica inducida e hipovirulencia Weller, (1988) y Chet *et al.* (1990), aunque posiblemente los mecanismos más importantes en bacterias de biocontrol sean la antibiosis y la competencia básicamente por nutrientes (Fe+3).

Indudablemente los antibióticos son quizá el mecanismo más importante de control ya que existen evidencias que apoyan el papel de los antibióticos en el control biológico son básicamente 5 tipos; 1) muchos agentes de control biológico producen antibióticos *in vitro*; 2) para algunos agentes de biocontrol la producción de antibióticos se correlaciona con la actividad de biocontrol; 3) los antibióticos purificados, filtrados de cultivos o extractos de los filtrados de algunos agentes de biocontrol duplican el efecto de esos agentes; 4) mutantes deficientes en la producción de antibióticos de algunos agentes de biocontrol son menos supresivos que las cepas parentales y la complementación genética restaura la el control; y 5)

algunos antibióticos producidos por agentes de biocontrol pueden aislarse en habitats naturales (Weller y Thomashow, 1990).

Hasta el momento se conocen 150 especies de patógenos, principalmente hongos, que han desarrollado resistencia a los productos químicos existentes en el mercado (Wierenga *et al.*, 1994), por consiguiente y con el afán de no ir incrementando el uso y cantidad de agroquímicos para contrarrestar a estos patógenos se fundamenta el que exista una fuerte tendencia a utilizar el Biocontrol.

2.4.2.1. Uso de extractos vegetales para el control de enfermedades en las plantas.

El uso de extractos vegetales para el control de enfermedades es considerado también como un método de control biológico

Los egipcios empleaban aceites de canela, clavo y cassia dentro del proceso de momificación de sus muertos (Bullerman *et al.*, 1977). En Japón (Kurita *et al.*, 1981) y la India (Singh *et al.*, 1980) existe un uso tradicional de compuestos naturales de origen vegetal para la preservación de alimentos. Los estudios realizados hasta la fecha sugieren que la propiedad antifúngica de los metabolitos secundarios es un fenómeno frecuente y la diversidad de hongos fitopatógenos también genera diversidad de respuesta al interactuar con los vegetales (Montes-Belmont, 1996).

De microorganismos fitopatógenos existe información sobre alrededor de 400 plantas con propiedades contra 142 especies de hongos y otras plantas contra 23 taxa de bacterias, 19 virus y 43 especies de nemátodos (Grainge y Ahmed, 1988).

Hasta el momento se conocen 150 especies de patógenos, principalmente hongos, que han desarrollado resistencia a los productos existentes en el mercado (Wierenga *et al.*, 1994).

Una alternativa que merece mayor atención es la posibilidad de utilizar los metabolitos secundarios desarrollados por las plantas para el combate de fitopatógenos (Montes-Belmont, 1996).

Existen antecedentes paleobotánicos de la presencia de hongos parásitos de plantas de hace alrededor de 400 millones de años (Swain, 1978), lo que indica que estos microorganismos probablemente han sido un factor en la presión de selección de especies habiendo surgido infinidad de variedades anatómicas y fisiológicas (polimorfismo genético) intraespecíficas e interespecíficas, relacionadas con su defensa al ataque de patógenos (Montes-Belmont, 1996).

Parker (1992) menciona que ha existido una intensa coevolución dinámica entre plantas y sus patógenos en los ecosistemas naturales y esto definitivamente ha influido en la estabilidad de las especies. De acuerdo con Wiklson y Peter (1988), se han descrito alrededor de 220,000 especies de plantas superiores y se estima que en el trópico hay un 10% por descubrir y un 20% que aunque ya están en herbarios todavía no han sido descritas formalmente. De todas estas plantas se calcula que sólo el 25% tienen algún uso (Sarukhán, 1995).

Según Beckstrom-Strenberg (1993) quien elaboró una base de datos denominada "Phytochemeco", existe información detallada de 1,164 especies de plantas, en las que se han descrito 16,332 compuestos químicos y sus propiedades biológicas más importantes. Anton *et al.* (1987) mencionan que se han investigado una gran cantidad de familias de compuestos químicos, cada una con su casi infinita variedad de constituyentes; sin embargo, sólo se conoce la actividad biológica potencial de una pequeña parte de ellos y eso referido únicamente a sus propiedades farmacológicas, siendo más dramático el desconocimiento en cuanto a su uso agrícola (Montes-Belmont, 1996).

2.4.2.2. Métodos de extracción de plantas con actividad biológica.

La extracción es una operación de separación y purificación que tiene por objeto aislar una sustancia de la mezcla. Se sometieron a purificación numerosos productos naturales así como las sustancias que intervinieron o se formaron en una síntesis orgánica Pérez (1996).

2.4.2.3 Extracciones.

La solución se mantiene en movimiento durante 72 hrs. mediante un agitador magnético para favorecer la transferencia de masa y se cubre totalmente el matraz con papel aluminio para evitar la degradación de compuestos activos por la luz y al mismo tiempo se le aplica una atmósfera inerte a base de N² (gas). Después se evapora el solvente al vacío, aplicándole una presión de 30 mm. Hg. una temperatura de 40° C. A continuación se separa de el solvente el extracto que se presento con un aspecto semisólido o aceitoso; para lograr evaporar el etanol residual del extracto se deseca. El sólido se pesa en una balanza analítica, se preparan las concentraciones requeridas para efectuar los bioensayos. Para extraer los compuestos sólidos se coloca en un matraz de ebullición fondo redondo de 2000 ml. el solvente extractor (etanol), que se llena hasta la mitad y equipado con un aparato tipo soxhlet, con refrigerante de condensación tipo Allihn con punta de goteo. La semilla se coloca en un cartucho de manta y se introdujo al soxhlet. El disolvente contenido en el matraz se le aplica calor manteniéndose en ebullición utilizando una manta de calentamiento, provocando con esto que los vapores asciendan por el tubo lateral y al momento de llegar al refrigerante se condensaran, y las gotas que se formen, descendiendo por gravedad, goteando sobre el cartucho de la semilla. Cuando ha caído suficiente líquido en el depósito del cartucho también se ha llenado la rama interior del tubo delgado, pasándose al matraz por gravedad. Ahí el disolvente, vuelve a evaporarse, dándose un reflujó, repitiéndose el principio hasta que todo el material soluble ha sido extraído de la semilla y pasa a concentrarse en la solución. De esta extracción se toman pequeñas cantidades que son necesarias, para realizar las pruebas de indicios de la naturaleza química, para comprobar la presencia de terpenos y continuar con la separación de estos en la columna, Pérez (1996).

El segundo método consiste en una extracción continua (sólido-líquido) en soxhlet. La extracción en soxhlet es especialmente útil en el aislamiento de productos naturales existentes en plantas con un contenido de agua elevado, y para lixiviar compuestos orgánicos de sales inorgánicas. (Brewster *et al.*, 1982).

2.4.2.4 Obtención de fracciones.

Para obtener la separación cromatográfica se efectúan las operaciones siguientes: el tubo de vidrio se empaca con gel de sílice de 70 - 230 mallas reactivo Merck. Enseguida se agrega acetato de Etilo para lavar la columna, dejándose reposar 18 hrs. para humedecer la sílice gel y dejar que se dilate. El material por fraccionar, proveniente de la solución madre de la extracción con atmósfera inerte e inhibición de luz se introduce por la parte superior de la columna. Dado que cada sustancia de fluido viaja a diferente velocidad, esto permite la separación de las sustancias. Conforme el disolvente desciende por el tubo, cada vez se diluye mas y el adsorbente atrae al soluto. Las sustancias menos atraídas salen mas rápido, no importa si el disolvente este diluido, por precolación continua, separándose las sustancias en fracciones. Para las purificaciones se vuelven a cromatografiar las fracciones obtenidas para aislar los compuestos con actividad biológica (Pérez 1996).

2.4.2.5 Características de los solventes.

Alcohol: Llamado también etanol y espíritu de vino, y alcohol. Responde a la formula C_2H_5OH ; liquido incoloro, aromático, de olor característico, hierve a 78.5 °C, arde fácilmente, llama azulada, produce anhídrido carbónico y agua. Se mezcla con el agua en todas proporciones, como el éter, cloroformo y glicerina. El alcohol etílico puro o casi puro es tóxico, relativamente fuerte que se absorbe por las paredes del intestino delgado en 2 o 3 horas pasándose al resto del cuerpo fijándose en nervios y células nerviosas.

Cloroformo: Triclorometano, $CHCl_3$; descubierto en 1831 por Fluorens como narcótico e introducido en 1837 por Simpson como anestésico en medicina. La concentración como anestésico es como máximo el 1% en volumen y al 1.4% es mortal. Súper dosificado, actúa en los centros respiratorios e impide la respiración normal y actúa como hipotensor. Se utiliza en la técnica como un fuerte extractor de sustancias activas de plantas, semillas y raíces.

Éter de petróleo: Componente del petróleo; muy inflamable y de bajo punto de ebullición entre 40 y 70° C, se compone principalmente de pentano (C_5H_{12}) y de exano (C_6H_{14}), útil para las extracciones por arrastre de vapor.

Agua: Líquido incoloro, inodoro e insípido. Cuando se encuentra en grandes masas adquiere una tonalidad azulada; se descompone a altas temperaturas (1500° C) en hidrógeno y oxígeno ($2H_2O - 2H_2 + O_2$); posee gran poder de disociación y disolución. La densidad del agua aumenta al elevar la temperatura de 0° C a 4° C, en que alcanza su valor máximo, de 1 gr./ml. Tiene una gran capacidad calorífica, siendo excepcionales sus calores latentes de evaporación y de fusión.

2.4.2.6 Bioensayos.

En el caso de las bacterias se puede realizar ensayos con métodos semejantes a las pruebas usadas para antibióticos con discos de papel filtro sumergido en el extracto bajo condiciones asépticas y sembrados en los medios adecuados con el patógeno de pruebas (Kenneth, 1986). Con los hongos es conveniente tener una visión amplia en cuanto a su efecto en: germinación de esporas, desarrollo micelial (en el caso de los cultivables en medios artificiales) esporulación e infección. En el invernadero se pueden hacer inoculaciones artificiales después de asperjar los extractos y transcurrido el respectivo periodo de incubación evaluar su eficiencia. Para las pruebas de invernadero y campo el procedimiento es el mismo que para cualquier producto químico. El efecto en el proceso infectivo se puede ver en el caso de enfermedades de las partes aéreas de las plantas, cubriendo la superficie susceptible con el extracto (mediante aspersión o inmersión) y después exponiéndola a propágulos del patógeno (esporas, micelio, etc.) bajo las condiciones óptimas para el mismo. Para las enfermedades con origen en el suelo, se puede agregar a suelo infectado (inmediatamente después del trasplante) el extracto en forma de riego o como abono en polvo (Montes-Belmont, 1996).

2.4.2.7. Plantas con actividad biológica.

En México se estima que existen entre 23,000 y 30,000 especies de plantas, por lo que se considera uno de los países con mayor riqueza florística en el mundo (Toledo, 1993). Además se tienen antecedentes del uso de polvos vegetales para el control de insectos plaga de granos almacenados como una técnica tradicional transmitida verbalmente de generación en generación (Lagunes y Rodríguez, 1988).

Antón *et al.* (1987) mencionan que se han investigado una gran cantidad de familias de compuestos químicos, cada una con su casi infinita variedad de constituyentes; sin embargo, solo se conoce la actividad biológica potencial de una pequeña parte de ellos y eso referido únicamente a sus propiedades farmacológicas, siendo más dramático el desconocimiento en cuanto a su uso agrícola.

Grainge y Ahmed (1988) en una revisión amplia de literatura relativa a plantas con propiedades para el control de plagas relaciona 353 especies con actividad contra hongos fitopatógenos. Existen alrededor de 400 plantas con propiedades contra 142 especies de hongos y otras plantas contra 23 taxa de bacterias, 19 virus y 43 especies de nematodos.

Lipa y Jarosz (1989) en trabajos con ajo, (*Allium sativum*) preparado como jugo y pulpa, determinaron una inhibición en el crecimiento de *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (Smith & Bryan), Young, Dye & Wilkie.

Mosch y Klingauf (1989) observaron inhibición de la bacteria *E. amylovora* en pruebas de difusión en agar, con extractos acuosos de *Juglans nigra* L., *B. vulgaris* y *R. typhina* aplicados en concentraciones de 5, 2% y 1,25%, respectivamente. Los extractos de *J. nigra* y *R. typhina* no perdieron su actividad cuando fueron almacenados por 11 días a 10 °C ó 20 °C; mientras que *B. vulgaris* redujo su actividad luego de 8 días de almacenamiento.

Mosch *et al.* (1990) trabajando con la misma bacteria y en pruebas con los mismos extractos vegetales a esas mismas concentraciones, obtuvieron resultados comparables a los que observaron cuando usaron estreptomicina a 17 ppm. En condiciones de campo, los extractos de *B. vulgaris*, *R. typhina*, *M.*

aquifolium y *A. sativum*, aplicados como profilácticos a *C. salicifolius* var. *floccosus*, lograron 53% de control.

2.5 Descripción botánica de las plantas utilizadas.

2.5.1. Ajo (*Allium Sativum* L.).

Es un cultivo hortícola apreciado en todo el mundo como condimento y por sus propiedades medicinales. Se extiende desde los países asiáticos y latinos, de donde es originario hasta los anglosajones y América del Norte con gran éxito (García, 1990).

Aparentemente originario de Asia Central ha sido conocido y cultivado en China desde tiempos inmemoriales. Según Herodoto, los antiguos egipcios ya lo usaban y de Egipto pasó al grupo grecorromano.

Debido al aceite que posee, constituido principalmente por bisulfuro de alilo, el ajo es un aromatizante. El 60% del "diente" del ajo esta compuesto de agua, nitratos y minerales; el 40% son glucósidos.

Es una planta herbácea de 20 a 30 cm. De altura. El tallo es un escapo. Las hojas, que se originan desde la base o corona, son aplanadas, fistulosas, de 2.5 cm. o menos de ancho, con espata aguda, de 7.5 a 10 cm. de largo.

