

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

**EFFECTO DE SIETE ESPECIES DE PLANTAS MEDICINALES SOBRE EL
CRECIMIENTO DE HONGOS DE IMPORTANCIA PARA LA INOCUIDAD
ALIMENTARIA**

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

SOFÍA DEL CARMEN VALDEZ MARTÍNEZ

DIRIGIDA POR

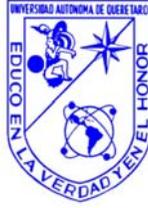
M. en C. KRUSKAIA KARENIA CALTZONTZIN FERNÁNDEZ

CAMPUS JURIQUILLA

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QRO. 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES



**EFFECTO DE SIETE ESPECIES DE PLANTAS MEDICINALES SOBRE EL
CRECIMIENTO DE HONGOS DE IMPORTANCIA PARA LA INOCUIDAD**

ALIMENTARIA

TESIS

**QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

PRESENTA

SOFÍA DEL CARMEN VALDEZ MARTÍNEZ

DIRIGIDA POR

M. en C. KRUSKAIA KARENIA CALTZONTZIN FERNÁNDEZ

CAMPUS JURIQUILLA

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QRO. 2014



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

Efecto de siete especies de plantas medicinales sobre el crecimiento de hongos de importancia para la inocuidad alimentaria

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el título de
Licenciado en biología

Presenta

Sofía del Carmen Valdez Martínez

Dirigida por

M. en C. Kruskaia Karenia Caltzontzin Fernández

Campus Juriquilla

Santiago de Querétaro, Qro. 2014

SINODALES

M. en C. Kruskaia Karenia Caltzontzin Fernández

Presidente

Firma

Dra. Ludmila Elisa Guzmán Pantoja

Secretario

Firma

Dr. Santiago Vergara Pineda

Vocal

Firma

Dra. Emma Fabiola Magallán Hernández

Suplente

Firma

RESUMEN

Dentro de los agentes fitopatógenos los hongos son organismos significativamente destructivos que merman en gran medida la producción agrícola. En la agricultura moderna se busca obtener un máximo beneficio reduciendo costos y utilizando productos poco residuales que causen menor daño al ambiente, una buena opción es el uso de productos botánicos que tienen importantes propiedades antimicrobianas que pueden inhibir o disminuir el crecimiento de hongos fitopatógenos.

En este trabajo se evaluó el efecto de siete especies de plantas medicinales en la germinación de *Apergillus parasiticus*, *A. ochraceus*, *Fusarium oxysporum* KFM-02 y *F. oxysporum* F-60095, al obtener el promedio entre los conidios germinados en los cultivos con y sin decocción de la planta, a las 48 horas creciendo en agar Sabourod a una temperatura de 28 °C. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza de “Fisher” y prueba de medias de Tukey ($p < 0.05$), lo cual demuestra que *Adenophyllum cancellatum*, *Argemone ochroleuca* y *Nicotiana glauca* causaron inhibición significativa en la germinación del hongo *A. ochraceus*, a diferencia de *E. japonica* que estimuló la germinación de éste. Es necesario llevar a cabo estudios que complementen estos resultados y conocer los compuestos responsables del efecto fungicida o estimulador, ya que pueden emplearse para otro tipo de estudio básico o ecológico.

Palabras clave: hongos fitopatógenos, plantas medicinales, actividad antifúngica, decocción, *in vitro*.

SUMMARY

In the field of plant pathogens, fungi are important destructive organisms that largely reduce agricultural production. Modern agriculture seeks to maximize profits by reducing costs and using non-toxic products that cause less damage to the environment, a good option is the use of botanical products which have antimicrobial properties that may inhibit the growth of phytopathogenic fungi.

In this work the effects of seven species of medicinal plants were evaluated in the germination of *Aspergillus parasiticus*, *A. ochraceus*, *Fusarium oxysporum* KFM-02 and *F. oxysporum* F-60095, by obtaining after growth in 48 hours on agar Sabourod® at 28 °C temperature, the average of germinated conidia in cultures with and without decoction plant. The data obtained was subjected to analysis of variance "Fisher" and Tukey test ($p < 0.05$), demonstrating that *Adenophyllum cancellatum*, *Argemone ochroleuca* and *Nicotiana glauca* caused significant inhibition in the germination of the fungus *E. japonica*, unlike *Argemone ochroleuca* that stimulated its germination. It is necessary to conduct studies that may complement these results and obtain knowledge of the compounds responsible for the fungicide stimulatory effect for they could be used in another basic or ecological study.

Keywords: phytopathogenic fungi, medicinal plants, antifungal activity, decoction, *in vitro*.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a las personas que me acompañaron y apoyaron en este importante proceso académico. Quiero comenzar, por supuesto, con mis padres dándoles mi más enorme agradecimiento, por ejemplo de vida y todo el apoyo que de una u otra forma siempre me han dado.

A mis hermanos por su ejemplo de trabajo y el apoyo que sé tengo en ellos; Armando, Bety, Vero, Isa, Rene, Alfredo, Cris, Alba, Susy, Faty y Estela. A mi hijita por su paciencia y cariño.

A quienes me apoyaron económicamente y por su puesto moralmente; a Susy que me apoyo en la preparatoria, a Alba y Victor quienes al inicio de la licenciatura fueron un enorme apoyo, mi querida hermana Faty por salvarme en más de una ocasión con la reinscripción, y a mi hermana Cris que también estuvo ahí para sacarme de algún apuro.

Agradezco al M. en C. Arquimiro Anguiano M. por su valioso apoyo en estos últimos años, por su amistad y por cada consejo. Al Instituto Comunitario para la Sustentabilidad Ambiental A.C., que sin duda fueron un fundamental apoyo en la recta final este proceso.

Agradezco a mis compañeros y amigos de la licenciatura que permitieron hacer de esa etapa la más divertida, con múltiples historias que recordar que sin duda siempre las extrañaré. Desde primer semestre, esa buena banda...Ely, La Reyna, Phany, David, Christopher, Frodo y Fito. Los siguientes semestres la grata compañía de Abril, Mary Cruz, Diana, Janet e Isa a los chicos siempre divertidos Nica, Andrés, Campaña, Alex y las chicas

Michelle, Julieta y Paulina. Y un especial agradecimiento a mi querida amiga Paty por siempre estar dispuesta a apoyarme en todo momento.

Agradezco a la Universidad Autónoma de Querétaro y a los maestros que me dieron clase. A la M. en C. Kruskaia por permitirme trabajar con ella, el conocimiento ofrecido y el tiempo dedicado en la elaboración de este trabajo de tesis, a la Dra. Ludmila por el importante apoyo en la revisión y aportaciones a este trabajo, a la Dra. Fabiola por su revisión y recomendaciones, y al Dr. Santiago por su revisión y comentarios.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	10
II. ANTECEDENTES	12
1. Problemas ambientales en el control de plagas agrícolas	13
2. Importancia de los hongos fitopatógenos en la producción agrícola	15
3. Control agrícola de los hongos fitopatógenos	17
4. Plantas medicinales como alternativa para el control de hongos fitopatógenos	19
III. HIPÓTESIS	24
IV. OBJETIVOS	24
1. General	24
2. Particular	24
V. METODOLOGÍA	25
1. Pruebas experimentales	25
2. Obtención del material fúngico	25
3. Descripción de los hongos en estudio	25
4. Activación de las cepas	27
5. Recuperación y conteo de conidios	27
6. Elección de plantas evaluadas	28
7. Manejo del material vegetal	30
8. Obtención de infusión de plantas	30
9. Evaluación de la actividad antifúngica de las decocciones	31
10. Análisis de datos	32
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
1. Evaluación de la actividad antifúngica de las decocciones de <i>Argemone ochroleuca</i> , <i>Psittacanthus calyculatus</i> , <i>Adenophyllum cancellatum</i> , <i>Ricinus communis</i> , <i>Nicotiana glauca</i> , <i>Eriobotrya japonica</i> y <i>Mangifera indica</i>	33
1.1. Actividad sobre <i>Aspergillus parasiticus</i>	33
1.2. Actividad sobre <i>Aspergillus ochraceus</i>	36
1.3. Actividad sobre <i>Fusarium oxysporum</i> F-60095	38
1.4. Actividad sobre <i>Fusarium oxysporum</i> KFM-02	40
VII. CONCLUSIONES	43
VIII. REFERENCIAS	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Preparación de las decocciones y aplicación de los tratamientos	31
Figura 2.	a) Cultivo testigo de <i>A. parasiticus</i> , b) crecimiento del mismo hongo expuesto a la decocción de <i>P. calyculatus</i>	34
Figura 3.	Promedio de UFC de <i>A. parasiticus</i> germinadas a las 48 h a 28°C en agar Sabouraud	35
Figura 4.	a) Cultivo testigo de <i>A. ochraceus</i> , b) crecimiento del mismo hongo expuesto a la decocción de <i>P. calyculatus</i>	37
Figura 5.	Promedio de UFC de <i>A. ochraceus</i> germinadas a las 48 h a 28°C en agar Sabouraud	38
Figura 6	Promedio de UFC de <i>F. oxysporum</i> F-60095 germinadas a las 48 h a 28°C en agar Sabouraud	40
Figura 7.	Promedio de UFC de <i>F. oxysporum</i> KFM-02 germinadas a las 48 h a 28°C en agar Sabouraud	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Plantas evaluadas y sus propiedades medicinales y antipatógenas	29
Tabla 2.	Órgano de las plantas usado y justificación	30
Tabla 3.	Tiempo de ebullición usado para cada especie	31
Tabla 4.	Resumen del efecto de las decocciones en los hongos fitopatógenos	41

I. INTRODUCCIÓN

La agricultura impulsa la economía de la mayoría de los países en desarrollo, aunque la agricultura como forma de vida, patrimonio, identidad cultural, pacto ancestral con la naturaleza, no tiene un valor monetario (FAO, 2005). Actualmente la producción de alimentos enfrenta el reto de mantener un significativo nivel de calidad y producción, considerando aspectos de inocuidad alimentaria y sistemas de producción con retribución más justa para los productores (García y González, 2010).

El desarrollo de la agricultura en México ha sido afectado, entre otras circunstancias por enfermedades que dañan a diversos cultivos (Agrios, 2008), siendo uno de los agentes principales los hongos que se hospedan en las plantas para satisfacer sus demandas nutricionales (Tenorio, 2010). A nivel mundial los hongos fitopatógenos originan pérdidas multimillonarias anualmente en la industria agroalimentaria (Rodríguez, 2001).

En el país el control de enfermedades fúngicas se caracteriza por el desmedido uso de fungicidas, que representa cerca de un 40% de los costos de producción. Estos productos tienen clara incidencia en lo económico, social y ambiental (Martínez *et al.*, 2005). En el último siglo el uso inadecuado de productos químicos sintéticos, como plaguicidas, han afectado indirectamente a animales y en forma directa a las personas (Tenorio, 2010) y aunque las plantas tiene su propia defensa contra plagas y enfermedades estos productos continúan siendo la base más importante para favorecer el rendimiento de los cultivos (Bernal, 2005), la mejora de las variedades desde el punto de vista del rendimiento y la calidad de la cosecha se ha logrado paralelamente a una disminución en la resistencia a diversas circunstancias adversas como las enfermedades. En la actualidad la agricultura

busca obtener un máximo beneficio reduciendo costos y utilizando productos poco residuales que causen el menor efecto al ambiente, por lo que se han estado llevando a cabo investigaciones que demuestran el efecto de productos biológicos sobre los agentes fitopatógenos.