Las flores son de color rosa y están agrupadas en una umbela terminal; son pequeñas y densas con brácteas largas escariosas, a menudo desplazadas por bulbos, generalmente estériles, aproximadamente de 0.5 cm. De largo, con pedicelos delgados y largos, con segmentos iguales, lanceo-acuminados; las anteras y el estilo son exsertos; el ovario es oblongo-ovoide y emarginado en el ápice. El fruto es una pequeña cápsula loculada. Los bulbos, que son la parte comestible, están formados por segmentos o dientes cubiertos por una membrana sedosa de color blanco o rosada.

Al ajo se le atribuyen la mayor diversidad de principios activos (un alcaloide, una saponina y un tanino) lo que posiblemente le permita un mayor rango de acción sobre enzimas que intervienen en la germinación en diferentes especies de hongos (Montes-Belmont, 1990).

Núñez-Cebreros, (1999), tomando en cuenta el índice de infección para el tizón temprano, los mejores tratamientos fueron el extracto de ajo+cebolla (2.1 de daño), extracto de composta (2.28), y cobre + azufre (2.33), con relación al testigo con 4.5 de daño. En relación al efecto del extracto de ajo + cebolla posiblemente inhibió la germinación de los conidios y la penetración del tubo de germinación de *A. solani*.

2.5.2. Cacahuate (*Arachis hipogea*).

Era conocido por los habitantes del continente americano mucho antes de que Colón llegase al nuevo mundo. Los portugueses llevaron la planta a Europa en el siglo XVI. Al principio era cultivado en cantidades limitadas en reducidas plantaciones, casi de carácter familiar. Sus frutos se dedicaron a la alimentación y para la extracción de aceite. Hacia finales del siglo XIX en Francia y luego en los Estados Unidos de Norteamérica, se cultivó en gran escala, principalmente para la obtención de aceite comestible. Actualmente el aceite no deshidratado es usado como sustituto del aceite de oliva en ensaladas y en la cocina; también se usa en la industria farmacéutica y para fabricar margarinas, jabones y lubricantes.

Después de extraer el aceite queda un residuo con alto contenido de proteínas y se utiliza como alimento para el ganado. El cacahuate sin cáscara contiene aproximadamente 5.4 % de agua, 30.4 % de proteínas, 47.7 % de grasas, 11.7 % de carbohidratos, 2.5 % de fibras y 2.3 % de cenizas. El aceite contiene cerca del 53 % de ácido oleico, 25 % de ácido linoleico y es rico en vitaminas B y E.

2.5.3. Betabel (*Beta vulgaris*).

En las costas del sur de Europa, a lo largo del Mar Mediterráneo, crece silvestre la llamada "remolacha del mar" (*Beta marítima*) la cual tiene una raíz delgada y consistente. Se cree que las remolachas cultivadas se han derivado de algunas formas de esta especie.

Todas las remolachas cultivadas actualmente son variedades de *Beta vulgaris*. Aunque ésta es una especie muy compleja, se ha separado en grupos

diferentes, entre los que se encuentra uno, amplio y variable de plantas bianuales de considerable importancia, en la cual, han sido seleccionadas formas muy características para ser empleadas con fines distintos: La remolacha comestible, llamada *betabel*, es principalmente de forma globosa y aplastada; además existe la tendencia de cultivar tipos de color rojo oscuro. Las plantas de remolacha azucarera tienen raíces blancas de forma cónica. La remolacha forrajera es utilizada para alimentar ganado.

2.5.4. Higuera (*Ricinus communis*).

De las semillas se obtiene un aceite llamado de "ricino" que se usa en medicina como purgante, en la industria para hacer jabones, a altas temperaturas como lubricante en la manufactura del plástico y en fluidos para sistemas hidráulicos. El residuo sólido es venenoso y se usa como fertilizante. Con las hojas se produce un insecticida. La pulpa y la celulosa del tallo se usan en la fabricación de cartón. Los antiguos egipcios usaban el aceite como combustible para lámparas. Actualmente el aceite se usa en la fabricación de ceras, papel carbón, velas y crayones.

2.5.5. Paraíso (*Melia azederach* L.).

Es un árbol introducido, se le observa ya naturalizado en zonas de vegetación secundaria derivada del bosque tropical subcaducifolio. Por lo general a alturas que van de los 300 a 1000 m. . Se considera que fue introducido a México, Centroamérica y Las Antillas procedente de la península Ibérica poco después de la conquista.

Se atribuye a esta planta numerosas y variadas propiedades. Su propagación es relativamente fácil por semilla y otros medios, de rápido crecimiento y agradable aspecto, pero es mas bien de vida corta y de ramas quebradizas. Su contenido de metabolitos secundarios, la hace útil como medicinal y como insecticida, lo cual también la hace peligrosa, pues algunas substancias, sobre todo en los frutos, son sumamente tóxicas (Aplin, 1980). El hueso duro que contiene los frutos se usan en la manufactura de collares y

pulseras. Este árbol llamado "neem", especie nativa de las montañas Himalayas de la India (Taveras, 1991). Se cultiva como ornamental en avenidas y jardines; existen diversas variedades que se han reportado en los estados de Chihuahua, Michoacán, Nuevo León, Oaxaca, San Luis Potosí, Veracruz y Yucatán (González 1989).

Nombres comunes: (sensu Martínez, 1979).

"Canelo"	(San Luis Potosí)
"Cinamon"	(Región de Guadalupe, S.L.P.)
"Granillo"	(Oaxaca)
"Lila de china"	(Nuevo León y San Luis Potosí)
"Paraíso"	(Michoacán, Veracruz, Yucatán, y Jalisco).

2.5.6. Acelga (*Beta vulgaris* L.).

Los primeros informes que se tienen de esta hortaliza la ubican en la región del Mediterráneo y en las islas canarias (Vavilov, 1951). Aristóteles hace mención de la acelga en el siglo IV A.C. La introducción a los Estados Unidos fue en el año de 1806.

Es una planta bianual y de ciclo largo que no forma raíz o fruto comestible. Su raíz es bastante profunda y fibrosa. Las hojas constituyen la parte comestible y son grandes de forma oval tirando hacia acorazonada; tiene un pecíolo ancho y largo, que se prolonga en el limbo; el color varía, según variedades, entre verde oscuro fuerte y verde claro. Los pecíolos pueden ser de color créeme o blancos. Para que se presente la floración necesita pasar por un período de temperaturas bajas. El vástago floral alcanza una altura promedio de 1.20 m. La inflorescencia esta compuesta por una larga panícula. Las flores son sésiles y hermafroditas pudiendo aparecer solas o en grupos de dos a tres. El cáliz es de color verdoso y esta compuesto por 5 sépalos y 5 pétalos.

Las semillas son muy pequeñas y están encerradas en un pequeño fruto al que comúnmente se le llama semilla (realmente es un fruto), el que contiene de tres a cuatro semillas.

La acelga es una planta de clima templado, que vegeta bien con temperaturas medias; le perjudica bastante los cambios bruscos de temperatura, cuando las bajas siguen a las elevadas, pueden hacer que se inicie el segundo periodo de desarrollo, subiéndose a flor la planta.

2.5.7. Laurel (*Laurus nobilis* L.).

Árbol de talla de 5 a 10 m. con porte de copa densa, Hojas simples, alternas, persistentes, coriáceas, oblongo-lanceoladas, verde oscuras y lustrosas en el haz; más pálidas en el envés; glabras en las dos caras. Son aromáticas al partirlas o secarlas. El fruto es una drupa, ovoidea, negra en la madurez, florece de febrero a abril y los frutos maduran a principios de otoño. Su hábitat es desde 0 hasta 900 m. , indiferente al pH. Necesita suelos sueltos, húmedos y fértiles.

El Laurel es un árbol que raramente supera los 10 m. de altura, de tronco derecho, con la corteza delgada, lisa, y de color pardo verdoso o grisáceo. Las hojas son duras y correosas, con figura de hierro de lanza, y desprenden un olor aromático muy agradable cuando son machacadas. Las flores son de color blanco-amarillento. El fruto es carnoso, parecido a una pequeña aceituna; al principio de color verde y luego, al madurar, de color negro. Hojas 5-12 cm. Flores 4,5-5,5 mm. Frutos 10-15 mm. Las hojas y los frutos. Compuestos químicos: La esencia contiene ácido láurico, eugenol, pineno, felandreno, éteres, mucílagos, tanino y resina. Propiedades: Digestivo, antiséptico, balsámico y carminativo. Modo de empleo: Infusión, tintura, extracto fluido, esencia.

2.5.8. Ruda (*Ruta graveolens* L.).

Planta herbácea algo leñosa en la base, glauca, de olor fuerte y desagradable, de 30 a 60 cm de altura o más. Hojas alternas, bi o tri-pinnado-partidas, punteado-glandular, los segmentos lineales, elípticos u abobados. Flores en grupo terminales; corola de 4 o 5 pétalos amarillos. Fruto capsular, 4 a 5 lóculos, de 7 a 9 cm de ancho. Natural de la región Mediterránea. Cultivada en poblaciones rurales y urbanas con relativa abundancia. Sin efectos terapéuticos

comprobados. Es además, Emenagoga, vermífuga, calmante, antiespasmódica, abortiva y diurética. Se utiliza en el tratamiento de desórdenes del sistema nervioso autónomo. Estimula el flujo sanguíneo hacia los órganos digestivos y músculos lisos en general. Aumenta la resistencia de los capilares sanguíneos. Tiene efectos abortivo y mutagénico comprobados. El aceite esencial es extremadamente irritante para la piel y mucosas. Se considera venenosa en dosis mayores de 2 gr. del polvo seco por día. Otros usos, el aceite esencial es de utilidad en perfumería. En pequeñas cantidades, como saborizante de especialidades alimentarias. En zonas de Europa las hojas se mezclan con coñac para producir un licor digestivo.

Esta compuesto por, aceite esencial (0,28 porciento en hojas y 1 porciento en semillas) y flavonoides (en especial rutina y quercitina). Azúcares, materias resinosas y peptídicas, principios amargos, gomas, taninos, alcaloides y cumarinas. Se propaga por estacas de los tallos y crece de forma perenne en terrenos de relativa fertilidad, lo que hace posible las cosechas frecuentes del follaje.

2.5.9. Tomillo (*Thymus vulgaris*).

Planta leñosa, pequeña, muy olorosa, ramificada, originaria de la cuenca Mediterráneo occidental.

Hojas: Pequeñas, pecioladas (con rabillo por el que se unen al tallo), desusadas (en pares, formando cada uno con el siguiente un ángulo de 90°), algo tomentosas (cubiertas de pelos cortos) y revolutas (margen que se enrolla sobre sí mismo). Las flores suelen ser rosadas o blancas, en vertilicastro (cabezuelas comprimidas), que forman un racimo. Florece en marzo. Los frutos tienen de una a cuatro cavidades en las que se encuentran las semillas.

2.5.10. Espinaca (*Spinacea oleracea* L.).

La planta en una primera fase forma una roseta de hojas de duración variable según condiciones climáticas y posteriormente emite el tallo. De las axilas

de las hojas o directamente del cuello surgen tallitos laterales que dan lugar a ramificaciones secundarias, en las que pueden desarrollarse flores. Existen plantas masculinas, femeninas e incluso hermafroditas, que se diferencian fácilmente, ya que las femeninas poseen mayor número de hojas basales, tardan más en desarrollar la semilla y por ello son más productivas.

Es una especie bastante exigente en cuanto a suelo y prefiere terrenos fértiles, de buena estructura física y de reacción química equilibrada. Por tanto, el terreno debe ser fértil, profundo, bien drenado, de consistencia media, ligeramente suelto, rico en materia orgánica y nitrógeno, del que la espinaca es muy exigente. No debe secarse fácilmente, ni permitir el estancamiento de agua. En suelos ácidos con pH inferior a 6,5 se desarrolla mal, a pH ligeramente alcalino se produce el enrojecimiento del pecíolo y a pH muy elevado es muy susceptible a la clorosis.

2.5.11. Cebolla (*Allium cepa* L.).

El origen de la cebolla se localiza en Asia central, y como centro secundario el Mediterráneo, pues se trata de una de las hortalizas de consumo más antiguo. Las primeras referencias se remontan hacia 3.200 a.C. pues fue muy cultivada por los egipcios, griegos y romanos. Durante la Edad Media su cultivo se desarrolló en los países mediterráneos, donde se seleccionaron las variedades de bulbo grande, que dieron origen a las variedades modernas. Posee poder antimicrobiano que se le atribuye a un tanino y a un compuesto azufrado.

2.5.12. Granada (*Punica granatum* L.).

Originaria de los Balcanes hasta el Himalaya, es un pequeño árbol caducifolio, a veces con porte arbustivo, de tres a seis m. de altura, con el tronco retorcido. Madera dura y corteza escamosa de color grisáceo. Algunas ramas a veces espinosas. Ramillas angulosas. Copa extendida y con mucho ramaje.

Raíz nudosa consistente, con corteza rojiza, que lleva un alcaloide, llamado peletierina o punicina, de propiedades vermífugas. Sus hojas son simples, opuestas, generalmente fasciculadas, cortamente pecioladas, oblongas u oval-lanceoladas, de 3-8 cm de longitud, algo coriáceas y de color verde lustroso.

Las flores son solitarias o reunidas en grupos de 2-5 al final de las ramas nuevas. Son grandes y de color rojo, lustrosas, acampanadas, subsentadas, con 5-8 pétalos y sépalos, persistiendo el cáliz en el fruto. En algunas variedades las flores son abigarradas e incluso matizadas en blanco. Florece en Mayo-Julio, aunque algunas variedades lo hacen más tarde.

El fruto es una baya denominado balausta. Es globoso, de 10-15 cm de diámetro, con la piel correosa de amarillenta a rojiza y con numerosas semillas envueltas en una pulpa comestible rosada.

2.5.13. Cebada (*Hordeum vulgare*).

Su origen se conoce desde tiempos remotos y se supone que procede de dos centros de origen situados en el Sudeste de Asia y África septentrional. Se cree que fue una de las primeras plantas domesticadas al comienzo de la agricultura. En excavaciones arqueológicas realizadas en el valle del Nilo se descubrieron restos de cebada, en torno a los 15.000 años de antigüedad, además los descubrimientos también indican el uso muy temprano del grano de cebada molido.

La cebada ocupa el cuarto lugar en importancia entre los cereales, después del trigo, maíz y arroz. La razón de su importancia se debe a su amplia adaptación ecológica y a su diversidad de aplicaciones.

2.6. *Fusarium oxysporum*.

El género *Fusarium* se considera como uno de los patógenos que más daño ocasiona importantes a los cultivos; su distribución es mundial y colonizan tanto

partes aéreas como las subterráneas, ya sea como invasores primarios o secundarios. Se ha reportado que *Fusarium oxysporum* es uno de los principales patógenos en invernadero y campo, las pruebas de patogenicidad no se han podido realizar, posiblemente debido a las características biológicas únicas de la planta. Una alternativa es realizar las pruebas de patogenicidad *in vitro*.

También es un hongo que produce sustancias tóxicas como la zearalenona, tricotecenos, fusarina y fumaginas que al ser ingeridas por humanos y animales en alimentos contaminados tiene efectos cancerígenos, teratógenos, mutágenos, eméticos y estrogénicos (Ayvar-Serna 1997). Arai y Takeochi (1993) evaluaron *in vitro* la patogenicidad de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* en clavel; de igual manera, Löffler *et al.* (1997) utilizaron esta técnica para evaluar la resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* en *Gladiolus* (Loera-Quezada. 1999).

En los últimos años se ha explorado el efecto de productos vegetales (polvos, extractos y aceites esenciales) sobre el desarrollo algunas de las especies de *Fusarium*, Morozumi *et al.* (1989), Grainge y Ahmed (1988) mencionan siete especies de plantas con propiedades inhibitorias contra *F. moniliforme*; 21 contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* y 25 contra *F. roseum*. La mayor parte de esas especies vegetales no se encuentran en México, las especies vegetales originarias o introducidas en México con propiedades inhibitorias contra *F. Oxysporum*.

Loera-Quezada (1999) obtuvo resultados que mostraron que *A. tequilana* es altamente susceptible a las tres especies de *Fusarium*, siendo *F. solani* la especie mas agresiva. La infección causada *F. moniliforme* fue mas lenta que la causada por *F. solani* y *F. oxysporum*, alcanzando el daño total a los 12 días de incubación. *A. vilmoriniana* fue resistente a las tres especies. Los resultados muestran que esta prueba de patogenicidad *in vitro* puede ser una alternativa rápida y fácil para evaluar la patogenicidad de *F. oxysporum* en *A. tequilana*, como se ha reportado para otras especies vegetales.

Rodríguez-Botero (1999) evaluó el efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum in vitro* en cultivo sumergido con agitación y comparo el comportamiento cuantitativo del hongo con su respuesta binaria

(crecimiento vs. no crecimiento). Los extractos se compararon a 100, 1000, 5000 y 10000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ disueltos en etanol. La variable evaluada en cajas de Petri fue el diámetro de las colonias, en cultivo sumergido la biomasa drenada del hongo, y en tubos pequeños la presencia o ausencia del crecimiento. *Rumex crispus* (lengua de vaca) fue efectivo contra *F. oxysporum* y *A. solani* a 5000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ y contra *R. solani* a 1000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$. *Thymis vulgaris* (tomillo) fue efectivo contra *R. solani* a 5000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ y contra *F. oxysporum* y *A. solani* a 1000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$. Los extractos de plantas de *Bidens pilosa* (chipaca) y de hojas de *Ricinus communis* (higuerilla) fueron efectivos a 5000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ contra *R. solani*.

2.7. *Erwinia carotovora*.

Cepa bacteriana de color crema con forma circular, borde liso y superficie convexa, y consistencia mucoide. Los tallos y frutos inoculados con la sepa presentaron una pudrición suave, húmeda con olor putrefacto a las 24 horas después de la inoculación (HDI). Las plantas inoculadas desarrollaron las lesiones similares a las que se presentan en campo aproximadamente a las 72 HDI. La cepa bacteriana presentó las características de un gram negativo y flagelación peritrica, pudrición de papa positiva, metabolismo fermentativo de carbohidratos, prueba de palatinosa negativa, crecimiento a 36 °C y sensibilidad a eritromicina negativa. Estos resultados concuerdan con los descritos en la literatura para la bacteria *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Juárez-Reyes 1999).

CAPITULO III.

MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Incidencia y severidad de *Fusarium oxysporum* y *Erwinia* sp.

Para conocer los efectos sobre el desarrollo de la planta incidencia y severidad en las zonas de estudio y determinar la importancia de las dos principales enfermedades ("pudrición del cogollo" y "marchites"). Se midieron empleando la escala arbitraria de 1 a 5 propuesta por Martínez-Ramírez *et al* (1998), donde 1 es planta sana, 2, de una a cinco hojas externas con encarrujamiento ligero, 3, de seis a diez hojas externas con encarrujamiento, 4, planta con mas de diez hojas con encarrujamiento acentuado y 5, planta muerta fácil de desprender del suelo, para *Erwinia* la escala es de 1 a 5 donde 1, es planta sana, 2, de una a cinco lesiones acuosas con una longitud de 1 a 30 cm iniciando en las espigas apicales o laterales, 3, una o mas lesiones acuosas de mas de 30 cm, o bien, mas de 6 lesiones de 50 a 30 cm, 4, lesiones necroticas en el cogollo que avanzan hasta casi llegar a la piña y 5, cogollo completamente dañado, llegando hasta la piña, planta evidentemente muerta (Cuadros 1 y 2). El muestreo se realizó en los Municipios de la zona de los Altos y Centro de Jalisco, utilizando un sitio de muestreo por cada 100 hectáreas de cultivo. En cada uno de los predios muestreados se dejaron cuatro hileras de plantas como borde y se inicio en la quinta hilera. Asimismo, se dejaron las primeras 20 plantas para evitar el efecto de orilla y se tomaron los datos de las siguientes 20 plantas. Lo anterior se repitió cada 5 surcos, para completar un total de 100 plantas por predio muestreado. Los datos obtenidos fueron usados para determinar el porcentaje de plantas enfermas y grado de severidad.

3.2. Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum*.

El tejido dañado se lavó con agua corriente para eliminar el exceso de materia orgánica o suelo adherido al tejido. Después se cortaron trozos de tejido de 2 cm de área dañada y parte sana en el mismo trozo, se desinfectó tejido en

una solución de cloro de 3% por 30 segundos, se enjuagaron 3 veces con agua destilada, esto con el fin de eliminar el exceso de cloro. Después se sembraron en medio de cultivo cinco trozos por caja de petri, enseguida se pasaron a incubar a 18 ± 25 °C durante cinco días para su identificación con claves taxonómicas.

Aislamiento e identificación de *Erwinia* sp.

El tejido se desinfectó con cloro al 3 % durante unos segundos enjuagando con agua destilada estéril tres veces. Enseguida se tomó el asa y se calentó hasta rojo incandescente para dejar enfriar e introducir el asa al tejido dañado y extraer material para estriar en cajas de Petri con cristal violeta pectato (CVP) como medio de cultivo. Se incrementó la masa y se identificó de acuerdo a las pruebas bioquímicas específicas para bacterias.

3.3. Material vegetal para la obtención de extractos

De acuerdo a referencias bibliográficas se seleccionaron algunas plantas con posibilidades de actividad biológica las cuales se probaron y de acuerdo a los resultados preliminares se fueron desechando las que no presentaron resultados positivos para el objetivo del presente trabajo. Finalmente se trabajo con 13 plantas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Plantas y partes usadas para elaborar los extractos (1999).

Nombre común	Nombre científico	Parte utilizada
Ajo	<i>Allium sativum</i> L.	Bulbo
Cacahuete	<i>Arachis hipogea</i> L.	Fruto
Betabel	<i>Beta vulgaris</i> L.	Hojas
Higuerilla	<i>Ricinus cummunis</i> L.	Semillas
Paraíso	<i>Melia azederach</i> L.	Semilla
Acelga	<i>Beta vulgaris</i> Fam. <i>Quenopodiáceas</i>	Hojas
Laurel	<i>Laurus novilis</i> L.	Hojas
Ruda	<i>Ruta graveolens</i> L.	Hojas
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Hojas
Espinaca	<i>Spinacea oleracea</i> L.	Hojas
Cebolla	<i>Allium cepa</i> L.	Bulbo
Granada	<i>Punica granatum</i> L.	Fruto
Cebada	<i>Hordeum vulgaris</i> L.	Grano

3.5. Obtención de los extractos vegetales.

Se colectaron las muestras, se secaron al horno a 50° C durante 12 hr para después molerlas finamente en licuadora con vaso pequeño. Se pesaron cuatro gr. de materia seca se maceraron con solvente en mortero para después agregarles 40 ml de solvente y tener una solución a 100,000 ppm se filtraron y se dejaron reposar 10 min. en frascos ámbar, después se pasaron al tren de vacío recolectando el líquido obtenido. Para la preparación del extracto a 750 ppm se adicionaron 5.4 ml de extracto más 714.6 ml de papa dextrosa agar (PDA), para la solución de 1500 ppm se agregaron 10.8 ml de extracto más 709.2 ml de PDA, para hacer la concentración a 3000 ppm se agregaron 21.6 ml de extracto más 698 ml de PDA. La esterilización se llevó a cabo mediante una prefiltración y una filtración con filtro milipore de 22 μ . El PDA se esterilizó en autoclave a 15 lb/pulgada² de presión durante 15 minutos. Una vez enfriados los medios a 45 °C, se colocaron en cajas de Petri; tres por tratamiento, más los testigos de alcohol y agua (Cuadros 5 y 6).

Para *Erwinia* sp. los extractos vegetales se utilizaron cinco especies (Cuadro 7).

Cuadro 5. Relación de tratamientos utilizando como solvente H₂O para inhibición de *Fusarium oxysporum*.

Tratamiento	Planta	Nombre científico
1	Acelga	<i>Beta vulgaris</i> L.
2	Ajo	<i>Allium sativum</i>
3	Laurel	<i>Laurus novilis</i> L.
4	Cacahuate	<i>Arachis hipogea</i>
5	Cebada	<i>Hordeum vulgaris</i>
6	Testigo	H ₂ O
7	Cebolla	<i>Allium cepa</i> L.
8	Higuerilla	<i>Ricinus cummunis</i>
9	Granada	<i>Punica granatum</i> L.
10	Paraíso	<i>Melia azederach</i>
11	Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i>
12	Espinaca	<i>Spinacea oleracea</i> L.
13	Ruda	<i>Ruta graveolens</i>

Cuadro 6. Relación de tratamientos utilizando como solvente alcohol para inhibición de *Fusarium oxysporum*.

Tratamiento	Extracto	Nombre científico
1	Acelga	<i>Beta vulgaris</i>
2	Ajo	<i>Allium sativum</i> L.
3	Laurel	<i>Laurus novilis</i> L.
4	Cacahuete	<i>Arachis hipogea</i>
5	Cebada	<i>Hordeum vulgare</i>
6	Testigo	OH
7	Cebolla	<i>Allium cepa</i> L.
8	Higuerilla	<i>Ricinus cummunis</i>
9	Granada	<i>Punica granatum</i> L.
10	Paraíso	<i>Melia azederach</i>
14	Betabel	<i>Beta vulgaris</i>

Para los extractos vegetales que se utilizaron para *Erwinia* sp. fueron cinco especies (Cuadro 7).

Cuadro 7. Relación de tratamientos utilizando H₂O y alcohol para inhibición de *Erwinia* sp.

Tratamiento	Extracto	Nombre científico
1	Laurel	<i>Laurus Novilis</i>
2	Ajo	<i>Allium sativum</i>
3	Ruda	<i>Ruta graveolens</i>
4	Granada	<i>Punica Granatum</i>
5	Paraíso	<i>Melia azederach</i>
Testigo	Agua	H ₂ O
Testigo	Alcohol	OH

3.6. Pruebas de sensibilidad de *Erwinia* sp. a extractos vegetales.

La susceptibilidad de *Erwinia* sp. se determinó por la técnica de disco en placa. Se colocaron pequeños discos de papel impregnados de la solución del extracto sobre la superficie de una placa sembrada por dilución. Después de la incubación a 20-25° C durante 24 hrs. se examinó la placa buscando zonas de inhibición de desarrollo alrededor de los discos, una zona de inhibición (área clara) alrededor del disco indica que *Erwinia* fue inhibida por el agente difundido por el agar en el disco. Se midió también el halo de inhibición.

3.7. Pruebas de sensibilidad de *Fusarium oxysporum* a los extractos vegetales.

Se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Virgen-Calleros *et al* (1996), la que consistió en colocar en el centro de una placa de Petri, con medio PDA más el extracto acuoso o alcohólico, un disco de 0.5 cm. de diámetro de micelio de *F. oxysporum*, como testigo se utilizó el mismo procedimiento pero el PDA sin extracto de planta. El trabajo se desarrolló en forma gradual estableciendo lotes experimentales de 3 tratamientos más un testigo. Cada lote experimental fue colocado en incubadora a 20-25° C, a partir de establecidos los ensayos todos los días se midió el crecimiento micelial de la colonia en cada caja de petri.

3.8. Diseño experimental.

Los extractos y sus diferentes concentraciones se probaron para la inhibición de *Fusarium oxysporum* y *Erwinia* sp. Para la evaluación se utilizó el diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones y un arreglo factorial para los tratamientos (Cuadro 8)

Cuadro 8. Modelo estadístico para el análisis de varianza.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F Calc.
Tratamientos (a)	13	SC1	CM1	CM1/CM16
Solventes (b)	1	SC2	CM2	CM2/CM16
Concentraciones (c)	2	SC3	CM3	CM3/CM16
Tiempo (d)	3	SC4	CM4	CM4/CM16
a*b	9	SC5	CM5	CM5/CM16
a*c	26	SC6	CM6	CM6/CM16
a*d	39	SC7	CM7	CM7/CM16
b*c	2	SC8	CM8	CM8/CM16
b*d	3	SC9	CM9	CM9/CM16
c*d	6	SC10	CM10	CM10/CM16
a*b*c	18	SC11	CM11	CM11/CM16
a*b*d	27	SC12	CM12	CM12/CM16
a*c*d	78	SC13	CM13	CM13/CM16
b*c*d	6	SC14	CM14	CM14/CM16
a*b*c*d	54	SC15	CM15	CM15/CM16
Error	564	SC16	CM16	CM16/CM16

** Significativo al 0.05 de probabilidades.

3.9. Análisis estadístico.

Se hizo el análisis de varianza, utilizando el paquete estadístico SAS versión 6.0 (SAS, 1992).

3.10. Pruebas de hipótesis.

Con base en los análisis de varianza se establecieron las siguientes hipótesis:

1. Tratamientos:

$$H_0 : \text{Trat 1} = \text{Trat 2} = T_i$$

H_a : Por lo menos un tratamiento es distinto.