De esta forma la investigación fitosanitaria ha tomado rumbos distintos en la búsqueda de alternativas, y una fuente ha sido los metabolitos secundarios de las plantas, para ello se han realizado evaluaciones de algunas especies utilizadas principalmente en la cultura tradicional como plantas medicinales, y es que desde épocas muy antiguas las plantas han sido utilizadas para el tratamiento de enfermedades fúngicas y bacterianas (Juárez, 2008) lo que proporciona bases para investigar y obtener evidencias de las propiedades tóxicas de estas mismas plantas contra hongos fitopatógenos.

Entre los hongos de importancia fitosanitaria se ha descrito al género *Fusarium* y *Aspergillus*, los cuales causan grandes pérdidas en los productos agrícolas y en muchos casos el control químico resulta ineficiente, además de contaminante. En el presente estudio, con el objetivo de ampliar la expectativa de alternativas de control botánico de hongos fitopatógenos, se evaluó el efecto de siete especies de plantas medicinales sobre el crecimiento *in vitro* de tres especies de hongos fitopatógenos de importancia agroalimentaria: *Fusarium oxysporum* Schldl., *Aspergillus parasiticus* Speare. y *Aspergillus ochraceus* Wilhelm.

II. ANTECEDENTES

Hace más de 10,000 años se establecieron las primeras civilizaciones y el hombre cambió su vida nómada y recolectora por sedentaria, caracterizada por la domesticación de plantas y animales, lo que propició el inicio de la actividad agrícola como estrategia de vital importancia (Ferrera, 2006). Ahora más de 7,000 millones de personas dependen del alimento que se cultiva en el 12 % de la superficie del planeta. Una estimación sugiere que en el año 2030 habrá 8,300 millones de personas en el planeta, por lo que los agricultores deberán producir al menos 30% más de granos (Mann, 2008), así la agricultura actual se enfrenta al reto de producir más alimentos a fin de alimentar a una población creciente (Igarzábal, 2009). El reto es aún mayor pues desde el comienzo del cultivo de plantas se han realizado una serie de actividades que han causado, paulatinamente, alteraciones y daños al suelo, agua, aire, flora y fauna (Ferrera, 2006). Ésta intervención inadecuada en los ecosistemas naturales y el desequilibrio ecológico ha propiciado la presencia de plagas y enfermedades agrícolas (Vázquez, 2006) que merman la producción.

Las plagas son definidas como aquellos organismos cuya población ha superado el umbral económico (Vázquez, 2010), aunque en la naturaleza no existen plagas, es decir, ningún organismo es plaga *per se*, el concepto de plaga es artificial. Un organismo se convierte en plaga cuando aumenta su densidad de tal manera que causa una pérdida económica al ser humano (Brechelt, 2004). En la agricultura moderna la aparición de estas se ha intensificado debido a la implementación de monocultivos a gran escala con base en grupos minoritarios de variedades comerciales, presentándose un alto grado de uniformidad genética que ha generado plagas resistentes y especializadas en la diversidad de plantas cultivadas (Ceccon, 2008).

1. Problemas ambientales en el control de plagas agrícolas

Debido al crecimiento de la población mundial y por consecuencia, el aumento de la demanda de productos alimenticios surge la revolución verde durante las décadas de los años 50's y 60's, basado en el cultivo intensivo mediante la utilización de tecnologías de mecanización, riego, fertilizantes químicos, plaguicidas y bioingeniería genética (Segrelles, 2005), con la única prioridad de aumentar la cantidad de alimentos (Brechelt, 2004). En este sentido, la agricultura ha logrado grandes éxitos en el desempeño de su papel primario, la producción de alimentos, pero ha sido a un elevado costo macroeconómico, ambiental y social (Ceccon, 2008).

El uso de plaguicidas químicos como insecticidas, bactericidas y fungicidas continua siendo la principal forma de combatir las enfermedades de los cultivos y aumentar el rendimiento de los mismos, y dada su aplicación masiva y a veces indiscriminada ha incrementado la población de organismos fitopatógenos resistentes, generando mayor dependencia de los agricultores a estos productos, y con ello aumento en los costos de producción (Bernal, 2005; Tenorio, 2010), además de fuertes daños al ambiente como aumento en las emisiones de gases de efecto invernadero, contaminación de los sistemas biológicos, degradación de suelo y contaminación del agua lo que a su vez impone nuevas limitaciones al propio crecimiento de la producción agrícola (Brechelt, 2004; FAO, 2012).

Se estima que sólo 0.1 por ciento de la cantidad de plaguicidas aplicado llega a la plaga mientras que el resto circula por el medio ambiente (Torres, 2004) acumulándose en los suelos desplazándose por la superficie terrestre o arrastrados por el agua y el viento causando contaminación y toxicidad para todas las formas de vida debido a la baja

biodegradabilidad de estos compuestos (Orta, 2002; Céspedes y Alarcón, 2011). Torres (2004) cita diversos trabajos sobre las consecuencias que el uso de éstos ha generado en el ambiente y la salud humana. Dentro de problemas graves a la salud se ha detectado leucemia y malformaciones congénitas, principalmente en personas que están expuestas directamente a estos productos. Los riesgos continúan pues los plaguicidas pueden permanecer como residuos tóxicos en los productos agrícolas como frutas y hortalizas, incluso después de ser lavadas, almacenadas y procesadas (Cervera *et al.*, 2010).

El desarrollo de los agroquímicos ha evolucionado prohibiendo el uso de algunos plaguicidas debido a sus efectos tóxicos, aprobando el uso de plaguicidas de formulaciones modernas (Orta, 2002), hoy en día en la mayoría de países desarrollados hay establecidos programas de control de residuos de plaguicidas (RPs), en productos nacionales como importados, sin embargo debido al alto número de plaguicidas sintéticos aplicados en la agricultura a nivel mundial, no en todos los países están establecidos estos programas (Garrido, 2014).

Dentro de las prácticas modernas para el control de diversas plagas, especialmente hongos fitopatógenos, se encuentra el uso de metabolitos secundarios biosintetizados por especies vegetales, hongos y bacterias tanto terrestres como marinas, así como productos biodegradables, los cuales proporcionan nuevas fuentes de control, que han demostrado tener actividades tóxicas que afectan el desarrollo y el metabolismo energético de los organismos fitopatógenos (Céspedes y Alarcón, 2011), este efecto es aprovechado como biocontrol para la regulación, tanto de patógenos cuyo hábitat es el suelo, como aquellos que se desarrollan en la parte foliar de las plantas (Infante, 2009).

2. Importancia de los hongos fitopatógenos en la producción agrícola

Los hongos son los organismos que más enfermedades ocasionan y que dañan a los cultivos y a las cosechas de hortalizas, cereales y frutas, por lo que representan la principal preocupación en la producción agrícola (Vázquez, 2010; Juárez, 2010), las pérdidas en el país pueden alcanzar hasta el 50% de la producción, los daños que ocasionan no sólo se refiere a las pérdidas económicas, sino también a las pérdidas en la producción biológica, es decir a la alteración que existe en el crecimiento y desarrollo de las plantas hospederas (Ibarra *et al.*, 2006) afectando el valor nutritivo, las características organolépticas y la vida útil (Agrios, 2008).

Se sabe que más de 8,000 especies de hongos pueden causar enfermedades en las plantas y son por lo general las más destructivas, además de que una sola especie puede infectar a decenas de especies vegetales distintas (Agrios, 2008). Los hongos proliferan a través de la dispersión de sus estructuras reproductivas, como lo son los esclerocios y las esporas, las esporas se diseminan fácilmente por medios mecánicos, como el viento y el agua, por contaminación cruzada, entre macetas con suelo contaminado y entre plantas vecinas, o estructuras de éstas (Urbina, 2011), por lo que la presencia de hongos se da tanto en el campo como en poscosecha, siendo los géneros más comunes *Alternaria*, *Botrytis*, *Diplodia*, *Monilinia*, *Penicillium*, *Colletotrichum*, *Phomopsis*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Rhizopus* y *Mucor* (Bolívar, 2007).

La presencia de las especies fúngicas difiere según la planta hospedera, clima, región geográfica y manejo agrícola, pero cualquiera que sea el momento biológico en el que la planta sea infectada los daños son en muchos casos irreversibles, llevando al debilitamiento

y muerte de la planta (Carrillo, 2003; Agrios, 2008). Dentro de los síntomas de infección, la planta puede presentar manchas cloróticas y necróticas, cribados, canchales, tizones, podredumbres húmedas o secas, momias, agallas, hundimientos, costras, ahogamientos, marchitamientos y pústulas según sea el agente etiológico (Urbina, 2011). Los efectos negativos de las enfermedades sobre el rendimiento y la calidad de los cultivos se han incrementado considerablemente, debido a la poca variabilidad genética que en la agricultura moderna existe, hace dos siglos se cultivaban 300 especies de plantas, en la actualidad, una familia se alimenta en promedio de 30 plantas, lo que representa el 95% de nuestro potencial nutritivo en cualquier parte del mundo (Ceccon, 2008).

Los hongos además de los daños directos causados a los productos agrícolas, producen micotoxinas, que son metabolitos secundarios que suelen ser muy tóxicos y alérgicos, tanto para el hombre como para los animales (Aton y Lizaso, 2001; Carrillo, 2003), principalmente patógenos de cereales, frutos secos y frutas. Se pueden encontrar en una gran variedad de productos agrícolas, y son los contaminantes naturales de los alimentos más extensos a nivel mundial (Raquena *et al.*, 2005). Su consumo podría causar mutaciones (mutágenos), cáncer (cancerígenos), malformaciones en fetos (teratógenos) y disminución del sistema inmune (Méndez y Moreno, 2009), además llegan a afectar sistemas específicos del organismo, como al hígado (hepatotóxicos) o a los riñones (nefrotóxicos), alterando los procesos metabólicos (Espíndola, 2006). Las toxinas más comunes son aflatoxinas (B1, B2, G1, G2 M1), ocratoxinas, zearalenona, tricotecenas (vomitoxina, T-2, nivalenol, DON), citrinina, patulina y fumosinas (B1 y B2) (Antón y Lizaso, 2001), de acuerdo a Carrillo (2003) las principales especies productoras son *Pithomyces chartarum*, *Aspergillus flavus*, *A. nonius*, *A. parasiticus*, *Penicillium* spp. y *Byssochlamys* spp.

3. Control agrícola de hongos fitopatógenos

En el control de los organismos fitopatógenos se han desarrollado prácticas culturales, control biológico y control químico, siendo este último, el más utilizado por ser ampliamente disponible y eficaz en comparación con otros métodos. Su actividad fungitóxica: fungistática o fungicida, depende tanto de su composición molecular como de la estructura celular del hongo, mientras que su acción inhibitoria depende de la concentración utilizada (Rubio, 2008).