2. Solventes:

$$H_0 : \text{solv 1} = \text{solv 2} = \text{solv } i$$

H_a : Por lo menos un solvente es distinto.

3. Concentraciones:

$$H_0 : \text{conc 1} = \text{conc 2} = \text{conc 3} = \text{conc } l$$

H_a : Por lo menos una concentración es diferente.

4. Tiempos:

$$H_0 : \text{tiemp 1} = \text{tiemp 2} = \text{tiemp 3} = \text{tiemp } i$$

H_a : Por lo menos un tiempo es diferente.

5. Interacción tratamiento x solvente:

$$H_0 : (a * b)_{jk} = 0$$

$$H_a : (a * b)_{jk} \neq 0$$

6. Interacción tratamiento x concentración.

$$H_0 : (a * c)_{jk} = 0$$

$$H_a : (a * c)_{jk} \neq 0$$

7. Interacción tratamiento x tiempo.

$$H_0 : (a * d)_{jk} = 0$$

$$H_a : (a * d)_{jk} \neq 0$$

8. Interacción solvente x concentración.

$$H_0 : (b * c)_{jk} = 0$$

$$H_a : (b * c)_{jk} \neq 0$$

9. Interacción solvente x tiempo.

$$H_0 : (b * d)_{jk} = 0$$

$$H_a : (b * d)_{jk} \neq 0$$

10. Interacción concentración x tiempo.

$$H_0 : (c * d)_{jk} = 0$$

$$H_a : (c * d)_{jk} \neq 0$$

11. Interacción tratamiento x solvente x concentración.

$$H_0 : (a * b * c)_{jkl} = 0$$

$$H_a : (a * b * c)_{jkl} \neq 0$$

12. Interacción tratamiento x solvente x tiempo.

$$H_0 : (a * b * d)_{jkl} = 0$$

$$H_a : (a * b * d)_{jkl} \neq 0$$

13. Interacción tratamiento x concentración x tiempo.

$$H_0 : (a * c * d)_{jkl} = 0$$

$$H_a : (a * c * d)_{jkl} \neq 0$$

14. Interacción solvente x concentración x tiempo.

$$H_0 : (b * c * d)_{jkl} = 0$$

$$H_a : (b * c * d)_{jkl} \neq 0$$

15. Interacción tratamiento x solvente x concentración x tiempo.

$$H_0 : (a * b * c * d)_{jklm} = 0$$

$$H_a : (a * b * c * d)_{jklm} \neq 0$$

Los estadísticos de prueba utilizados para comprobar las hipótesis se presentan en el Cuadro 6, donde la hipótesis nula (**H₀**) se rechaza si la **F_c** es mayor o igual a la **F** tabulada al 0.05 de probabilidad.

CAPITULO IV.

RESULTADOS.

4.1. Evaluación del estado fitosanitario.

En el municipio de Arandas Jalisco quedó de manifiesto que la incidencia de *Fusarium oxysporum* y *Erwinia* sp. se vio favorecida por la humedad relativa provocada por el temporal, ya que los porcentajes de incidencia fueron marcadamente altos en los grados uno y dos de acuerdo a la escala para evaluar el daño por *Fusarium oxysporum* y *Erwinia* sp., mismos que de no tratarse adecuadamente pasarán a los grados siguientes, existiendo la probabilidad de que la incidencia de *Erwinia* sin humedad disminuya, pero el caso de *Fusarium* se favorece con la falta de humedad en el suelo (Figura 1).

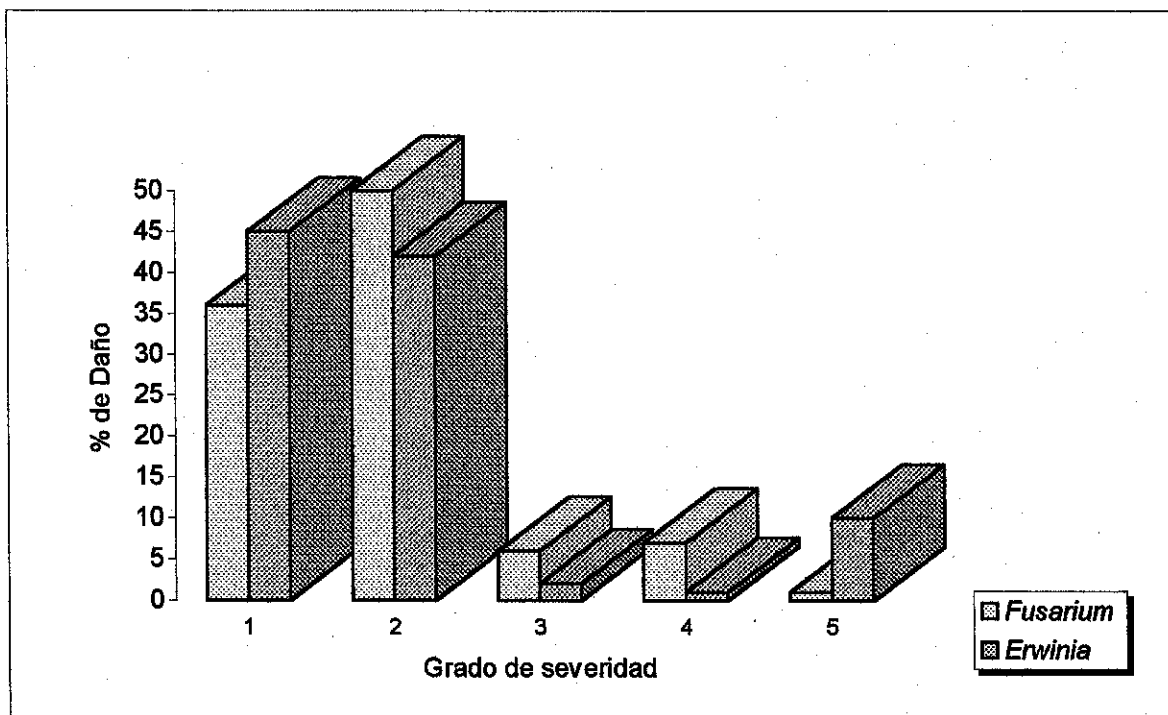


Figura 1. Grado de severidad por *Fusarium oxysporum* y *Erwinia* sp. en el municipio de Arandas, Jalisco. Agosto-Diciembre 1998.

Para el municipio de Atotonilco, Jalisco los resultados fueron similares a los de Arandas con la diferencia que la mayor incidencia de *Erwinia* sp. únicamente se presentó para el grado uno donde las enfermedades fueron un 60 % para el caso de *Fusarium* y cerca del 80 % para *Erwinia* (Figura 2).

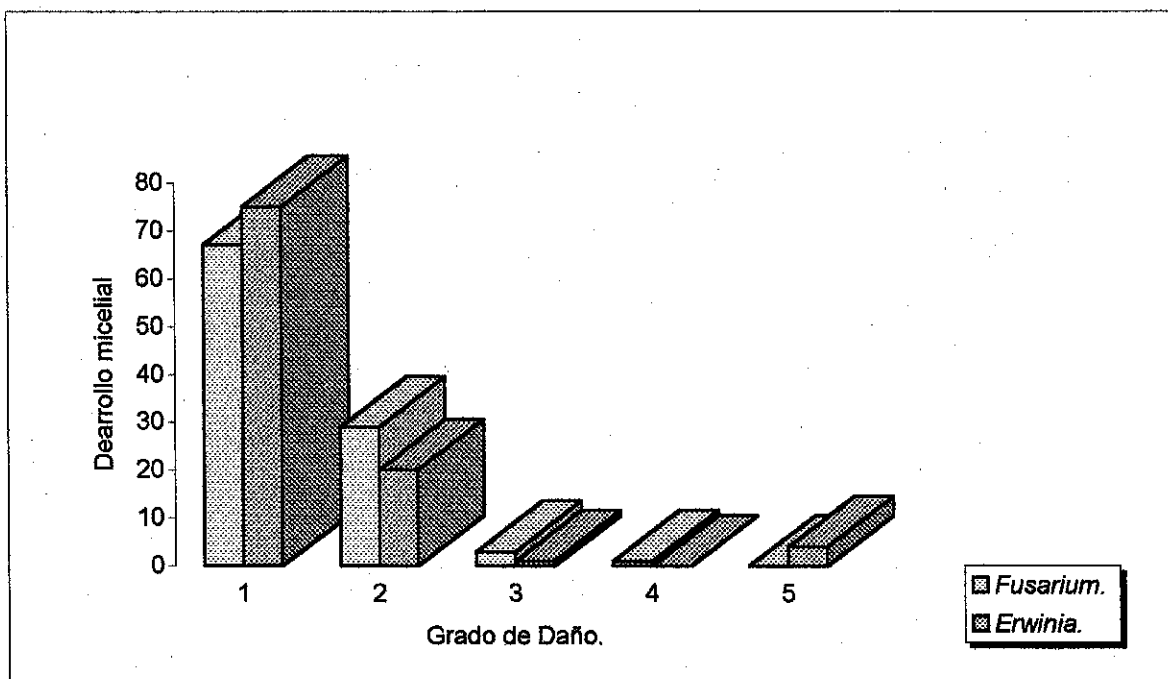


Figura 2. Grado de severidad por *Fusarium oxysporum* y *Erwinia* sp. en el municipio de Atotonilco el Alto, Jalisco. Agosto- Diciembre 1998.

En el municipio de Jesús María, Jalisco fue notoria la diferencia entre estas enfermedades destacando *Erwinia* en el grado dos con un 60 % en comparación con *Fusarium* para el mismo grado con un 30 % de incidencia; sin embargo para los grados tres, cuatro y cinco, la incidencia fue muy baja. (Figura 3).

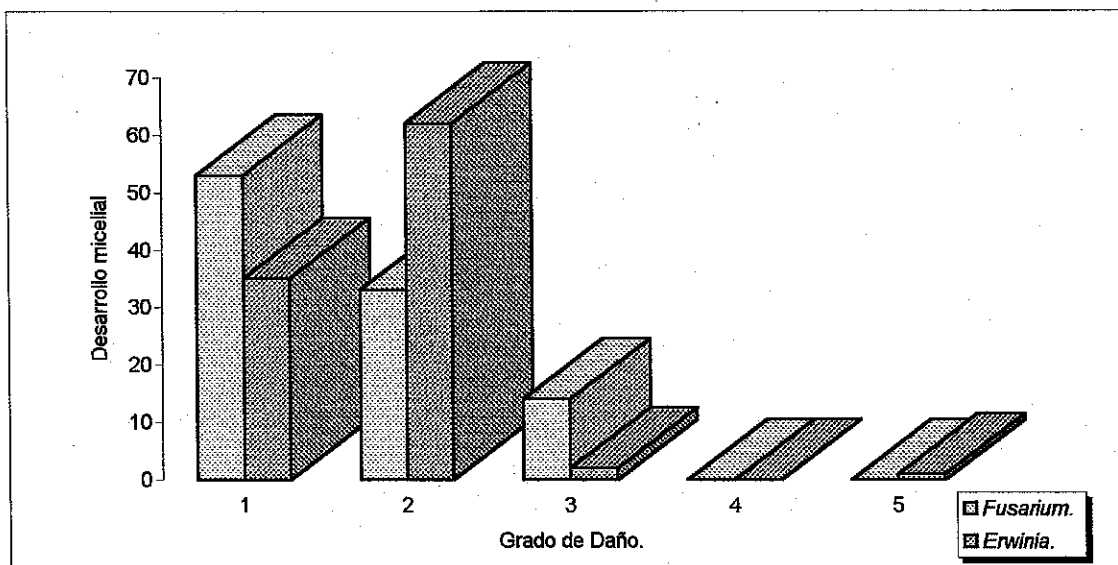


Figura 3. Grado de severidad de *Fusarium oxysporum* y *Erwinia* sp. en el municipio de Jesús María, Jalisco. Agosto- Diciembre 1998.

En Tepatitlan, Jalisco se presentó la misma tendencia que en el municipio de Jesús María con un grado dos de *Erwinia* con más del 70% de incidencia (Figura 4).

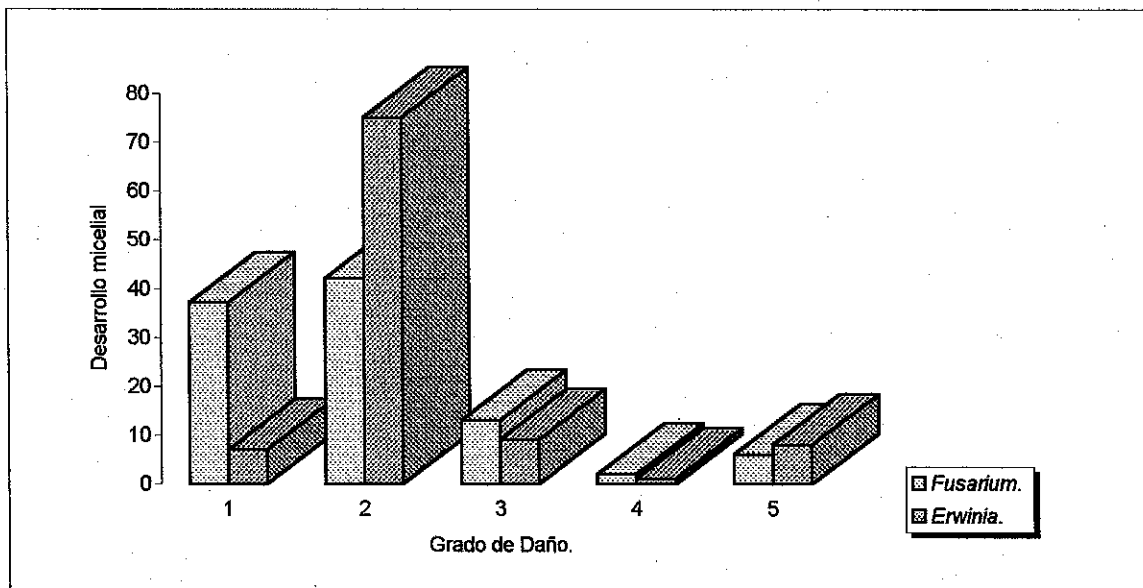


Figura 4. Grado de severidad de *Fusarium oxysporum* y *Erwinia* sp. en el municipio de Tepatitlan, Jalisco. Agosto- Diciembre 1998.

En el municipio de Zapotlanejo, Jalisco, *Fusarium* y *Erwinia* se presentaron en la misma proporción, donde hubo un ascenso del grado uno al tres llegando los dos casi al 60 % (Figura 5).

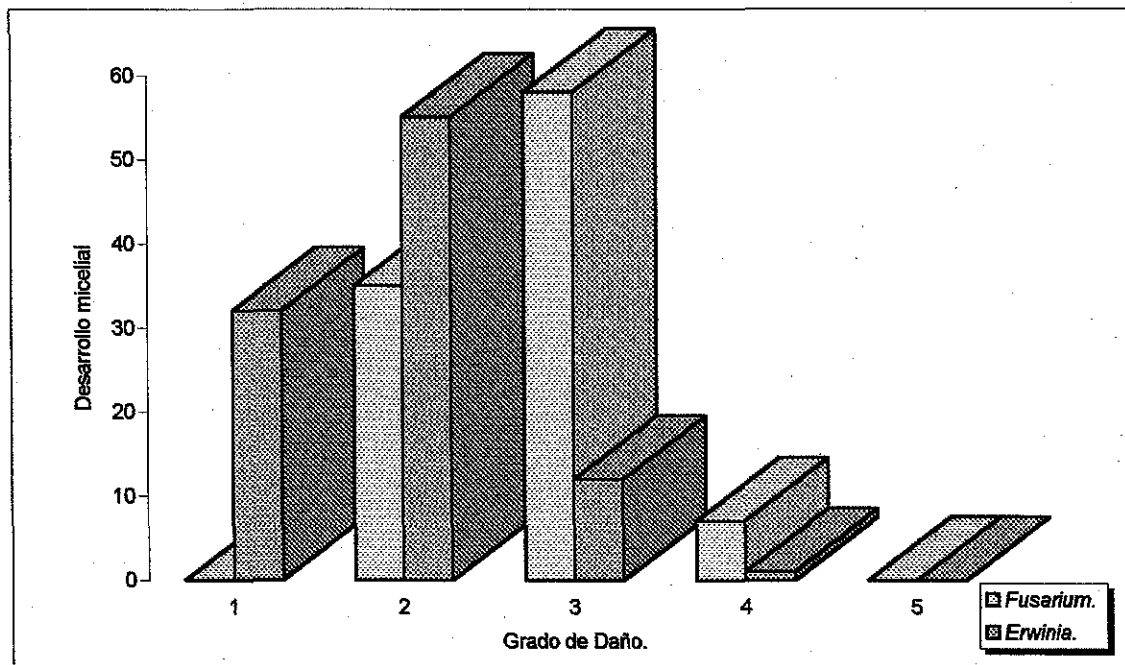


Figura 5. Grado de severidad de *Fusarium oxysporum* y *Erwinia* sp. en el municipio de Zapotlanejo, Jalisco. Agosto- Diciembre 1998.

Respecto al estado fitosanitario para la región de los altos, *Erwinia* mostró de manera general un 38.8% de grado 1; 37.8% en el grado 2; 18.8% en el grado 3; 3.4% en grado 4 y 1.4 para el grado 5. *Fusarium* presentó valores de 38.8% en la escala de 1; 50.8% para la escala de 3; 3.4% para el grado 4 y 1.4% en el grado 5.

En la zona Centro, específicamente en el municipio de Tequila la incidencia de *Erwinia* inició fuertemente con un 58% en la escala de 1 el cual disminuyó en los siguientes valores de la escala de incidencia, (Figura 6), de mantenerse esta tendencia esta zona tendrá problemas con esta enfermedad, ya que avanza 2 cm por día en forma descendente (Martínez-Ramírez et al, 1999).

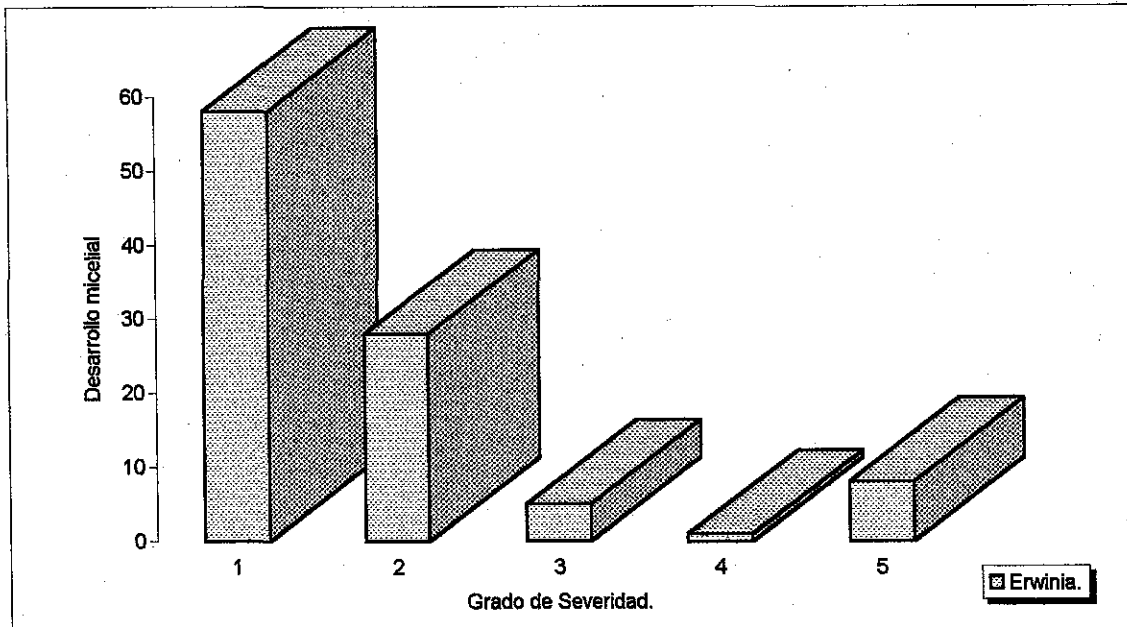


Figura 6. Grado de severidad de *Erwinia* sp. en el municipio de Tequila, Jalisco. Agosto- Diciembre 1998.

Situación similar sucedió en Santa Cruz del Astillero, con la diferencia que la mayor severidad la presentan el grado dos y tres. (Figura 7).

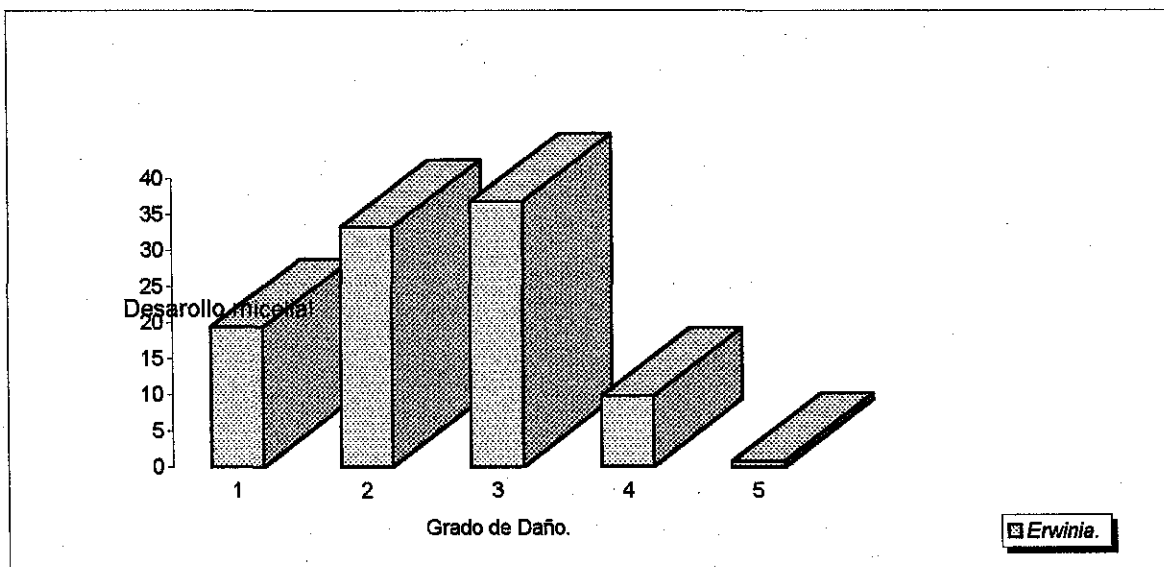


Figura 7. Grado de severidad de *Erwinia* sp. en el municipio de Santa Cruz del Astillero, Jalisco. Agosto- Diciembre 1998.

De manera general en la región centro hubo un 33.6 % de daño en la escala de 1; 35.3 % en 2; 18.3% en la escala de 3; 4.5% en 4 y; 5.3% en la escala de 5. para *Erwinia sp.* En el caso de *Fusarium* presentó 19.4% en la escala de 1; 33.2% para el valor de 2; 36.8% en la calificación de 3; un 9.8% en la escala de 4 y ; 0.8% en la escala de 5.

4.2. Análisis de Varianza.

El análisis de varianza para la inhibición de *Fusarium oxysporum* con 14 extractos vegetales (Cuadro 9) mostró que hubo diferencias estadísticamente significativas en todas las variables estudiadas.

Cuadro 9. Análisis de Varianza de la inhibición de *Fusarium oxysporum* con 13 extractos vegetales. Zapopan, Jalisco. (2001).

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F
Tratamientos a	13	8684.1256	668.0097	59.56 **
Solventes b	1	4979.9677	4979.9677	444.00 *
Concentraciones c	2	5488.4554	2744.2277	244.67 **
Tiempo d	3	391823.8890	130607.9630	11644.5 **
a*b	9	4059.0187	451.0021	40.21 **
a*c	26	7076.6430	272.1786	24.27 **
a*d	39	21433.5331	549.5778	49.00 **
b*c	2	6782.7575	3391.3787	302.36 **
b*d	3	2201.3854	733.7951	65.42 **
c*d	6	1615.5365	269.2561	24.01 **
a*b*c	18	4379.8036	243.3224	21.69 **
a*b*d	27	21826.0104	808.3708	72.07 **
a*c*d	78	18864.1076	241.8475	21.56 **
b*c*d	6	2349.1464	391.5244	34.91 **
a*b*c*d	54	6271.5043	116.1390.	10.35 **
Error	564	6325.9600	11.2162	

* Significativo al 0.05 de probabilidades.

4.3. Extractos Vegetales.

Las diferencias significativas encontradas entre los tratamientos, indicaron que el laurel (*Laurus novilis*) resultó estadísticamente mejor con un desarrollo micelial de 37.04 mm. y diferente del resto de los extractos utilizados. El laurel cuando se combinó con alcohol dio 30.59 mm y además con 3000 ppm dio un 21.43 de crecimiento micelial.

Cuadro 10. Promedio de Inhibición de *Fusarium oxysporum* con 13 extractos vegetales. Zapopan, Jalisco (2001).

Tratamientos	Crecimiento (mm*)
Tomillo	51.9583**a
Cacahuete	47.2556**ab
Higuerilla	45.8792**ab
Cebada	43.8556**ab
Granada	43.2806**ab
Ruda	42.1735** b
Acelga	42.1057** b
Testigo	41.8609** b
Ajo	41.6042** b
Laurel	41.4841** b
Espinaca	41.1771** b
Paraíso	40.9736** b
Betabel	39.4194** b
Laurel	37.0431** c

*Crecimiento en mm.

**Significativo al 0.05 de probabilidad.

852 Observaciones.

4.4. Solventes.

En el Cuadro 11 se muestran los promedios de efectividad de los solventes utilizados, donde el alcohol resultó ser mejor para el arrastre de los ingredientes bioactivos existentes en los 13 vegetales utilizados, con un desarrollo micelial de 39.87 mm.

Cuadro 11. Eficacia de los solventes utilizados para la inhibición de *Fusarium oxysporum*, Zapopan, Jalisco (2001).

Solventes	Crecimiento (mm*)
Agua	45.2252 a
Alcohol	39.8758 b

*Crecimiento en mm.

**Significancia al 0.05 de probabilidad.

852 Observaciones.

4.5. Concentraciones.

En el Cuadro 12 se muestran los promedios de las concentraciones de los extractos, resultando ser la mejor de 3000 ppm con 39.31 de crecimiento micelial.

Cuadro 12. Diferencias estadísticas entre concentraciones utilizadas, Zapopan, Jalisco (2001).

Concentraciones	Crecimiento (mm*)
750 ppm.	45.3796* a
1500 ppm	43.5084*b
3000 ppm	39.3138* c

*Crecimiento en mm..

852 Observaciones.

4.6. Tiempo.

En el Cuadro 13 se presentan los tiempos de lecturas del crecimiento micelial, donde se ve que a los 15 días se tuvo inhibición lo cual indica la persistencia y el espectro mas amplio de los extractos que manifestaron acción contra *Fusarium oxysporum*.

Cuadro13. Promedio de inhibición de *Fusarium oxysporum* en cuatro lecturas. Zapopan, Jalisco, 2001.

Tiempo (días)	Crecimiento (mm*)
15	70.6127*
11	54.6801*
7	33.2551*
3	13.6926*

*Crecimiento en mm.

852 Observaciones.

4.7. Tratamiento x solvente

La interacción significativa encontrada para la inhibición de *Fusarium oxysporum* se refleja en los cambios en la magnitud de respuesta de los extractos en combinación con los solventes utilizados en el estudio (Figura 8). En forma general todos los extractos combinados con alcohol mostraron la menos inhibición al compararlos con las combinaciones de los extractos en agua, excepto el extracto de cebolla que presentó una menor inhibición con alcohol. La combinación del extracto de tomillo con agua y el extracto de cacahuate con el mismo solvente fueron las combinaciones que presentan el mayor crecimiento. En contraste el laurel en alcohol fue el extracto que presentó el menor crecimiento de micelio.