El control químico contra hongos fitopatógenos ha evolucionado desde hace cerca de 200 años, cuando se intentaba proteger los viñedos del ataque de la *Plasmopara viticola* con aplicaciones de sulfato de cobre en 1833 (Agrios, 2008), desde entonces son usados extensamente para protección de los alimentos agrícolas durante su cultivo, manejo, almacenamiento y transportación, estos fungicidas actúan sobre un sitio o unos pocos sitios específicos en el metabolismo de los hongos inhibiendo por lo general el crecimiento micelial o su esporulación (Mondino, 2001) o bien actúan como activadores de mecanismos de defensa de las plantas (Igarzábal, 2009). Pero tal como ha sucedido con la mayoría de los plaguicidas, el uso inadecuado de fungicidas ha ocasionado el desarrollo de resistencia en las poblaciones tratadas, fenómeno que ha tenido graves repercusiones económicas tanto para los agricultores, como para los consumidores, además de problemas ambientales (Rubio, 2008).

Debido a los resultados negativos del uso desmedido de estos plaguicidas, los fabricantes de insumos agroquímico y los organismos internacionales han buscado diversas alternativas (Rubio, 2008), la Organización de las Naciones Unida para la Alimentación y la

Agricultura (FAO) ha optado por fomentar el Manejo Integrado de Plagas (MIP), que tiene como objetivo minimizar el uso de productos químicos sintéticos y dar prioridad a medidas biológicas, fitomejoramiento y técnicas culturales (Brechelt, 2004).

Dentro del sistema de MIP de hongos las medidas biológicas han desempeñado un papel primordial debido a que contribuye a la atenuación de los daños que causan los fitopatógenos mediante el empleo de microorganismos como bacterias, virus y hongos (Infante *et al.*, 2009; Izzeddin y Medina, 2011), que ejercen distintos modos de acción como la producción de antibióticos y otros metabolitos secundarios (Dávila, 2013) que afectan el desarrollo y el metabolismo energético de los agentes etiológicos. Dentro de estos organismos antagonicos más usados está *Trichoderma*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Actinomyces* (Infante, 2009; Dávila, 2013). Productos a base del género *Trichoderma*, uno de los organismos más reconocidos en el mercado, se emplean para el control de *Rhizoctonia*, *Mucor*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, entre otros (Cruzat y Ionannidis, 2008; Guédez *et al.*, 2009).

Aunque existen notables éxitos con este método, el control biológico afecta a distintos huéspedes, produciendo importantes problemas ecológicos (Céspedes y Alarcón, 2011). Debido a esto y la diversidad de organismos patógenos muchos de ellos resistentes, es necesario continuar con la búsqueda de alternativas de control y la aplicación integral de éstas, lo cual ayudará a postergar la presencia de efectos negativos mencionados anteriormente (Céspedes y Alarcón, 2011; Díaz, 2011). Una alternativa se ha encontrado en las propiedades de las plantas y sus derivados, como son los metabolitos secundarios dada

su actividad biológica específica y ser de carácter inocuo, *a priori* al ambiente (Bernal *et al.*, 2005).

4. Plantas medicinales como alternativa para el control de hongos fitopatógenos

Las plantas han sido capaces de protegerse de las plagas por sí mismas antes de que el hombre intentara protegerlas. Se conoce que dentro de su estructura de defensa se encuentran los compuestos *constitutivos* y los *inducidos*. Los primeros se refieren a las barreras físicas, lignificación, suberización y formación de celulosa donde existen sustancias químicas en las estructuras que a su vez sirven de defensa; y los compuestos inducidos (fitoalexinas) que son metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas, activadas comúnmente en presencia de un patógeno, los cuales además de los patógenos afecta, a los consumidores de las plantas y sus enemigos naturales. Sin embargo no existe una separación estricta desde el punto de vista químico entre metabolitos constitutivos y fitoalexinas (Montes, 2009).

Ésta gran variedad de compuestos ha sido utilizada de manera empírica por el hombre desde tiempos muy remotos, se registra que el uso general de las plantas se remonta a 60,000 años, dadas las evidencias de restos arqueológicos en la cueva del hombre de Neanderthal. También hay pruebas de que las antiguas civilizaciones: chinos, sumerios, asirios, griegos y egipcios entre otras civilizaciones, usaban las propiedades medicinales de las plantas (Verastegui, 1995), los babilónicos hace 2,000 años a.C. usaban ya muchas plantas para restaurar su salud; entre ellas tenemos: la menta, el sen, el beleño, ajo, adormidera, cáñamo, etc. (López, 2012), aprovechando sus propiedades terapéuticas,

analgésicas, antiinflamatorias, antimicrobiológicas (Cruz, 2007). Probablemente las mismas propiedades activas que han sido efectivas en padecimientos en la salud humana y animales, han sido también efectivas en el control de plagas y enfermedades agrícolas, pues como ha sucedido en los pueblos indígenas, campesinos y agricultores que por siglos han hecho uso de especies vegetales, en el manejo de plagas y enfermedades de cultivos alimentarios (Martínez, 2005).

Durante muchos años las plantas han sido usado contra muchos padecimientos y a medida que se implementaron técnicas microbiológicas y fitoquímicas su estudio se volvió más profundo y serio, siendo hasta el siglo XIX y XX que se desarrollan estudios químicos de la composición de los productos naturales así como sus sustancias activas con fines principalmente en materia de la salud (Cruz, 2007). Con estos estudios fitoquímicos ahora se sabe que dentro de las sustancias activas se encuentran los aceites esenciales, alcaloides, glucósidos o heterósidos, mucílagos, gomas, terpenoides, fenoles, taninos, entre otros, que pueden combatir organismos patógenos tanto en humanos y otros animales como en plantas (Montes, 2009; López, 2012).

En las investigaciones de productos botánicos con actividad antifúngica en plantas cultivadas ha sido de cierta forma extensa, sin embargo se estima que en el mundo existen entre 310,000 y 422,000 especies de plantas (Pitman y Jorgensen, 2002), y tan solo para el año 2000 Harvey, calculó que menos del 10% de las plantas han sido evaluadas en la búsqueda de actividad biológica. Mendoza *et al.*, (2007) indica que la probabilidad de encontrar compuestos altamente activos contra hongos fitopatógenos es del 0.01 %, esto se debe a la actividad biológica específica de muchos productos secundarios y la única manera

de incrementar la posibilidad de éxito en la búsqueda de compuestos con actividad antifúngica potencial es evaluar la mayor cantidad de compuestos posibles en una amplia variedad de especies.

En las especies que han sido evaluadas en la búsqueda de compuestos antifúngicos se ha visto que los compuestos químicos en las plantas varían en cada especie y su acción antimicrobial contra hongos fitopatógenos, depende de su naturaleza y concentración de los mismos, actuando así de forma distinta en las especies de hongos, mostrando respuestas que van desde la estimulación biológica hasta su total inhibición (Montes *et al.*, 2000), un ejemplo es lo que sucede con *Amphipterygium adstringens* Schiede que inhibe a *Fusarium moniliforme* pero estimula a *Aspergillus flavus* (Montes *et al.*, 2000). De esta forma dada la diversidad de metabolitos secundario que las plantas contienen pueden responder no solo inhibiendo directamente al patógeno sino que puede también estimular el desarrollo fisiológico de la planta o activar mecanismos de defensa contra plagas y enfermedades (Kagale, 2004).

En México se estima que existen entre 23 mil y 30 mil especies de plantas (Toledo, 1994), y el uso de estas en la medicina tradicional es basta, siendo usadas por siglos para combatir múltiples enfermedades como son las infecciones microbianas. Probablemente estas mismas cualidades puedan ser útiles en el ataque de hongos fitopatógenos. Una de las plantas más estudiada contra hongos fitopatógenos es *Larrea tridentata* (DC.) Cav., que además es reconocida por sus propiedades medicinales antimicrobianas, se ha visto tiene efectos contra hongos que causan infecciones cutáneas, *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *Trichophyton tonsurans*, *Epidermophyton floccosum*, *Sporothrix schenckii*, entre otros

(Verastegui, 1995), y que ha sido reportada contra hongos fitopatógenos como *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*, *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae* (Vargas 1997; López 2005), de igual forma *Allium sativum* Mill. representa una de las especies con alto reconocimiento en el contenido de propiedades medicinales y que ha mostrado tener actividad antifúngica de amplio espectro (Montes, *et al.*, 2000).

Son pocos los estudios que reportan a las plantas medicinales como especies con actividad contra hongos fitopatógenos, sin embargo el conocimiento tradicional y científico con el que hasta ahora se cuenta representa una herramienta importante para pensar que estas mismas especies pueden contener importante potencial antifúngico contra hongos fitopatógenos. Díaz *et al.*, (2011) evaluaron 10 especies de plantas medicinales comunes en Uruguay contra *Alternaria* spp., observó que los extractos obtenidos de las semillas de *Salvia sclarea* L. y los extractos de hojas de *S. officinalis* L. y *Rosmarinus officinalis* L. mostraron importante actividad inhibitoria. Por otro lado especies de alto valor medicinales en México han demostrado ser inhibidoras de diferentes hongos fitopatógenos, tal es el caso de *Aloe vera* (L.) Burm. y *Lippia berlandieri* Schauer, entre otras, se ha visto que *Aloe vera* inhibe el crecimiento de *A. Flavus* (Babaei *et al.* 2014), y *Lippia berlandieri* es efectivo contra *A. niger*, *F. oxysporum* (Cáceres *et al.*, 2013). Son muchas las especies vegetales que falta por evaluar para el control de enfermedades fúngicas representadas por una gran cantidad de hongos fitopatógenos y que en las propiedades medicinales de las plantas pueden encontrarse alternativas potenciales para ser estudiadas.

Dentro de las enfermedades de importancia agrícola y difícil de erradicar están las causadas por hongos del género *Fusarium* y *Aspergillus*. El género *Aspergillus* es de rápido crecimiento y prolifera en múltiples sustratos (Saldarriaga *et al.*, 2005), causando pérdidas agrícolas importantes, además de ser considerado como una especie de alta toxigenicidad (Carrillo, 2003). Dentro de las especies de importancia agrícola se encuentra *A. ochraceus* y *A. parasiticus*, este último Jong (2010) indica que *A. sativum* inhibe su crecimiento.

Por otro lado una de las especies de mayor representación del género *Fusarium* es *F. oxysporum* siendo uno de los patógenos más resistentes a fungicidas tanto químicos como biológicos, de igual forma pocas son los extractos vegetales que resultan efectivos para su control, y en la mayoría de las ocasiones la concentración mínima inhibitoria necesaria suele ser alta, Bernal (2005) experimento con tres especies del género *Lupinus*, al cual se le atribuyen importantes propiedades microbianas, probando distintas concentraciones encontró que sólo *L. exaltatus* mostró inhibición significativa con la concentración más alta probada, 20,000 ppm, a diferencia de la respuesta presentada por *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Alternaria solani* que mostraron inhibición significativa con 2,500 ppm.

III. HIPÓTESIS

El producto obtenido por decocción de especies de plantas medicinales con actividad antibacteriana, tiene efecto inhibitorio en los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* KFM-02 y *Fusarium oxysporum* F-60095, *Aspergillus parasiticus* y *A. ochraceus*.

IV. OBJETIVOS

1. General

Evaluar el efecto inhibitorio del producto obtenido por decocción de siete especies de plantas con propiedades medicinales sobre la germinación de esporas de *Fusarium oxysporum* KFM-02, *F. oxysporum* F-60095, *Aspergillus parasiticus* y *A. ochraceus*.

2. Particular

Evaluar el efecto de las decocciones de *Nicotiana glauca* Graham, *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl., *Mangifera indica* L., *Ricinus communis* L., *Psittacanthus calyculatus* (DC.) G. Don, *Argemone ochroleuca* Sweet y *Adenophyllum cancellatum* Cass. Villareal, de manera individual, sobre la germinación de hongos fitopatógenos.

V. METODOLOGÍA

1. Pruebas Experimentales

Se probó la decocción de siete especies de plantas con propiedades medicinales antimicrobianas contra tres especies de hongos fitopatógenos *Aspergillus ochraceus*, *A. parasiticus*, *Fusarium oxysporum* KFM02 y *F. oxysporum* F-60095.

2. Obtención del material fúngico

Se probaron las especies de hongos *Aspergillus ochraceus*, *A. parasiticus* y dos cepas de la especie *Fusarium oxysporum*, estas fueron KFM02 y F-60095. La especie *A. ochraceus* fue obtenido de material axénico e identificado previamente, en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro Campus Juriquilla, mediante preparaciones al microscopio óptico y reconocimiento de estructuras típicas del hongo. Mientras que la especie *A. parasiticus* y las cepas de *F. oxysporum* KFM02, aislada del Agave y *F. oxysporum* F-60095 aislada del jitomate, fueron donadas por el laboratorio de micotóxicas del CINVESTAV Unidad Irapuato, adquiridas de la American Type Culture Collection (ATCC).

3. Descripción de los hongos en estudio

Aspergillus ochraceus: patógeno oportunista distribuido como contaminante natural de cereales, legumbres y otros alimentos. *A. ochraceus* recibe su nombre por el color ocre de las colonias que forma. Su hábitat natural es en vegetación seca, semillas y frutos. Ha sido frecuentemente aislado sobre granos de café, cereales y diferentes vegetales almacenados, y en climas cálidos y tropicales. *A. ochraceus* produce ocratoxinas que en el humano se ha observado que causa daños hepáticos, esplénicos, cardíacos, cerebrales,

óseos pero principalmente nefróticos (Naccha L. *et al.*, 2005.). La fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria (2013) reporta que puede formarse tanto en el cultivo del alimento en campo, principalmente cereales (trigo, maíz, cebada y arroz), como durante la recolección, transporte, almacenamiento y secado por inadecuadas prácticas de higiene y manipulación de los cereales.

Aspergillus parasiticus: es un patógeno de productos agrícolas como el maíz, algodón, cacahuete y nueces de árbol, y produce aflatoxinas (Chang, 2008). Crece generalmente en el suelo, donde se encuentra vegetación, heno, granos, deteriorados e invadidos por todo tipo de sustratos orgánicos, mientras las condiciones ambientales sean favorables para su crecimiento, que incluyen alta humedad y alta temperatura, en general *Aspergillus* es de rápido crecimiento y prolifera en múltiples sustratos (Saldarriaga *et al.*, 2005), causando altas pérdidas en los cultivos y contaminando los alimentos agrícolas con aflatoxinas consideradas como las de mayor toxigenicidad. Las aflatoxinas son absorbidas por las células intestinales dañando riñones, hígado además de atacar el sistema inmunológico y provocando con ello aumento en la susceptibilidad a enfermedades infecciosas, además de ser carcinógenas (Carrillo, 2003).

Fusarium oxysporum: Es una de las especies de hongos de mayor importancia, desde el punto de vista patógeno viviendo en el suelo labrado y se conserva en él, por lo general, bajo la forma de clamidospora (espora de resistencia) (Missiaen y Lanfon, 1967). Diferentes plantas hospederas son atacadas por formas especiales o razas del hongo (Agrios, 2008) sin posibilidad de diferenciarlas entre ella por el examen de esporas o de los micelios (Missiaen y Lanfon, 1967) únicamente por análisis moleculares (Garcés, 2001).

Este hongo provoca la pudrición de la raíz de muchas plantas anuales, así mismo la canchrosis de árboles frutales, marchitez vascular principalmente en flores y hortalizas anuales, plantas herbáceas perennes de ornato, de cultivo, maleza (Agrios, 2008). De igual forma su clamidospora presenta una alta resistencia a la degradación química y microbiológica (Bernal *et al.*, 2005; Martínez *et al.*, 2005). Además se registra como patógeno en animales incluyendo al hombre produciendo afecciones oftálmicas, dérmicas y tóxicas (Martínez *et al.*, 2005).

4. Activación de las cepas

Las cepas de los hongos usados para los experimentos inicialmente estaban suspendidas en agua en frascos ámbar de 8 ml y refrigerados a 4°C. Para su activación se tomó 100 µL de la solución y fue sembrado en placas de Papa-Destroxa-Agar (PDA) e incubadas durante siete días a una temperatura de 28 °C.

5. Recuperación y conteo de conidios

Para conocer la concentración de conidios se hizo una suspensión de los mismos la cual consistió en colocar 20 ml de solución tritón al 0.01% al cultivo de hongo axénico, dejándolo reposar durante 10 min, al cabo de este tiempo se hizo un raspado del cultivo, el sobrenadante se depositó en tubos Falcon® de 50 ml, completando con 30 ml de agua destilada estéril, agitando la suspensión en un Vórtex. Con el objetivo de conocer la cantidad promedio de conidios presentes en cada mililitro de solución se contabilizaron los conidios. Para ello, con una pipeta Pasteur estéril se tomó una pequeña muestra, y se colocó en la cámara de NeuBauer, el cálculo permitió conocer la cantidad de conidios por mililitro.

Una vez conocida la concentración de conidios de cada uno de los hongos, se calculó el volumen necesario para obtener una concentración de 1×10^7 conidios por ml.

6. Elección de plantas evaluadas

Las especies de plantas evaluadas fueron elegidas por los reportes de actividad medicinal, en especial por su actividad antimicrobiana, dentro de las que se incluyen principalmente especies invasoras, estas especies fueron *Argemone ochroleuca* Sweet, *Psittacanthus calyculatus* (DC.) G. Don, *Adenophyllum cancellatum* Cass. Villareal, *Ricinus communis* L., *Nicotiana glauca* Graham, *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. y *Mangifera indica* L., en la tabla 1 se describen sus características.

Tabla 1. Plantas evaluadas y sus propiedades medicinales y antipatógenas.

ESPECIE	FAMILIA	ORIGEN	NOMBRE COMÚN	USO ETNOBOTÁNICO	ESTUDIOS FITOQUÍMICOS	ESTUDIOS ANTIPATÓGENAS
<i>P. calyculatus</i>	Loranthaceae	México	injerto o muérdago	Padecimientos cardiovasculares, antiparasítico, antihemorrágico, desinfectante cutáneo.	Aceites esenciales, alcaloides, cumarinas, antocianinas, saponinas, flavonoides y taninos (Juárez, 2008).	Extractos etanólicos de hojas tiene efecto inhibitorio sobre <i>Mycobacterium smegmatis</i> (Juárez, 2008)
<i>A. Ochroleuca</i>	Papaveraceae	México	Chicalote pálido, cardo	Asma, analgésico antiinflamatorio, calmante, manchas y carnosidades de los ojos; las flores como fomento para el sarna	Alcaloide isoquinolinico berberina (Reyes, 2011), látex: ftalato de dietilo 6-nitro-imidazol (1,2-a) compuesto de piridina, ciclohexasiloxano, dodecametil-(5,607 %), 4 - (2,2-dimetil-6-metilciclohexiliden)-3-metilbutan-2-ona (2,410%) y cycloheptasiloxane, tetradecamethyl- (Moustafa, et al., 2013)	Extracto metanólico de las hojas tienen efecto inhibitorio sobre <i>S. aureus</i> y <i>Cryptococcus neoformans</i> (Reyes, 2011), látex crudo contra <i>Drechslerahalodes</i> y <i>Candidasp.</i> (Moustafa, et al., 2013)
<i>R. communis</i>	Euphorbiaceae	África	Ricino, higuierilla	Tallo y hojas son usadas comúnmente como laxante, purgante, fungicidas, insecticida, entre beneficios externos. La semilla es tóxica, causa envenenamiento y tiene efecto antibacterial.	Flavonoides, saponinas, glucósidos, alcaloides y esteroides (Jena y Kumar, 2012), fenoles, terpenoides, Albúmina (ricina), (Arboleda et al., 2012), taninos, y azúcares reductores (Pérez, 2013)	Infusión de la hoja fresca sobre <i>Fusarium oxysporum</i> (Cáceres, 1996), <i>Colletrotrichum gloeosporides</i> (Hernández, 2004), <i>Mycosphaerella fijiensis</i> (Vargas et al., 2009), <i>Sclerotium rolfsii</i> y <i>Thielaviopsis basicola</i> (Alcalá et al., 2005)
<i>M. indica</i>	Anacardiaceae	India	Mango	Decocción de semillas contra parásitos intestinales, la corteza en infusión como laxante y febrífuga, hojas como antioxidante, antiacné, emoliente, amplio espectro antibacterial y fúngico.	En cascara y pulpa; Fenólicos como el ácido eláxico y el ácido tánico, manguiferina, flavonoides (Kim et al., 2010) En hoja; Aceites esenciales, galotaninos.	Hoja inhibe la esporulación de <i>C. gloeosporioides</i> (Bautista et al., 2002). <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomona saeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , y <i>Streptococcus pyogenes</i> (Kim et al., 2010).
<i>N. glauca</i>	Solanaceae	América (Sudamérica)	Hierba del zopilote, tabaquillo	Antirreumático, antiartrítico, lesiones en la piel, heridas infectadas, hemorroides, insecticida y antifúngico.	Málico y oxálico, N-metilnabesino, normicotina y la anabasina (en Carrere, 2007)	Se menciona contra <i>Alternaria solani</i> , <i>Fusarium</i> sp. y <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Colletrotrichum lindemuthianum</i> , <i>Uromyces phaseoli</i> , <i>Botrys cinerea</i> , <i>Sclerotinia clerotium</i> (en Carrere, 2007)
<i>E. japonica</i>	Rosaceae	China	Nispero	Diabetes, mal de orín, purifica la sangre, para arrojar cálculos biliares, antibacterial, relajante, bronquitis crónica, tos, flema, fiebre alta.	Terpenos, esteroides sesquiterpenlactonas, y metilesteroides, Taninos, flavonoides (Pamplona, 2003; Adame y Adame, 2000, Abdou et al., 2011),	El extracto de la hoja inhibe a <i>Escherichia coli</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i> (Abdou et al., 2011).
<i>A. cancellatum</i>	Asteraceae	México	Hierba del zorrillo, Cempasuchil	Afecciones de la piel, irritaciones, para lavar heridas, gripe, pulmonía.	Compuestos azufrados derivados del tiofeno (UNAM, 2009)	

7. Manejo del material vegetal

Se colectaron diferentes órganos de acuerdo a la plantas. El material vegetal se secó a la sombra para estabilizar sus propiedades químicas y fue almacenado a temperatura ambiente en bolsas de papel hasta su uso. La tabla 2 indica los órganos de la planta usada y su justificación.

Tabla 2. Órgano de las plantas usado y justificación de uso.