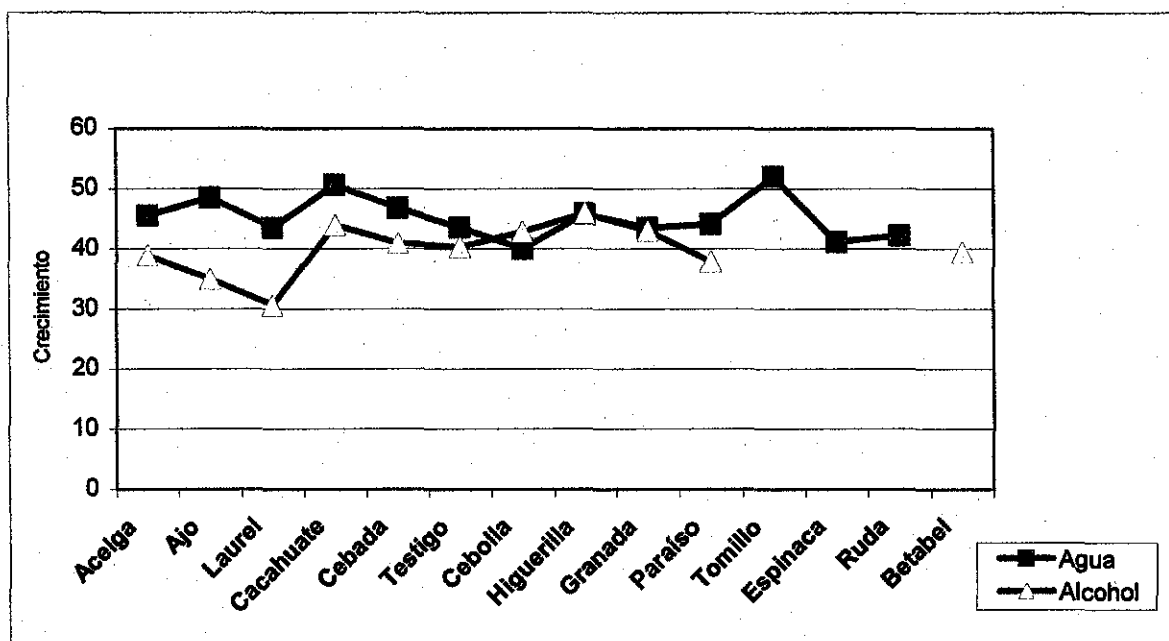


Figura 8. Interacción tratamiento x solvente.

4.8. Tratamiento x concentración.

En cuanto a la respuesta de *Fusarium oxysporum* a la combinación de los extractos y la concentración del mismo, la interacción significativa presentada se explica por los cambios encontrados en la magnitud de respuesta de los extractos hacia las diferentes partes por millón (Fig. 9). El Betabel a la concentración de

1500 ppm mostró el mayor crecimiento micelial seguido por el extracto de ruda a 750 ppm, mientras que el tomillo a 3000 ppm tuvo el valor mas bajo de inhibición.

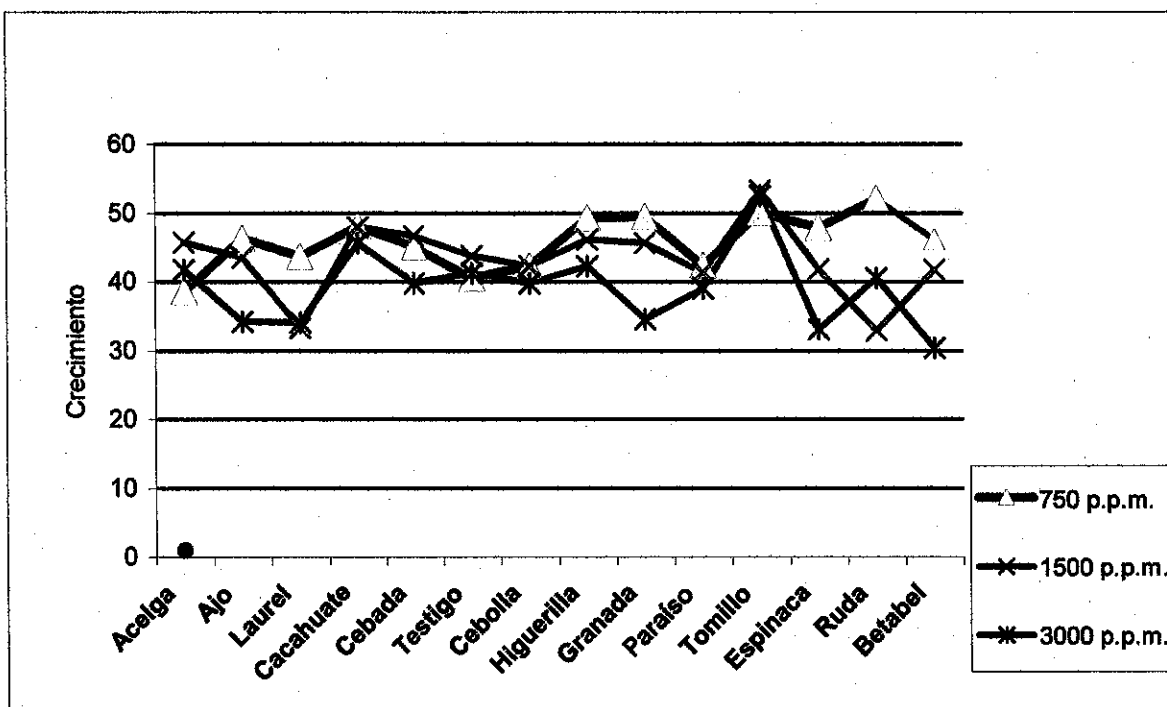


Figura 9. Interacción Tratamiento x Concentración.

4.9. Tratamiento x tiempo.

Con relación al tiempo de lectura de la respuesta de inhibición de *Fusarium oxysporum* a los diferentes extractos, la interacción significativa puede explicarse en forma resumida de la siguiente manera: La lectura tomada a los 15 días mostró el mayor crecimiento de micelio seguida en forma descendente por las demás fechas de lectura que fueron de tres, siete y once días. De manera general, todos los extractos mostraron el menor control en la lectura de los quince días, excepto el testigo que fue superado en la lectura de los 11 días, en esta interacción el mejor tratamiento fue el ajo a los tres días con un crecimiento de 11.2167 mm. (Fig. 10).

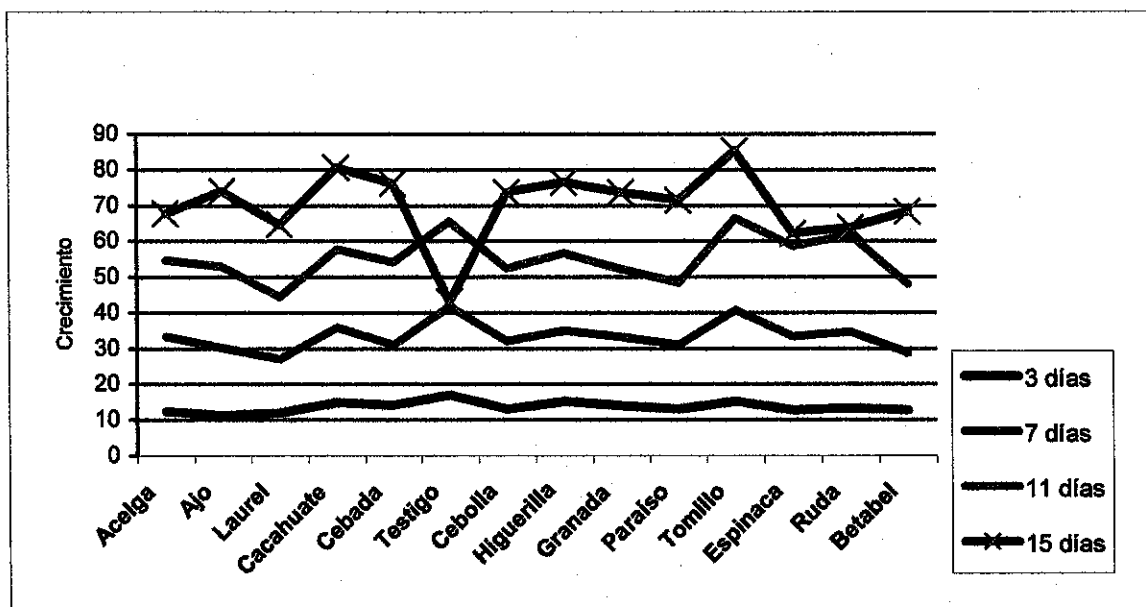


Figura 10. Interacción tratamiento x tiempo.

4.10. Solvente x concentración.

De manera general el solvente alcohol fue superior al agua a través de las diferentes concentraciones al presentar menor crecimiento micelial, sin embargo en la concentración de 750 ppm no hubo diferencias entre los solventes, mientras que a 3000 ppm el agua fue superior en un 16% comparada con la de 750 ppm (Fig. 11).

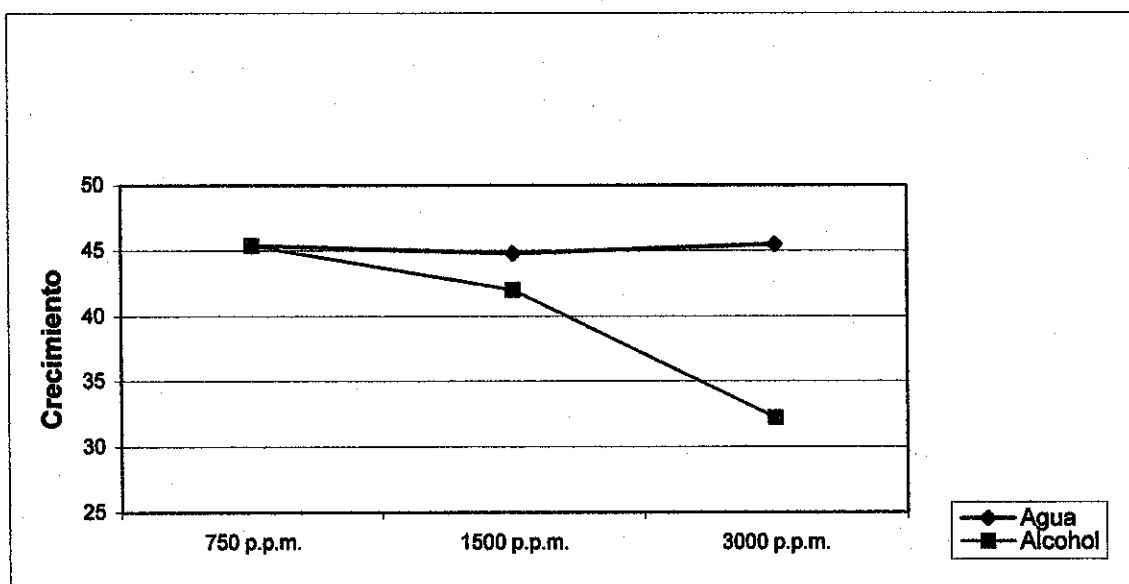


Figura 11. Interacción solvente x concentración

4.11. Solvente x tiempo.

La interacción significativa encontrada entre solventes y tiempo de lectura no es muy notable gráficamente, sin embargo los cambios en la magnitud de respuesta mostraron que el alcohol fue mejor solvente a través de las diferentes fechas de lectura. En forma general la menor inhibición de *Fusarium oxysporum* se presentó en la lectura a los tres días y fue ascendiendo a medida que transcurrió el tiempo (Figura 12). En esta interacción el que muestra menor crecimiento es el alcohol a los tres días con 12.07768, sin embargo los mejores fueron los que persistieron a los 15 días.

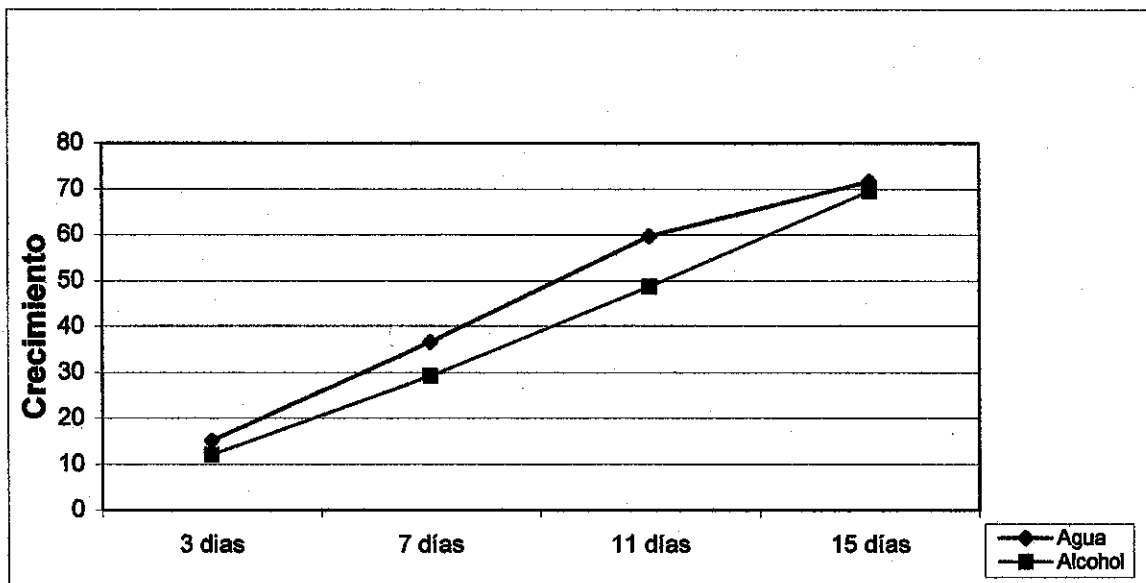


Figura 12. Interacción solvente x tiempo.

4.12. Concentración x tiempo.

De acuerdo al resultado estadístico de esta interacción la concentración de 750 ppm fue la mejor, seguida de 1500 ppm y 3000 ppm y así sucesivamente de menor a mayor en todas las observaciones. (Cuadro 13).

Al igual que en la interacción anterior la interacción significativa entre concentración y tiempo se dio por los cambios en la magnitud de respuesta. En

forma general la menor concentración mostró el mayor valor de inhibición a través de las lecturas. También en el menor tiempo de lectura se tuvo el menor porcentaje de inhibición, el cual aumentó a través del tiempo (Figura 13).