ESPECIE	ÓRGANO USADO	JUSTIFICACIÓN
<i>Argemone ochroleuca</i>	Flores	Por su uso tradicional contra parásitos <i>Sarcoptes scabiei</i> De Geer causante de la sarna.
<i>Psittacanthus calyculatus</i>	Flores	La planta completa es usada como antiparásitico
<i>Ricinus communis</i>	Fruto con semilla	Por la toxicidad de las semillas y fruto con actividad antimicrobiano
<i>Mangifera indica</i>	Hojas	Las hojas tienen efectos antifúngicos
<i>Nicotiana glauca</i>	Hojas	Debido a su uso medicinal antibacteriana en heridas
<i>Eriobotrya japonica</i>	Hojas	Debido a su contenido químico antibacterial.
<i>Adenophyllum cancellatum</i>	Flores	Por su actividad contra afecciones cutáneas.

8. Obtención de la decocción de las plantas

En un vaso de precipitado de 250 mL se agregaron 100 mL de agua destilada y se calentó hasta ebullición, se colocó por separado 1.5 g de material vegetal seco, dejándolas en ebullición por algunos minutos, en todo momento el vaso permaneció tapado (figura 1), el tiempo de ebullición varió de acuerdo a la dureza de la estructura vegetal (Tabla 3). Después de este tiempo la decocción se retiró del fuego y se dejó enfriar, con un papel filtro posteriormente se retiró el resto de material vegetal. La concentración y el tiempo se

determinó según lo recomendado para el consumo de infusiones y decocciones en herbolaria (Hernández y Reyes, 2010), el tipo de decocciones que se hicieron en este estudio son denominadas por estos autores como “decocciones ligeras”, debido al reducido tiempo que la planta fue expuesta a ebullición.

Tabla 3. Tiempo de ebullición aplicado a cada especie

ESPECIE		Tiempo (min)
<i>Argemone ochroleuca</i>	Flores	1
<i>Adenophyllum cancellatum</i>	Flores	2
<i>Nicotiana glauca</i>	Hojas	3
<i>Psittacanthus calyculatus</i>	Flores	3
<i>Ricinus communis</i>	Frutos con fruto	3
<i>Mangifera indica</i>	Hojas	5
<i>Eriobotrya japónica</i>	Hojas	5



Figura 1. Preparación de las decocciones y aplicación de los tratamientos

9. Evaluación de la actividad antifúngica de las decocciones

Para determinar los efectos de las especies de plantas sobre la germinación de los hongos tratados, se hizo una cuantificación de conidios germinados de cada uno de los hongos después de ser sometidos a cada una de las decocciones de las plantas en estudio. Este

procedimiento consistió en colocar 10 mL de cada decocción en un tubo de ensaye donde posteriormente se agregó 100 μ L de suspensión del hongo, se agitó en un Vortex, y se dejó reposar por 4 a 5 min, agitando nuevamente. A continuación, se hizo una dilución seriada como sigue: se tomó 1 mL de muestra y se vertió en otro tubo de ensaye con 9 mL de la decocción correspondiente, se agitó en el Vortex e inmediatamente después se pasó 1 mL de esta solución a un siguiente tubo con la misma cantidad de decocción y se volvió a agitar. De este último tubo con una micropipeta se tomó 100 μ L de la dilución para ser inoculada por extensión en placas con agar Sabouraud incubada por 48 horas a una temperatura de 28 °C. Posteriormente para la cuantificación del efecto de las decocciones en la viabilidad de los hongos, se registraron las Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Cada tratamiento se hizo con tres repeticiones y un testigo, éste consistió en tratar a los hongos en agua destilada estéril.

10. Análisis de datos

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza de “Fisher” y prueba de medias de Tukey ($p < 0.05$). Ya que la distribución de la variable evaluada no tiene una distribución normal, los valores fueron transformados a \sqrt{x} para su análisis. Se utilizó el programa JMP 8.0 (SAS Institute, 2005). Los resultados son presentados en gráficas mostrando los valores del promedio de unidades formadoras de colonias (UFC) obtenido de tres repeticiones con una caja Petri con agar Sabouraud cada una.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Evaluación de la actividad antifúngica de las decocciones de *Argemone ochroleuca*, *Psittacanthus calyculatus*, *Adenophyllum cancellatum*, *Ricinus communis*, *Nicotiana glauca*, *Eriobotrya japonica* y *Mangifera indica*.

La actividad antifúngica de cada una de las plantas fue evaluada haciendo un conteo de la cantidad de conidios germinados después de ser sometidos a cada una de las decocciones. Las pruebas estuvieron divididas en dos experimentos, debido a la disponibilidad de las plantas y dado que el tiempo que pasó entre un experimento y otro pudo afectar la viabilidad de los hongos. En el primer experimento se probaron los hongos con los tratamientos *P. calyculatus*, *M. indica*, *A. cancellatum* y su testigo, y el segundo experimentos integrado por las especies *R. communis*, *N. glauca*, *E. japonica*, *A. ochroleuca* y su respectivo testigo, por lo que los resultados se presentan en dos gráficas para cada uno de los hongos evaluados, excepto *F. oxysporum* KHM-02 que solo fue posible probarlo con las primeras plantas, pues perdió viabilidad para el segundo experimento. El análisis estadístico de igual forma se realizó de manera independiente, comparando los tratamientos de cada experimento.

1.1. Actividad sobre *Aspergillus parasiticus*

Los tratamientos de ambos experimento, probados sobre el hongo *Aspergillus parasiticus*, no mostraron diferencias significativa, aunque se observaron diferentes valores promedio de UFC germinadas en cada experimento, principalmente por las decocciones de las plantas del segundo experimento (Figura 3b).

Aunque los resultados obtenidos en el primer experimento con *P. calyculatus*, *M. indica* y *A. cancellatum* no mostraron diferencia significativa en los promedios de UFC germinadas de acuerdo al testigo (Figura 3a), la especie *P. calyculatus* mostró un efecto estimulante en la esporulación del hongo, como muestra la figura 2. Juárez (2008) identificó que la planta contiene compuestos antimicrobianos como Aceites esenciales, flavonoides y saponinas, entre otros, sin embargo contrariamente en este experimento la especie mostró actividad estimulante sobre *A. parasiticus*.

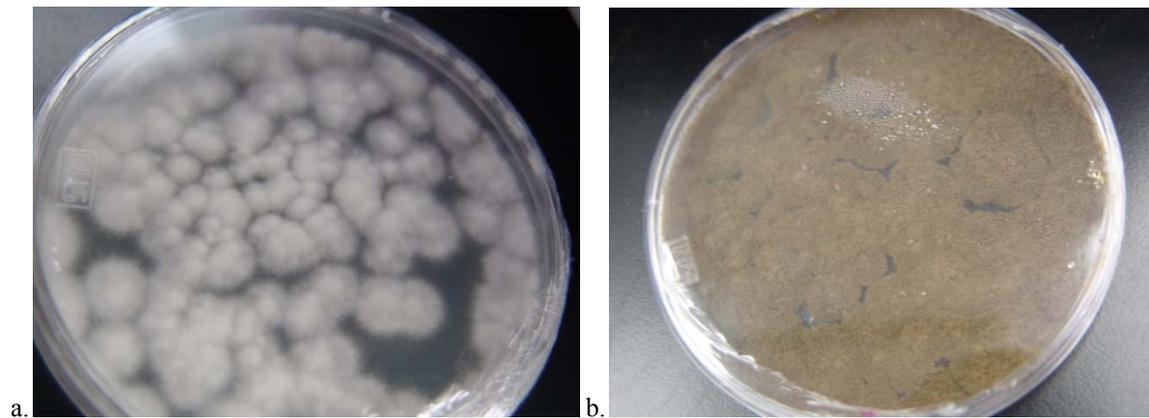


Figura 2. a) Cultivo testigo de *A. parasiticus*, b) crecimiento del mismo hongo expuesto a la decocción de *P. calyculatus*

En el segundo experimento (Figura 3b) las especies *A. ochroleuca* y *E. japonica*, comparadas con su testigo, muestran un notable aumento en la germinación del hongo, del 71.8 y 57.1% respectivamente, sin que este aumento sea significativo estadísticamente, sin embargo los resultados pueden expresar una tendencia en la estimulación germinativa de *A. parasiticus*. De igual forma *N. glauca* y *R. communis*, como muestra la figura 3b, tuvieron una tendencia al aumento en la germinación aunque menor, del 18.7 y 21.8%, respectivamente. Cada una de estas plantas tiene reportes de uso medicinal tradicional y/o

clínico con propiedades antimicrobianas, sin embargo en este estudio no se logró observar actividad significativa en la inhibición en las UFC de *A. parasiticus*.

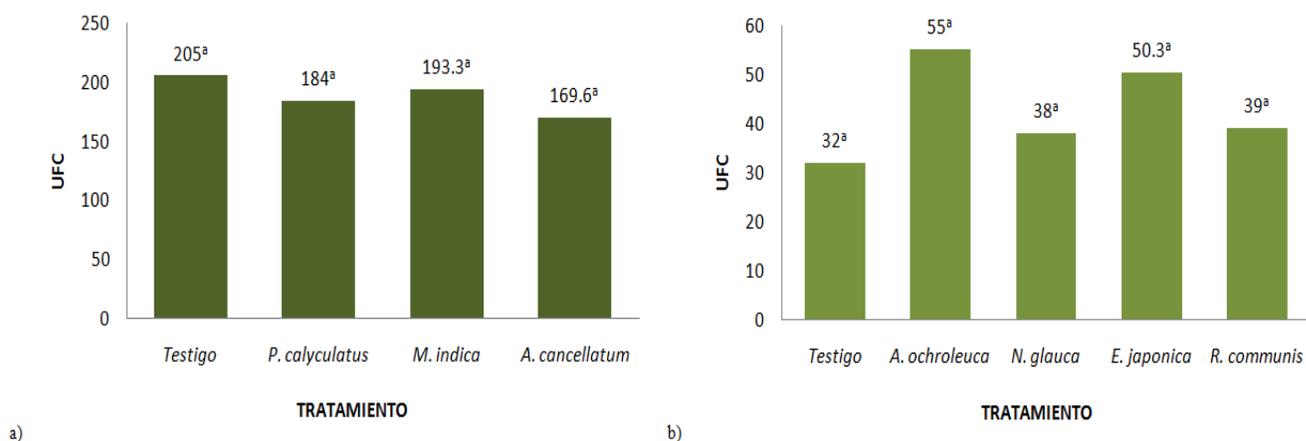


Figura 3. Promedio de UFC de *A. parasiticus* germinadas a las 48 h a 28 °C en agar Sabouraud
 UFC totales: valores mostrados por 1×10^4

a) experimento 1 b) experimento 2.

Medias seguidas de letras distintas denotan diferencias estadísticas (Tukey, 0.05).

^aPromedio de unidades formadoras de colonias obtenido de tres repeticiones con una caja Petri con agar Sabouraud cada una. Datos transformados a \sqrt{X} , para su análisis y expresados en la figura en términos de la variable original.

a) $F=3.74^{NS}$, Diferencia mínima significativa: 4.29. Diferencia significativa para una $P \leq 0.01$.

b) $F=1.45^{NS}$, Diferencia mínima significativa: 2.54. Diferencia significativa para una $P \leq 0.01$.