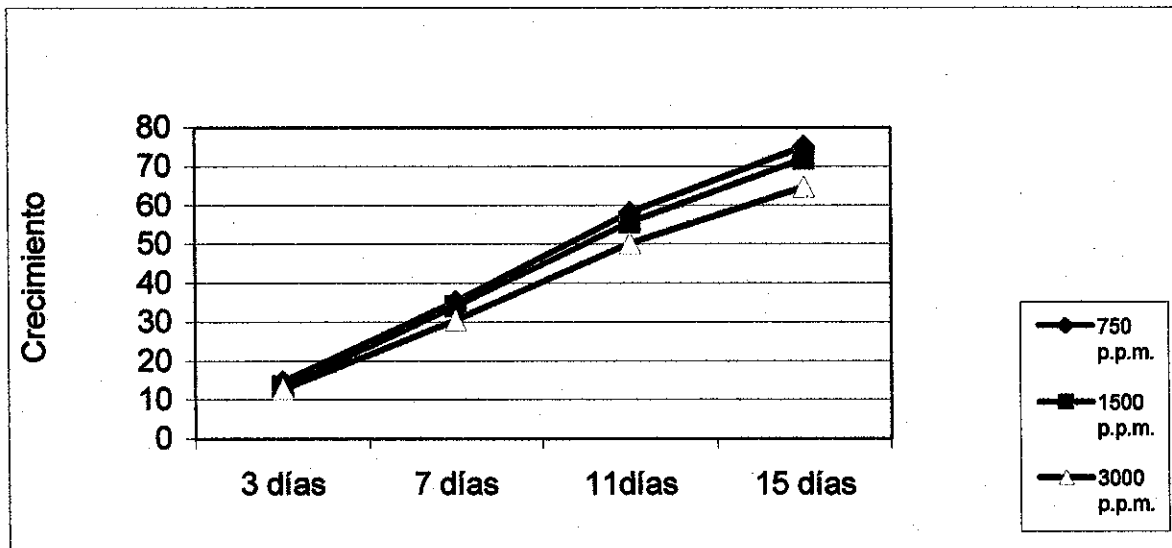


Figura 13. Interacción concentración x tiempo.

4.13. Sensibilidad de *Erwinia* sp a los extractos vegetales.

Para la sensibilidad de *Erwinia* sp se probaron 12 extractos los cuales no mostraron ningún resultado satisfactorio, estos fueron a 750, 1500 y 3000 ppm. por lo que se preparó otro ensayo con únicamente 5 extractos pero incrementándoles la concentración, de tal forma que se manejaron 1500, 3000 y 4500 ppm los cuales tampoco dieron buen resultado (Cuadros 14, 15 y 16).

Cuadro 14. Inhibición de *Erwinia* sp aislada de Agave con diferentes extractos a 1500 p.p.m.

Tratamiento	Halo de inhibición (mm)	Inhibición corregida
Laurel	0.1	-
Ajo	0.1	-
Ruda	0.1	-
Granada	0.1	-
Paraíso	0.1	-
Testigo	0.1	-

* Promedio de 4 repeticiones

** Tukey $p = 0.05$

Cuadro 15. Inhibición de *Erwinia* sp aislada de Agave con diferentes extractos a 3000 ppm.

Tratamiento	Halo de inhibición (mm)	Inhibición corregida
Laurel	0.1	-
Ajo	0.1	-
Ruda	0.1	-
Granada	0.1	-
Paraíso	0.1	-
Testigo	0.1	-

* Promedio de 4 repeticiones

** Tukey $p = 0.05$

Cuadro 16. Inhibición de *Erwinia* sp aislada de Agave con diferentes extractos a 4500 ppm.

Tratamiento	Halo de inhibición (mm)	Inhibición corregida
Laurel	0.1	-
Ajo	0.1	-
Ruda	0.1	-
Granada	0.1	-
Paraíso	0.1	-
Testigo	0.1	-

* Promedio de 4 repeticiones

** Tukey $p = 0.05$

V. DISCUSIÓN

El que la incidencia de *Fusarium oxysporum* haya sido más alta en la región de los Altos probablemente se deba como lo ha manifestado Alcocer (2000), a que *Fusarium oxysporum* prospera en suelos resacos, mientras que la bacteriosis se incrementa con la humedad, los suelos de los Altos pierden humedad más rápido que los del Centro de Jalisco.

El hecho de que el laurel haya resultado mejor se debe al mayor contenido de alcaloides que contienen las hojas (Grainge y Ahmed, 1988) en comparación con el resto de extractos utilizados. En contraste el betabel que fue el segundo mejor extracto, no se reportan datos que contenga alcaloides, sin embargo la efectividad encontrada coincide con los resultados obtenidos por Mosch *et al.*, (1990).

En cuanto a los solventes el alcohol fue superior al agua, esto se explica por que el alcohol tiene mayor capacidad de arrastre de ingredientes activos, esto debido a la polaridad que es compatible con los vegetales utilizados.

En relación a las concentraciones utilizadas en el estudio, la mayor concentración tuvo el mejor rango de inhibición de *Fusarium oxysporum*, esto es comprensible ya que a mayor concentración de extracto vegetal hubo una mayor concentración de ingrediente activo.

Con el tiempo de acuerdo con los resultados encontrados en las fechas de lectura de crecimiento el mejor control se tuvo a los tres días, sin embargo este resultado es engañoso, ya que el micelio del hongo en esta etapa todavía no tenía una cantidad de biomasa de acuerdo al tiempo de crecimiento del hongo. Esto es que en las primeras etapas de desarrollo existe la posibilidad de tener un mejor control del hongo.

En la interacción de tratamiento por solvente como se explicó de manera separada en los componentes principales el mejor extracto fue el laurel y el mejor solvente fue el alcohol, lo cual explica el comportamiento observado en la interacción de estos factores, sin embargo la cebolla fue mejor con agua que con

el alcohol esto quizás se deba al contenido de sulfuro (Grainge y Ahmed, 1988) el cual se comporta como un compuesto polar.

En la interacción de tratamiento por concentración se encontró de manera general que a mayor concentración de extracto vegetal hubo menor crecimiento micelial del hongo. Al igual que la interacción anterior este resultado se explica por la acción ejercida por los factores simples de esta interacción.

Para la interacción de tratamiento por tiempo en la lectura de crecimiento del micelio el mejor control se obtuvo a los tres días, pero como se explicó en las fechas de lectura esto se debió al menor volumen de biomasa encontrado en esta lectura.

En relación a la sensibilidad de *Erwinia* sp. a los extractos vegetales que se probaron a diferentes concentraciones y que no demostraron ningún control, posiblemente esto se debió a la metodología utilizada, esto significa que habría que probar otros métodos de obtención de extractos ya que Grainge y Ahmed, (1988) demostraron que algunos de estos extractos si controlan a *Erwinia* sp.

Los resultados del presente estudio muestran el gran potencial que tienen los extractos vegetales para controlar enfermedades fungosas en los cultivos ya que las 14 especies vegetales que se utilizaron mostraron diferente grado de actividad biológica contra *Fusarium oxysporum*, no así con *Erwinia*, lo cual coincide con lo encontrado por Montes-Belmont (1996). Para los ensayos de *Erwinia* se utilizaron cinco extractos de los cuales dos (el ajo y la ruda) están recomendados (Grainge y Ahmed, 1988) sin embargo en este caso no dieron resultado, el solvente no fue el indicado o la metodología no es la apropiada. Estos resultados son indicativos de que existe un futuro promisorio para el control de fitopatógenos con extractos vegetales y considerando que en México existen entre 23,000 y 30,000 especies de plantas (Toledo, 1993). Existe un gran potencial para identificar plantas que pueden ser utilizadas para reemplazar a otras que no tenemos en México y que se utilizan para el control de fitopatógenos (Gangrade *etal.*, 1989; Morozumi, 1989, Mishra e^al., 1995).

El uso de extractos vegetales puede incorporarse como un componente más de un sistema de manejo integral, en donde se utilicen las fechas de siembra

con menor incidencia de enfermedades, semillas certificadas, adecuada preparación del suelo, fertilización orgánica que favorezca la microflora antagónica a los patógenos y densidades de siembra que eviten un ambiente favorable a los patógenos (Montes-Belmont, 1996).

La utilización de los extractos vegetales son una buena opción para el control de enfermedades en los cultivos por accesibles y las metodologías sencillas que se pueden utilizar para obtener buenos resultados.

CAPITULO VI. CONCLUSIONES.

- *Erwinia* sp. y *Fusarium oxysporum* fueron los fitopatógenos comunes a todas las zonas productoras de agave en los Altos y Centro de Jalisco.

- La incidencia de *Fusarium oxysporum* es mas alta en la zona de los altos.

- Los vegetales que resultaron mejores para la inhibición de *Fusarium oxysporum* fueron: la acelga (*Beta vulgaris*), el laurel (*Laurus novilis*), el ajo (*Allium sativum*) , paraíso (*Melia azederach*) utilizando agua como solvente a los 15 días.

- Estos resultados resultan prometedores por que los extractos vegetales pueden representar unos funguicidas potenciales para el control del género *Fusarium*. No obstante, es necesario realizar las pruebas a nivel de campo usando diferentes aislamientos y en concentraciones diferentes de un mismo extracto pero utilizando el mismo método por su accesibilidad en costos.

- Para el problema con la bacteriosis provocada por *Erwinia* no se logró un control con los extractos probados.

CAPITULO VII. LITERATURA CITADA

- Ahmed, AH;** El-Shazley, M. 1987. Toxic extracts of the weeds. IV Bactericidal activity of weed extracts. Alexandria J. Agric. Res. 32 (1): 395-403.
- Alstroem, S.** 1992. Antibacterial activity of tea and coffee wastes against some plant pathogenic *Pseudomonas syringae* strains. J. of Phytopathology 136 (4): 329-334.
- Alsina, L.** 1980. Horticultura especial. Ed. Sintes, S.A. Barcelona.
- Angulo-Bojórquez.** Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa. Apdo. Postal 726, Culiacán, Sinaloa CP 80000. Resúmenes del XXVII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C.
- Anton, R., A.,** and Haag-Burrurier, M. 1987. New properties for old compounds. In: Hostettmann, K. and Lea, P.J. Biologically active natural products. Oxford Univ. Press. 117-125.
- Aparicio, V et al.** 1998. Plagas y enfermedades en cultivos hortícola de la provincia de Almería: control racional. Informaciones Técnicas 80/98. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Sevilla. 356 pp.
- Aponte, A.** 1989. Enfermedades del girasol detectadas en Venezuela. FONAIAP Divulga (Venezuela) Julio-diciembre:23-27.
- Arsejevic, M;** Venete, RJ; Mascrevic, S. 1994. *Pseudomonas syringae*, pv. *helianthi* (Kawamura 1934) (Dye Wilkie et. Young 1978) a pathogen of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Phytopathology 142:199-208.
- Asman, A;** Hadad, E. 1989. The application of agrimicin, hull ash, onion and garlic extracts on the soil for ginger plantation infected by *Pseudomonas solanacearum*. Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Indonesia) 4 (2): 64-69.
- Bernal Alcocer A.,** López Rocha A.J., Torres Moran J.P., Martínez Ramírez L.L., Rodríguez Ruvalcaba R., Vázquez García M., Pimienta Barrios E. y Virgen Calleros G. Departamento de Producción Agrícola CUCBA-UdeG. Apdo. Postal 39-82.CP. 45110. E-mail: gvirgen@maiz.cucba.udg.mx. CRECIMIENTO MICELIAL IN VITRO DE *Fusarium oxysporum* Aislado de *Agave tequilana* W. var. azul A DIFERENTES NIVELES DE pH Y TEMPERATURA. Congreso Latinoamericano de Fitopatología. 1999. p. 275.
- Bernal- Alcocer A. y** López Rocha A.J. 2001. Germinación *in vitro* de conidios y clamidosporas de *Fusarium oxysporum* aislado de *Agave tequilana* Weber var. Azul a diferentes niveles de pH y temperatura. Tesis licenciatura. Universidad de Guadalajara. p. 43.
- Beckstrom-Strenberg, S.M.** 1993. Utility of the *Phytochemeco* data-base. In: Downum, K.R., Romeo J.T. and Stafford H.A. (eds.). Phytochemical potential of tropical plants. Plenum Press. 267-286.
- Bullerman, L. B. ,** Live, y , and Seier, S. A. 1977 Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamom and clave oils, cinnamic aldehyde and eugenal. Journal of Food Science 42: 1107-1107

- Burton, W., Wigginton, M.J.** 1970. The effect of a film of water upon the oxygen status of a potato tuber. *Potato Res.* 13: 180-186.
- Brewster, R. Q., C.A. Vanderwert, W. E. Mc. Ewen.** 1982. Curso practico de Quimica organica. Tercera edición, Ed. Alambra. España. P. 33. Browning B.L. 1967. *Methods of Wood Chemistry.* Interscience Publishers, N.Y. 1: 207-221.
- Carlson, R.** 1961. *Silent Spring* Houghton Mifflin, Boston. 373 PP
- Cook R. James.** Biological Control of Plant Pathogens: Theory to Application. 76th Annual Meeting. August 15, 1984, Guelph, Ontario, Canada. Presidential Address. Vol. 75, No. 1, 1985 p. 25.
- Donal, W.W.** 1994. Geostatistics for Mapping Weeds, With a Canada Thistle (*Cirsium arvense*) Patch as a Case Study. *Weed Science* 42: 648-657.
- Gentry, H. S.** 1982. *Agaves of Continental North America.* The University of Arizona Press. Tucson, Az. 668 p.
- Gil, V. K.** 1997. Caracterización genética del *Agave sp.* utilizando marcadores moleculares. Tesis de Maestría en Ciencias. CINVESTAV.
- Grainge, M and Ahmed, S.** 1988. *Handbook of plants with pest control properties.* John Wiley and Sons. 470 p
- Granados, S. D.** 1985. Etnobotanica de los agaves de las zonas áridas y semiáridas, *Biología y Aprovechamiento Integral del Henequén y otros agaves.* Centro de Investigación Científica de Yucatán. p. 127-135.
- Granados, S. D.** 1993. *Los Agaves en México.* Universidad Autónoma de Chapingo. México. 252 p.
- Guevara, Y; Rondón, A; Solórzano, R.** 1980. Bacteriosis del mango (*Mangifera indica* L.) en Venezuela. I- Sintomatología e identificación. *Agronomía Tropical (Venezuela)* 30(1-6):65-76.
- Guevara, Y; Rondón, A; Arnal, E; Solórzano, R.** 1985. Bacteriosis del mango (*Mangifera indica* L.) en Venezuela. II- Distribución, perpetuación, diseminación y evaluación de la resistencia de variedades. *Agronomía Tropical (Venezuela)* 35(4-6):63-75.
- Guevara, Y; Rondón, A; Maselli, A; Salcedo, F; Betancourt, J.** 1993. La marchitez bacteriana del lechoso (*Carica papaya* L.) en Venezuela. *Agronomía Tropical (Venezuela)* 43(3-4):107-115.
- Hutagalun G, L.** 1988. Garlic bulb as a material for suppressing the incidence of bacterial wilt (*Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith) on tomatoes. *Buletin Penelitian Hortikultura* 16 (1): 84-93.
- Hyakumachi, M.** 1998. Carbón loss and Germinibilyty, Viability, and Virulence of chlamidospores of *Fusarium solani* f. sp. *Phaseoli* After Exposure to Soil at Different pH Levels, Temperatures, and Matric Potentials. *Phytopathology* 88. 144-155.
- James-Cook, R.** 1984. Presidential Address. 76th Annual Meeting Guelph, Ontario, Canada
- Jarosz, J; Lipa, J.** 1988. Bacteriostatic and bactericidal activity of garlic preparations against six species of phytopathogenic bacteria of the genera *Agrobacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Polish Agricultural Annual. Serie E. Plant Protection* 18 (2): 191-199.