Cabe mencionar que a pesar de que en el segundo experimento el testigo tuvo un promedio menor en la germinación respecto al resto de los tratamientos (Figura 3b), éste mostró una mayor actividad esporulante. En los tratamientos con decocciones la germinación fue mayor al testigo, sin embargo, la esporulación fue menor, manifestando que aunque no hay efectos significativos en la germinación, podrían estas especies estar afectando otros procesos de desarrollo de *A. parasiticus*, en este caso el proceso de esporulación. Es recomendable hacer evaluaciones en distintos momentos del desarrollo del hongo, donde probablemente se observe que estos productos botánicos causan una disminución del daño del patógeno por regular su reproducción (esporulación). López *et al.*, (2005) explican que las sustancias inhibitorias de ciertos extractos pueden actuar en cierto momento de

desarrollo del patógeno, pues al evaluar distintos extractos vegetales contra tres de hongos fitopatógenos, observaron que el mayor porcentaje promedio de inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* se da entre las 72 a 144 h al ser expuesto a los extractos acuosos de *L. tridentata* y *Cinnamomum zeylanicum* J. Presl.

1.2 Actividad sobre *A. ochraceus*

En la primer prueba sobre *A. ochraceus* los tratamientos no mostraron diferencias estadísticas significativas, sin embargo cabe resaltar que el promedio de germinación por *P. calyculatus* aumenta en un 65.9% más que el promedio del testigo (figura 5a), siendo posible una actividad estimulante en la germinación, efecto que se confirma en la figura 4a. por otro lado, se reporta que *M. indica* tienen importante actividad antibacteriana (Kim *et al.*, 2010), sin embargo contrariamente en el hongo *A. ochraceus* causó un aumento en el promedio de germinación (24.2 %). La respuesta que mostró el hongo frente a *A. cancellatum* fue una disminución del 21%. Estos resultados muestran como las propiedades de las plantas varía enormemente y como menciona Montes *et al.*, (1997) en una especie de hongo los compuestos de una planta pueden resultar inhibitorios mientras que los compuestos de otra pueden estimular su crecimiento. Así mismo, para ciertas especies de hongos los compuestos de una planta pueden resultar inhibitorios del crecimiento, para otras especies los mismos compuestos pueden resultar estimulantes.

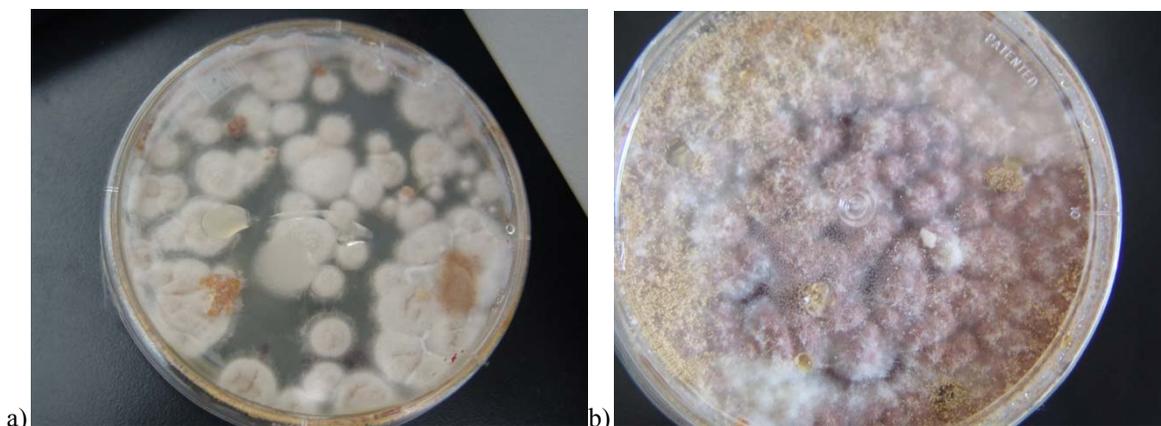


Figura 4. a) Cultivo testigo de *A. ochraceus*, b) crecimiento del mismo hongo expuesto a la decocción de *P. calyculatus*

Las pruebas hechas con las especies *A. ochroleuca* y *N. glauca* resultaron ser favorables en la inhibición de la germinación de las UFC ya que el porcentaje promedio de disminución respecto al testigo fue del 82.5 y 89.7% respectivamente, siendo estos resultados estadísticamente significativos. En el caso de estas especies no se encontraron reportes bibliográficos donde se informe de algún tipo de actividad antifúngica contra *A. ochraceus*. Moustafa *et al.* (2013) reporta actividad inhibitoria del látex crudo de *A. ochroleuca* contra *Drechslera halodes* y *Candida* spp., mientras que Reyes (2011) reporta el efecto del extracto de hoja de esta misma especie contra *Staphylococcus aureus* y *Cryptococcus neoformans*, con lo que se podría pensar que los ingredientes activos de *A. ochroleuca* se encuentra en las hojas y tallos de la planta, específicamente en el látex, pero con estos resultados se muestra que también la flor tiene compuestos químicos importantes con actividad antimicrobiana.

Por otro lado *R. communis* no presento diferencias significativas respecto al testigo, resultando un porcentaje de disminución del 33.7%, contrario a *E. japonica* que tuvo un porcentaje en la estimulación del 28% germinativa (figura 5b), siendo este resultado

estadísticamente significativo. *E. japonica* ha demostrado tener varias propiedades medicinales donde entre ellas esta ser antibacteriana (Abdou *et al.*, 2011), aunque para el hongo *A. ochraceus* haya mostrado un efecto estimulante.

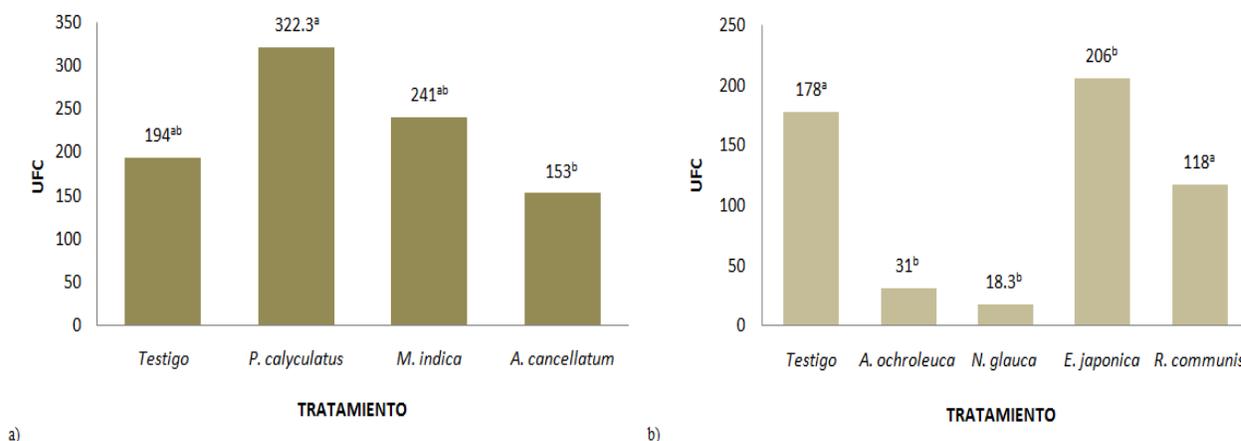


Figura 5. Promedio de UFC de *A. ochraceus* germinadas a las 48 h a 28 °C en agar Sabouraud
 UFC totales: valores mostrados por 1×10^4
 a) experimento 1 b) experimento 2.

Medias seguidas de letras distintas denotan diferencias estadísticas (Tukey, 0.05).

^aPromedio de unidades formadoras de colonias obtenido de tres repeticiones con una caja Petri con agar Sabouraud cada una. Datos transformados a \sqrt{X} , para su análisis y expresados en la figura en términos de la variable original.

a) $F = 7.10^{NS}$, Diferencia mínima significativa = 4.62. Diferencia significativa para una $P \leq 0.01$. (valor de $P = 0.0121$)

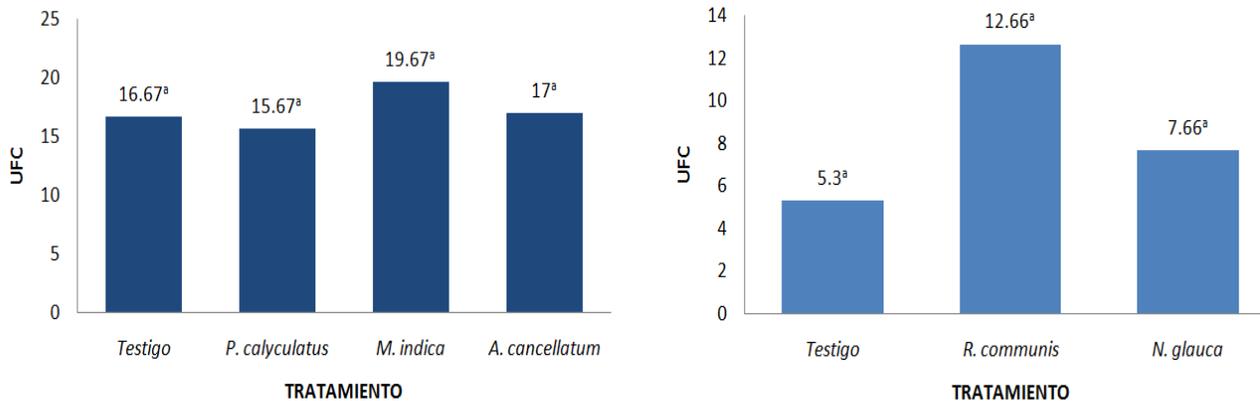
b) $F = 18.15^{**}$, Diferencia mínima significativa = 4.07. $**$ Diferencia significativa para una $P \leq 0.01$.

1.3 Actividad sobre *F. oxysporum* F-60095

F. oxysporum es una de las especies más cosmopolitas y de mayor resistencia a los fungicidas químicos, la misma resistencia ha mostrado en las pruebas hechas con especies de plantas, lo que coincide con los resultados obtenidos en este estudio, ya que *F. oxysporum* F-60095 muestra que de las siete plantas evaluadas, ninguna mostró reducción significativa en su germinación, por lo que las diferencias entre los valores de los promedio de UFC germinadas en ambos experimentos no difieren respecto al testigo (Figura 6). Las

decocciones de *P. calyculatus* y *A. cancellatum*, en menor medida *M. indica* mostraron un desarrollo del hongo igual al testigo (Figura 6a).

En cuanto las pruebas del segundo experimento hecho con las especies *E. japonica*, *N. glauca*, *A. ochroleuca* y *R. communis*. Las especies *A. ochroleuca* y *E. japonica* no tuvieron germinación en una primer prueba por lo que se repitió el experimento en dos ocasiones con estas especies, siguiendo con nula germinación, incluyendo al testigo, por lo que se decidió eliminar estas especies, ya que la cepa muy probablemente perdió viabilidad. Así, los resultados obtenidos para este experimento fue que el testigo tuvo un promedio de 5.33 UFC germinadas, para *N. glauca* un promedio de 7.66 y para *R. communis* 12.66. Cáceres en 1996 evaluó la infusión de las hojas frescas de *R. communis* sobre *F. oxysporum* y observó que presentaba actividad antifúngica, en el caso de este estudio se probaron las decocciones de hojas secas con lo que probablemente el manejo de la muestra haya repercutido en su actividad inhibitoria sobre dicho hongo.



a)

b)

Figura 6. Promedio de UFC de *F. oxysporum* F-60095 germinadas a las 48 h a 28 °C en agar Sabouraud, UFC totales: valores mostrados por 1×10^4

a) experimento 1 b) experimento 2.

Medias seguidas de letras distintas denotan diferencias estadísticas (Tukey, 0.05).

^aPromedio de unidades formadoras de colonias (UFC) obtenido de tres repeticiones con una caja Petri con agar Sabouraud cada una. Datos transformados a \sqrt{X} , para su análisis y expresados en la figura en términos de la variable original.

a) $F = 0.29^{NS}$, Diferencia mínima significativa: 2.64. Diferencia significativa para una $P \leq 0.01$.

b) $F = 2.95^{NS}$, Diferencia mínima significativa: 1.6. Diferencia significativa para una $P \leq 0.01$

1.4 Actividad sobre *F. oxysporum* KFM-02

La prueba para *F. oxysporum* KFM-02 fue evaluada sólo con las especies *P. calyculatus*, *M. indica* y *A. cancellatum*, debido a que la cepa no presentó viabilidad en el segundo experimento. Los valores promedio fueron no significativos estadísticamente, sin embargo se observó variación principalmente con las especies *P. calyculatus* y *A. cancellatum*, mostrando una disminución germinativa equivalente al 40.4 y 42.5% respectivamente de acuerdo al testigo (Figura 4), mientras que *M. indica* mostró un promedio de 6.8 conidios germinados. Resultando que ninguna de estas especies vegetales causan actividad antifúngica contra *F. oxysporum* KFM-02. El promedio de germinación fue bajo, con lo que la viabilidad muy probablemente es baja *per se* a la cepa.

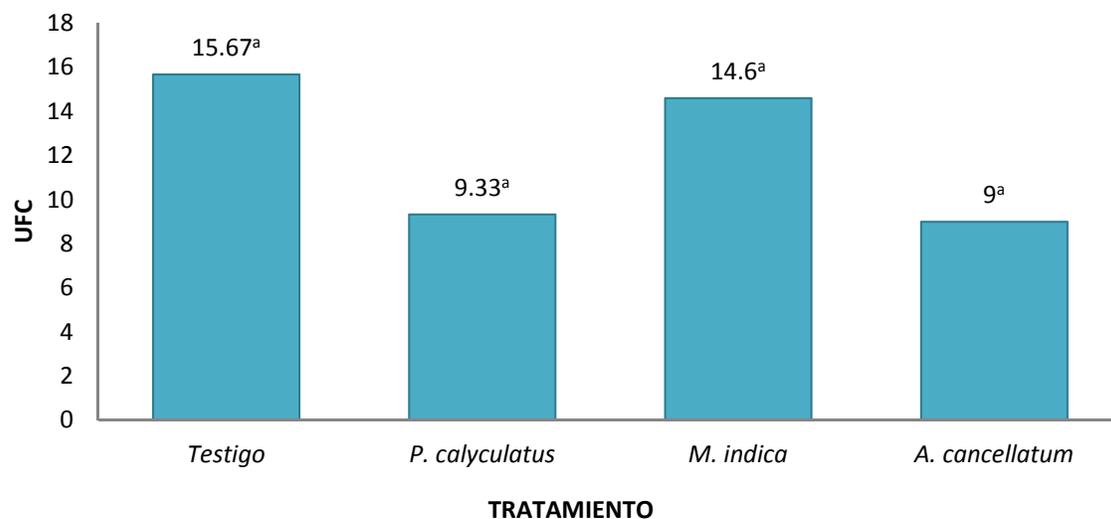


Figura 7. Promedio de UFC de *F. oxysporum* KFM-02 germinadas a las 48 h a 28 °C en agar Sabouraud, UFC totales: valores mostrados por 1×10^4

Medias seguidas de letras distintas denotan diferencias estadísticas (Tukey, 0.05).

^aPromedio de unidades formadoras de colonias obtenido de tres repeticiones con una caja Petri con agar Sabouraud cada una. Datos transformados a \sqrt{X} , para su análisis y expresados en la figura en términos de la variable original. $F=0.44^{NS}$, Diferencia mínima significativa: 2.74. Diferencia significativa para una $P \leq 0.01$.

La tabla 4 muestra el resumen de los resultados de las especies evaluadas respecto a la influencia que tuvieron en la germinación de los hongos fitopatógenos probados. La tabla 4 muestra el porcentaje de germinación tanto de la inhibición como de la estimulación promovida como efecto de las decocciones sobre las UFC de los hongos tratados.

Tabla 4. Resumen del efecto de las decocciones en los hongos fitopatógenos

	<i>A. parasiticus</i> %	<i>A. ochraceus</i> %	<i>F. oxysporum</i> F-60095 %	<i>F. oxysporum</i> KFM-02 %
<i>P. calyculatus</i>	-10.2	65.9	-6	-40.4
<i>M. indica</i>	-5.7	24.2	17.9	-6.8
<i>A. cancellatum</i>	-17.2	-21.13*	1.9	-42.5
<i>N. glauca</i>	18.7	-89.7*	44.5	-
<i>E. japonica</i>	57.1	28*	-	-
<i>A. ochroleuca</i>	71.8	-82.5*	-	-
<i>R. communis</i>	21.8	-33.7	138.8	-

Los valores negativos corresponden al porcentaje de inhibición en la germinación promovido por los tratamientos y los valores positivos al porcentaje de estimulación.

(*) Actividad significativa

La reacción que cada uno de los hongos presentó frente a las distintas decocciones botánicas probadas es diferente, cabe resaltar los resultados que mostró *R. communis* al generar estimulación germinativa de *A. ochraceus*, además de la aparente promoción de esporulación de *P. calyculatus* en las especies del género *Aspergillus*. Los resultados obtenidos con dichas especies botánicas pueden resultar ser objeto de estudio para otras aplicaciones ecológicas o clínicas aplicadas para la estimulación en el desarrollo de tal vez, especies microbianas benéficas para objetivos particulares. Las reacciones que los hongos manifiestan ante estos tratamientos responden a lo que sugiere Avalos y Pérez, (2009), “la presencia y/o concentración de los metabolitos secundarios varían entre cada especie, lo que explica el comportamiento de cómo ciertas plantas pueden inhibir o estimular solo a ciertos hongos”.

Las aportaciones científicas que se presentan en este trabajo constituyen una opción sanitaria contra los hongos fitopatógenos de inocuidad alimentaria, basado en productos biológicos como son las decocciones de plantas, argumentada en sus propiedades que han dado a las mismas su persistencia a través de la evolución. *A. cancellatum*, *N. glauca* y *A. ochroleuca* reflejan en los resultados que sus moléculas biológicamente activas tienen propiedades para el control de hongos fitopatógenos, pudiendo restringir la diseminación de dichos patógenos al resto de la planta y al cultivo. Cabe mencionar que cinco de las siete especies de plantas evaluadas son especies invasoras principalmente como malezas, éstas por lo general no tienen utilidad económica, por lo que resultaría conveniente la posibilidad de que estas especies puedan ser aprovechadas para los fines productivos mencionados.

VII. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos proporcionan una perspectiva general del efecto que las especies de plantas con actividad medicinal estudiadas tienen sobre los hongos *A. ochraceus*, *A. parasiticus* y *F. oxysporum*. Las propiedades de *N. glauca*, *A. ochroleuca* y *A. cancellatum* tienen efecto inhibitorio en la germinación de *Aspergillus ochraceus*.

La decocción de *E. japonica* estimuló la germinación de *A. ochraceus*, mientras *P. calyculatus* estimula el desarrollo de *A. ochraceus* y *A. parasiticus*. Los resultados representan la oportunidad de conocer el tipo de efecto que pueden tener estas plantas sobre ciertos organismos, ofreciendo la posibilidad de ser aprovechadas para ciertos fines, o bien pueden guiar otro tipo de estudios básicos o ecológicos con las mismas o diferentes especies de hongos.

Tres de las plantas medicinales seleccionadas mostraron actividad inhibitoria, con lo que de acuerdo con los datos etnobotánicos disponibles, es viable este enfoque de selección de especies de plantas en la búsqueda de una actividad específica como es el caso de estudios con hongos fitopatógenos, ya sea para su inhibición o bien para estimular su desarrollo. Es necesario llevar a cabo otros experimentos complementarios como estudios fitoquímicos, pruebas en campo, de bioseguridad y tratamientos con semillas, entre otros, que proporcionen información que valide su potencial en el control de enfermedades agrícolas, pues dadas su características botánicas y biológicas mostradas en este estudio podrían llegar a ser usada como fuente de compuestos para elaborar productos botánicos para el control de hongos fitopatógeno.

VIII. REFERENCIAS

1. Abdou E., Daoud E., Abdel R., 2011, Leaf and branch extracts of *Eriobotrya japonica* exert antibacterial activity against ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, International Journal of Phytomedicine 3:120-128.
2. Adame J, Adame H. 2000. Plantas curativas del Noreste Mexicano, 1ra. Edic., Ed. Castillo, México. pp. 210.
3. Agrios G., 2008, Fitopatología, 2da. Edic., Edit. Limusa, México D.F. pp. 42,425.
4. Alcalá D., Vargas N. y Pire A., 2005, Efecto de extractos vegetales y fungicidas sintéticos sobre el crecimiento micelial in vitro de *Sclerotium rolfsii* y *Thielaviopsis basicola*, Rev. Fac. Agron. (LUZ), 22: 315-323, Venezuela.
5. Antón A. y Lizaso J., 2001, Hongos y micotoxinas, Nuestra cabaña, (312):14-21.
Disponible en: http://www.adiveter.com/ftp_public/articulo578.pdf.
6. Araujo J. y Salas A., 2008, Actividad Antimicrobiana de Plantas, Revista Científica, 6:6-19.
7. Arboleda F., Guzmán O. y Mejía L., 2012, Efecto de Extractos Cetónicos de Higuierilla (*Ricinus communis* Linneo.) Sobre el nematodo barrenador [*Radopholus similis* (Cobb.) Thorne] en condiciones in vitro, Revista Luna Azul, (35):28-47.
8. Ávalos A. y Pérez E., 2009 Metabolismo secundario de plantas, Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145.
9. Babaei A., Manafi M. and Tavafii H., 2013, Study on Effect of Aloe vera Leaf Extracts on Growth of *Aspergillus flavus*, Annual Review & Research in Biology, Sciencedomain international, 3(4): 1091-1097.
10. Bautista S., Barrera L., Bravo L. and Torres K., 2002. Antifungal activity of leaf and stem extracts from various plant species on the incidence of *Colletotrichum*

- gloesporioides* of papaya and mango fruit after stronge. Revista Mexicana de Fitopatología. 20(1):8-12.
11. Bernal A., Zamora J., Virgen G. y Nuño R., 2005, Actividad biológica in vitro de extractos de *Lupinus pp.* sobre hongos fitopatógenos. Revista Mexicana de Fitopatología, 23(2):140-146.
 12. Bolívar M., 2007 Manejo de granos en almacenamiento, causas de deterioro y prevención, Arch. Latinoam. Prod. Anim. Vol. 15 (1):180-184.
 13. Brechelt A., 2004, El Manejo Ecológico de Plagas y Enfermedades, Edita: Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina, Santiago de Chile, Chile, pp: 4,7.
 14. Carrere R., 2007, El misterioso ciudadano Palán palán (*Nicotiana glauca*), <http://www.guayubira.org.uy/monte/Palan.pdf>
 15. Carrillo L., 2003, Los Hongos de los Alimentos y Forrajes, <http://www.unsa.edu.ar/matbib/hongos/01htextomohos.pdf>, consulta: abril 2013.
 16. Cáceres A., 1996, Plantas de uso medicinal en Guatemala. Edit. Universitaria. Univ.San Carlos. 1ra Edic.
 17. Chang P., 2008, A highly efficient gene-targeting system for *Aspergillus parasiticus*, Southern Regional Research Center, Agricultural Research Service, Journal The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology 46:587–592.
 18. Cecon E., 2008, La revolución verde tragedia en dos actos., Ciencias, 1(91):21-29.
 19. Céspedes C., Alarcon J., 2011, Biopesticidas de origen botánico, fitoquímicos y extractos de Celastraceae, Rhamnaceae y Scrophulariaceae Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 10(3):175-181.