- Juárez-Reyes, C.** Raymundo Saúl García-Estrada, José Armando Carrillo-Facio, Raúl Allende-Molar y José Guadalupe Valenzuela-Ureta. 1999. MARCHITEZ BACTERIANA EN CHILE BELL CAUSADA POR *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. Facultad de Agronomía, universidad Autónoma de Sinaloa, km. 17.5 Carr. Culiacán- El Dorado, Culiacán, Sinaloa; CIAD Unidad Culiacán. E-mail: cjuarez@yahoo. com. Resúmenes del Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C. L-30 . 1999.
- Kenneth, D. H.** 1986. Methods for evaluating pesticides for control of plant pathogens. American phytopathological Society. 312 p
- Kotoujansky, A.** 1987. Molecular genetics of pathogenesis by soft-rot *Erwinias*. Ann. Rev. Phytopathol. 25: 405-430.
- Kurita, Y., Makoto, M., Kurane, R., and Takahara, Y.** 1981. Antifungal activity of components of essential oils. Agri. Biol. Chem. 45: 945.
- Lagunes, T.A. y Rodríguez, C.** 1989. Búsqueda de tecnología apropiada para el combate de plagas del maíz almacenado en condiciones rústicas. CONACYT. Colegio de Postgraduados. México. 105 p.
- Lezama, M.M.** 1952. Historia, producción, industrialización y algunas plagas de los agaves. Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma de Chapingo, México.
- Lipa, J; Jarosz, J.** 1989. Inhibitory and bactericidal action of garlic preparations on *Pseudomonas lachrymans* SM et *B. carsner* an etiological agent of angular spot of Cucumber *P. fluorescens* migula and *P. aeruginosa*. Schroeter migula Prace Naukowe Instytutu Ochrony Roslin (Poland) 30 (1-2): 7-14.
- Loera Quezada, M. M. y Rodríguez Garay,** Centro de Investigación y Asistencia en tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C. Av. Normalistas No. 800, Guadalajara, Jalisco, México CP 44270. Email: brodriguez@ciatej.net.mx. Proyecto financiado por SIMORELOS y Fundación Produce Jalisco. A. C. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD in vitro DE TRES ESPECIES DE *Fusarium* AISLADAS DE PLANTAS ENFERMAS DE Agave tequilana Weber var. azul. XXVI Congreso de la Sociedad Mexicana de Fitopatología y X Congreso Latinoamericano de Fitopatología. 1999. p. 309.
- Lorian, V.** 1980. Antibiotics in Laboratory Medicine. New York, U.S.A. Department of Pathology. Albert Einstein College of Medicine Ed. 432 p.
- Luna, H.G.** 1996. Pudrición de tallo de *Agave tequilana* L. Weber en el estado de Jalisco, México. Tesis Profesional. Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma de Chapingo, México.
- Luna, H. G.** 1998. Hacia un manejo integrado de plagas, fundamentos y recomendaciones practicas. Cheminova.
- Lund, B. M. and Wyatt, G. M.** 1972. The effect of oxygen and carbon dioxide concentrations on bacterial soft rot. I. King Edward potatoes inoculated with *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*. Potato Res. 15 :174-179
- Lybecker, D.W., E.E. Schweizer, and R.P. King.** 1991. Weed Managment ecisions Based on Bioeconomic Medeling. Weed Science 39: 124-129.

- Maher**, E.A. and **Kelman**, A. 1983. Oxygen status of potato tuber tissue in relation to maceration by pectic enzymes of *Erwinia carotovora*. *Phytopathology* 73:536-539.
- Martínez-Ramírez**, J.L. 1994. Informe sobre el diagnóstico de la marchitez en agave. Tequila Cuervo. inédito.
- Martínez-Ramírez**, J. L. 1998. Avances del proyecto "Epidemiología y Manejo integrado de problemas Fitosanitarios en Agave (Agave azul tequilana Weber) Foro de análisis de la problemática de la Cadena productiva agave-tequila. p. 20-25
- Martínez-Ramírez**, J.L., Vázquez, G.M., Pimienta, B.E., Bernal, M.F., Flores, M.F., Ibarra, D.R., Torres, M.P., Cuevas, C.H., Martín del Campo, M.N., Rodríguez, R.R. y Virgen, C.G. 1998. Proyecto: Epidemiología y manejo integrado de problemas fitosanitarios en *Agave tequilana* Weber var. azul. *Rev. Mex. Fitopatol.* Vol 16 (1) :116.
- Maroto**, J.V. 1995. Horticultura herbácea especial. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.
- Maselli**, A. 1997. Tizón bacteriano del girasol (*Helianthus annuus* L.) en Venezuela: caracterización del agente causal, reacción de híbridos comerciales y transmisión del patógeno por semilla. Tesis de MSc. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía (Maracay). 72 p.
- Montes**, B.R., 1996. Productos naturales de origen vegetal para el combate de fitopatógenos. *Rev. Mex. de Fitopatología* 10: 9-13.
- Montes-Belmont et al.** Extractos vegetales inhibidores de la germinación de urediosporas de *Uromyces phaseoli* var. *typica* arth. y su espectro de acción antiesporulante. CHDIR-IPN-OAXACA. *Rev. Méx. de Fitopatología* 8.1, 1990 Pág.65-66).
- Montes-Belmont, R.** Productos Naturales de Origen Vegetal para el Combate de Fitopatógenos.. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Instituto Politécnico Nacional. Apdo. Postal 24. Yautepec, Morelos. México 62, 730. *Revista Mexicana de Fitopatología* / 9
- Mosch**, J; Klingauf, F. 1989. In vitro studies of the efficacy of plant extracts against the fireblight pathogen, *Erwinia amylovora* (Burill). *Winslow et al. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* 41 (8-9): 121-123.
- Mosch**, J; Zeller, C. 1989. Control of fireblight (*Erwinia amylovora*) with selected plant extracts. *Narichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* 41 (8-9): 149-151.
- Mosch**, J; Klingauf, F; Zeller, W. 1990. On the effect of plant extracts against fire blight (*Erwinia amylovora*). *Acta Horticulturae* 273:355-361.
- Mora-Aguilera** Antonio, Cárdenas Soriano Elizabeth, Téliz Ortiz Daniel, Mora Aguilera Gustavo, Otero Colina Gabriel, Sánchez García Prometeo. Colegio de Posgraduados. Km. 35.5 Carretera México-Texcoco. CP. 56230. Montecillo Texcoco. México. E-mail.aguilera@colpos.mx. ALGUNOS EVENTOS DE PATOGENESIS DE LA ESCOBA DE BRUJA (*Fusarium subglutinans* y *F. oxysporum*) DEL MANGO. Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Guadalajara, Jalisco. 1999. p. 248.

- Mortensen, D.A. y H.D. Coble.** 1991. Two approaches to Weed Control Decision aid Software Weed technology 5: 445-452.
- Nobel, P. S.** 1994. Remarkable Agaves and Cacti. Oxford University Press. New York. 116 p.
- Núñez-Cabrera.** 1999. Efecto de extractos de composta de cobre, y azufre contra el desarrollo del tizón temprano (*Alternaria solani*), Tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en tomate y Mildiu del pepino (*Pseudoperonospora cubensis*) en Culiacán, Sinaloa. XXVI Congreso de la SOCIEDAD Mexicana de Fitopatología y X Congreso Latinoamericano de Fitopatología. p. 319
- Núñez-Cebreros, R. D.** 2000 ----- Uso de extractos vegetales para el control de enfermedades foliares del tomate y pepino en Culiacán, Sinaloa. XXVII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, A. C. Y XII Bienal Workshop on the smut fungi. p. L-69.
- Núñez, R. D. Cebreros y Adrián Angulo Bojorquez.** Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Apdo. Postal 726, Culiacán, Sinaloa CP 80000. EFECTO DE EXTRACTOS VEGETALES, EXTRACTOS DE COMPOSTA, COBRE Y AZUFRE CONTRA EL DESARROLLO DEL TIZON TEMPRANO (*Alternaria solani*), TIZON TARDIO (*Phytophthora infestans*) EN TOMATE Y MILDIO DEL PEPINO (*Pseudoperonospora cubensis*) EN CULIACAN, SINALOA.
- Parker, J.** 1992. Disease and plant population genetic structure. In: Fritz, R.S. and Simms, E.L. Plant resistance hervivores and pathogens. Ecology, Evolution and Genetics. Univ. of Chicago Press. 345-362.
- Pérez, S.P.** 1980. Problemas fitosanitarios del maguey pulquero en la mesa central de México. Revista Chapingo No. 23-24 Chapingo, México.
- Pérez-Becerra, R.** 1996. Efecto insecticida en *Culex quinquefasciatus* (Say) de extractos y fracciones de *Meliaceae*. Tesis Profesional U de G.. p. 27.
- Pimienta, B.E.** 1984. Estimación del tamaño de muestra para levantamientos ecológicos de maleza en huertos de mango. Memorias del VI congreso Nacional de la Ciencia de la maleza. Tapachula, Chis.
- Rodríguez-Botero, H. R.** 1999. actividad DE extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de *Fusarium oxysporum* f. Sp. Dianita, *Alternaria solani* y *Rhizoctonia solani*. XXVI Congreso de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Resumen 139.
- Rodríguez-Botero, H.R., Torres. E. y Sanabria-Galindo. A.** Universidad Nacional de Colombia. Fac. de Agronomía y Facultad de Ciencias. Apdo. Aéreo 14490, Santafe de Bogota, Colombia. Fax 57-1-3165146. Email: raulbotero@yahoo.com. ACTIVIDAD DE EXTRACTOS VEGETALES COBRE EL CRECIMIENTO in vitro DE *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, *Alternaria solani* y *Rhizoctonia solani*. Congreso Latinoamericano de Fitopatología. 1999. p. 139.
- Rey David Núñez Cebreros y Adrián Angulo Bojorquez.** Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Apdo. Postal 726, Culiacán, Sinaloa CP 80000. EFECTO DE EXTRACTOS VEGETALES, EXTRACTOS DE COMPOSTA, COBRE Y AZUFRE CONTRA EL DESARROLLO DEL TIZON TEMPRANO (*Alternaria solani*), TIZON TARDIO (*Phytophthora infestans*)

EN TOMATE Y MILDIÚ DEL PEPINO (*Pseudoperonospora cubensis*) EN CULIACAN, SINALOA.

- Salinas**, L. Aidee Orozco, Fabiola Virgen, Cinthia Quiroz, Antonio Mújica, Celia Beltrán, Miriam De Santiago, Javier González, Tetsuya Ogura, Cecilia Vélez, Adriana Ramírez, Enrique Legorreta, Luis Sofchii, Francisco Flores. Estudio de la marchitez, en plantas de *Agave tequilana* L. Weber Cultivadas en macetas 1999 ., Universidad Autónoma de Guadalajara, Av. Patria 1201, Col. Lomas del Valle, Guadalajara, Jal. , Consultoria Regional del Agave S.A. E-mail: togura uagunix.gdl.uag.mx . Congreso Latinoamericano de Fitopatología. 1999. Guadalajara Jalisco, México. Resumen 44.
- Sarukhán**, J. 1995. Diversidad biológica. Universidad de México. 536: 3-10.
- Serrano**, Z. 1979. Cultivo de hortalizas en invernaderos. Ed. Aedos. Barcelona.
- Serrano**, Z. 1996. Veinte cultivos de hortalizas en invernadero. Ed. Zoilo Serrano Cermeño. Sevilla. 638 pp.
- Swain** T. 1978 Plant-animal coevolution; asynoptic view of the Paleozoic and mezozoic. In: Harbone, J. B. (ed) Biochemical aspects of plant and animal coevolution. Academic press London 3-19.
- Toledo**, V. M. 1994. La diversidad biológica de México. Nuevos retos para la investigación en los noventas. Ciencias (UNAM) 34: 43-59.
- Valenzuela** , A.G. 1994. El agave tequilero: su cultivo e industrialización. Editorial Ágata. 119p.
- Valenzuela**, Z. A. G. 1997. El agave tequilero; su cultivo e industria. Editorial Litteris, Segunda edición, p. 204.
- Vélez**, G.C., A.P. Álvarez del la C.Y. B. Rodríguez. G.1996. Aislamiento de *Erwinia* del grupo Carotovora como patógeno del *agave tequilana*. Resumen XXIII Cong. Nal., Fitopatología, Guadalajara, Jal. México.
- Villalvazo**, R.A.S. 1986. El cultivo del Mezcal (*Agave Tequilana* L. Weber) en la región de Tequila, Jalisco. departamento de fitotecnia. Universidad Autónoma de Chapingo, México.
- Venezuela** 1967. Servicio Shell para el agricultor. Serie A (29). Cambures 1:58.
- Wéller** y Tomas show, 1990. Biocontrol
- Wierenga**, J M. Whalon M. E. Mare diak. And Hollintongwort, R. 1994. Global Pest Resistacs. Volume 1. Eight IUPAC International Congress of Pesticide Chemistr y Washington, D. C. p. 412.
- Wilson**, C. L. and Wesnieueski, M. E. 1992. Future alterna tines to senttetic fungicides for control of postharvet disease. In: E. S. Tjamos et al. (ed). Biological control of plant disease 133- 138
- Zaccheo**, A. 1990. Growth of *Erwinia amylovora* on extracts of susceptible Rosaceae. Acta Horticulturae N° 273, 339-341.