20. Cruzat N. y Ionannidis D., 2008, Resultados y Lecciones en Biocontrol de enfermedades Fungosas con *Trichoderma* spp., Fundación para la Innovación Agraria, disponible en;
http://bibliotecadigital.fia.cl/gsd/collect/publicac/index/assoc/HASH9e20.dir/62_Libro_Trichoderma.pdf
21. Díaz P., Cabrera A., Alem D., Larrañaga P., Ferreira F. y Dalla M., 2011, Antifungal Activity of Medicinal Plant Extracts Against Phytopathogenic Fungus *Alternaria* spp., Chilean Journal Of Agricultural Research 71(2):223-239. Espíndola S., 2006, Micotoxinas y micotoxicosis en el ganado bovino lechero, Revista Chapingo Serie Zonas Aridas. 5: 89-94.
22. FAO 2005., Agricultura y diálogo de culturas nuestro patrimonio común. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/008/a0015s/a0015s04.htm#TopOfPage>. Fecha de consulta: Marzo de 2012.
23. FAO, 2012, Prevención y reducción de la contaminación de los alimentos y piensos, 1ra edición, disponible en:
ftp://ftp.fao.org/codex/publications/Booklets/Contaminants/CCCF_2012_ES.pdf
24. Ferrara R. 2005, Contaminación agrícola. Centro de investigaciones Agrícolas del Estado de Táchira (INIA Divulga).
25. Garrido A, Romero R., González P.- Martínez J.2014, Boletín Graseqa Seguridad Alimentaria, (7):3-14.
26. Garcés E., Orozco M., Rocío G., Valencia H., 2001, Revisión: *Fusarium oxysporum* el hongo que nos falta conocer, Acta Biológica Colombiana, 6 (1):8-25.
27. García C., González M. 2010. Uso de bioinsecticidas para el control de plagas de hortalizas en comunidades rurales. Ra Ximhai, 6(1): 17-22.

28. Guádez C., Cañizález L., Castillo C., y Olivar R., 2009, Efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* sobre algunos, Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología; 29:34-38
29. Harvey, A. 2000. Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products (en línea). Drug Discovery Today 5(7): 294-300. Disponible en <http://www.ibmb.uni.wroc.pl/prace2/praca18.pdf>, Consulta: junio del 2013.
30. Ibarra J., Rincón C., Galindo E., Patiño M., Serrano J., García R., Carrillo J., Pereyra B., Alcázar A., Olvera H., Galán L., Pardo L., Muñoz C., Gómez I., Soberón M., Bravo A., 2006, Los microorganismos en el control biológico de insectos y fitopatógenos, Revista Latino Americana de microbiología, 48 (2): 113 – 120.
31. Igarzábal D., 2009, La Argentina 2050: La Revolución Tecnológica del Agro. Capítulo La importancia del control de plagas en la agricultura: insecticidas-fungicidas-herbicidas. Subcapítulo Insecticidas 362-378., Disponible en <http://www.ibmb.uni.wroc.pl/prace2/praca18.pdf>.
32. Infante D., Martínez B., González N. y Reyes Y., 2009., Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos., Rev. Protección Veg. 24 (1): 14-21.
33. Izzeddin A., y Medina L. 2011, Efectos del control biológico por antagonistas sobre fitopatógenos en vegetales de consumo humano. Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud, 15 (3): 8-12.
34. Hernández A. y F. Reyes. 2010. Diplomado de Farmacia Viviente. Instituto Tzapin de Medicinas Complementarias S. C.
35. Jena J. and Kumar A. , 2012, *Ricinus Communis* Linn: a Phytopharmacological Review, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 4(4):25-29

36. Juárez B., 2008, Determinación de la actividad biocida de cuatro especies de Muérdago de Guatemala, [*Phoradendron robustissimum* Eischler; *Psittacanthus calyculatus* (DC.) G.Don; *Struthanthus marginatus* (Desr.) Blume; y *Struthanthus sorbicularis* (HBK.) Blume]. Tesis Licenciatura Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.
37. Jong G., 2010, Inhibitory Effect of Green Onion on the Growth of *Aspergillus parasiticus*, Department of Public Health, Keimyung University, Daegu, Republic of Korea 704-701. <http://www.formatex.info/microbiology2/457-462.pdf>.
38. Kim H., Yong J., Kim H., Lee D., Cho M., Choi H., Kim Y., Mosaddik A., Kim S., 2010, Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel, Food Chemistry (121): 429–436.
39. Kagale, S.; Marimuthu, T.; Thayumanavan, B.; Nandakuman, R. and Samiyappan, R. 2004. Physiological and Molecular Plant Pathology. (65): 91-100
40. Mann C., 2008, Nuestra buena tierra, National Geographic en Español, 23(3):2-27.
41. Martínez J., Estrada E., Cáceres A. Álvarez G. García S., 2005, Detección de plantas utilizadas para el manejo y control de enfermedades fungosas en los principales cultivos alimenticios y evaluación preliminar de su actividad in vitro, Instituto de Investigaciones Agronómicas y Ambientales, Facultad de Agronomía Universidad de San Carlos de Guatemala. http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/memoria_pccmca-2007.pdf; consultada: agosto de 2013.
42. Méndez A. y Moreno E., 2009, Las micotoxinas: Contaminantes Naturales de los alimentos. <http://www.revistaciencia.amc.edu.mx/online/619-Albores%20Micotoxinas.pdf>, consultada: agosto de 2013.

43. Missiaen C. y Lanfon R., 1967. Enfermedades de las hortalizas. 1ra. Edic., Edit. Oikos-tau, S.A., Barcelona España. pp. 27.
44. Mondino P., 2001., Manejo de la Resistencia a Fungicidas,
<http://www.argenpapa.com.ar/img/Resistencia%20a%20fungicidas.pdf>. consultada:
noviembre de 2013.
45. Montes B. y Zilch D. 1997. Pudrición del fruto del pepino y su control con extractos vegetales. Acta Mexicana de Ciencia y Tecnología 12:87-94
46. Montes R., 2009, Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos,
47. Montes R., Cruz V., Martínez G., Sandoval G., García R., Zilch S., Bravo L., Bermúdez K., Flores H., Carvajal M., 2000, Propiedades antifúngicas en plantas superiores. Análisis retrospectivo de investigaciones, Revista Mexicana de Fitopatología, A.C., 18(002)125-131.
48. Moustafa M., Alamri S., Taha T. and Alrumman S., 2013, In vitro antifungal activity of *Argemone ochroleuca* Sweet latex against some pathogenic fungi,, African Journal of Biotechnology Vol. 12(10), pp. 1132-1137.
49. Naccha L. Cavazos N., Torres A., Castillo M. y Robledo A., 2005, Ocrotoxinas y su impacto en la salud. Ciencia UANL, Vol. 7, No. 3, pp. 372-378.
50. Orta L., 2002, Contaminación De Las Aguas Por Plaguicidas Químicos,
Fitosanidad, 6 (3): 55-62, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal Cuba.
51. Pamplona R. 2003. Enciclopedia de los alimentos y su poder curativo. Ed.SAFELIZ,
Madrid, pp.446.
52. Pérez J., 2013, Estudio fitoquímico y actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ricinus communis* L. "higuerilla", Tesis,

Universidad Nacional Mayor de San Marco, Facultad de Farmacia y Bioquímica,
Unidad de Posgrado, Lima – Perú.

53. Requena F., Saume E. y León A., 2005, Revisión; Micotoxinas: Riesgos y prevención, *Zootecnia Tropical* 23(4):393-410. Disponible en: http://www.sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/ZootecniaTropical/zt2304/arti/requena_f.htm; consultada; abril, 2014.
54. Rodríguez P. 2001. Hongos Fitopatógenos del Suelo de México, *Acta de Zoología Mexicana*. (1: 53-78).
55. Rubio G., Baltodano F., Abanto L., Wilson J., Muños M., 2008, Resistencia *in vitro* de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* a los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai-WP, *REBIOL*. 28(2).
56. Saldarriaga Y., Gutiérrez A., Cardona N., Giraldo I., 2005, Conformación del cepario de hongos aislados de diferentes sustratos en varias regiones de Antioquia, Colombia, *Manejo Integrado de Plagas Agroecología Costa Rica* (76):64-70.
57. Segrelles A., 2005, El Problema de los Cultivos Transgénicos en América Latina: Una “Nueva” *Revolución Verde*, *Entorno Geográfico*, (3): 93-120.
58. SAS. JMP Versión 5.1. Statistics and Graphics Guide. SAS Institute Inc, Cary, NC, USA. 2002.
59. Toledo V. 1994. La Diversidad Biológica de México. Nuevos retos para la investigación de los noventas. *Ciencias* 34:43-59.
60. Tenorio R., Terrazas E., Alvarez M., Vila J., y Mollinedo J., 2010. Concentrados de saponina de *Chenopodium quinoa* y de *Caiphora andina*: alternativas como biocontroladores de hongos fitopatógenos, *Revista Boliviana de Química*, 27 (1):33-10.

61. Torres D. y Capot T., 2004, Agroquímicos un problema ambiental global: uso del análisis químico como herramienta para el monitoreo ambiental, *Ecosistemas* 13 (3): 2-6, Venezuela.
62. UNAM, 2009, Biblioteca digital de medicina tradicional;
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Eriobotrya%20japonica&id=7626>, consultada: agosto de 2013.
63. UNAM, 2009, Biblioteca digital de medicina tradicional;
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7969> ;consultada: julio de 2013
64. Urbina M., 2011, Generalidades de Hongos, Bacterias, Virus y Nematodos,
Disponible en: <http://martinurbinac.files.wordpress.com/2011/07/unidad-i-fitop-esp-2011.pdf>, consultada: octubre 2013.
65. Vargas I., Araujo S., Martínez M., 1997, Efecto de extractos de plantas sobre el crecimiento y producción de aflatoxinas de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 15:91-95.
66. Vargas J., Rodríguez D., Sanabria M., Hernández J., 2009, Efecto de tres extractos vegetales sobre la Sigatoka negra del plátano (*Musa AAB* cv. Hartón), *Revista UDO Agrícola* 9 (1): 182-190.
67. Vázquez L., 2006, Tendencias y percepciones acerca del manejo de plagas en la producción agraria sostenible, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal Ministerio de la Agricultura. www.inisav.cu/OtrasPub/Tendencias%20y%20percepciones%20manejo%20de%20plagas.pdf: consultada: enero 2013

68. Vázquez L., 2010, Manejo de plagas en la agricultura ecológica, Boletín Fitosanitario/ Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal., 15 (1).
69. Verastegui M., 1995, Análisis del Efecto Antifúngico de 20 Extractos de Plantas, Tesis de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Maestría en Ciencias.