



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

INSTITUTO DE HORTICULTURA

**EXTRACTOS VEGETALES DE *Opuntia ficus-indica*,
Phytolacca icosandra, *Arundo donax* y *Sida acuta*
PARA EL CONTROL *IN VITRO* DE *Colletotrichum*
*gloeosporioides***

**TESIS
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA**

**PRESENTA:
YAZMÍN MECALCO RUÍZ**



CHAPINGO, MÉXICO, JUNIO 2014





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

INSTITUTO DE HORTICULTURA

**EXTRACTOS VEGETALES DE *Opuntia ficus-indica*,
Phytolacca icosandra, *Arundo donax* y *Sida acuta*
PARA EL CONTROL *IN VITRO* DE *Colletotrichum*
*gloeosporioides***

**TESIS
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA**



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DIRECCION DE SERVICIOS ESCOLARES
DIRECCION DE EXAMENES PROFESIONALES

**PRESENTA:
YAZMÍN MECALCO RUÍZ**



CHAPINGO, MÉXICO, JUNIO 2014



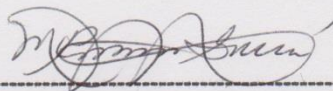
**"EXTRACTOS VEGETALES DE *Opuntia ficus-indica*, *Phytolacca icosandra*,
Arundo donax y *Sida acuta* PARA EL CONTROL IN VITRO DE
Colletotrichum gloeosporioides"**

**Esta tesis fue realizada por Yazmín Mecalco Ruíz bajo la dirección del
Consejo Particular que se indica, ha sido revisada por el mismo y aceptada
como requisito parcial para obtener el grado de:**

MAESTRIA EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTOR:



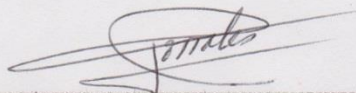
DRA. MARÍA DEL ROSARIO GARCÍA MATEOS

ASESOR:



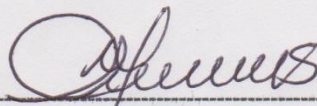
DR. MARCELO ACOSTA RAMOS

ASESOR:



DR. J. JOEL E. CORRALES GARCÍA

ASESOR:



DR. JUAN MARTÍNEZ SOLÍS

Chapingo, Estado de México, Junio 2014

DEDICATORIAS

A mi familia (hermana y papá, en especial a mis tías y tíos por siempre estar al pendiente de mí y proporcionarme su apoyo siempre, a mis padrinos por su ayuda para poder culminar mi proceso de titulación, a mis amigas que siempre estuvieron para asesorarme cuando las necesite y a mi pareja que estuvo a mi lado incondicionalmente apoyándome en este proceso). Gracias a todos que siempre han estado al pendiente de mi bienestar y formación académica, así como por su apoyo para poder culminar mi proceso de titulación.

De igual forma mi madre que influyo en las bases de mi educación, y mis abuelos que me proporcionaron todo su apoyo para mi formación profesional. Donde quiera que se encuentren este trabajo se los dedico.

AGRADECIMIENTOS

A CONACYT por proporcionar la beca para poder realizar los estudios de Maestría en Biotecnología Agrícola.

Agradezco a la Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Fitotecnia, Instituto de Horticultura, por los apoyos económicos con lo cuales fue posible esta Investigación.

Agrointegradora Poblana de Tuna y Nopal S.A. de C.V. por proporcionar las 2 variedades de *Opuntia ficus-indica* utilizadas en la presente investigación.

Dr. Luis Fernando Contreras por la asesoría proporcionada para el análisis estadístico de resultados.

M. en C. Natanael Magaña Lira por la asesoría proporcionada para el análisis estadístico de resultados.

Dr. Juan Martínez Solís por sus aportaciones para el análisis estadístico e interpretación de los resultados del presente trabajo.

A la Dra. María del Rosario García Mateos por su apoyo, paciencia, orientación y confianza, como directora del presente trabajo de tesis, así como el facilitar el laboratorio de Bioquímica de Preparatoria Agrícola para la obtención de los extractos necesarios para esta investigación.

Dr. Marcelo Acosta Ramos por su asesoría, apoyo y por facilitar las instalaciones del Laboratorio de Posgrado del departamento de Parasitología Agrícola para realizar la evaluación *in vitro* de esta investigación.

Dr. Joel Corrales por su asesoría y aportaciones para esta investigación, así como en la obtención del material vegetal de *O. ficus-indica*.

A Lyzbeth Hernández Ramos y Martha Beatriz Román Arce por su asesoría para el análisis de resultados de la presente investigación.

**EXTRACTOS VEGETALES DE *Opuntia ficus-indica*, *Phytolacca icosandra*,
Arundo donax y *Sida acuta* PARA EL CONTROL IN VITRO DE
*Colletotrichum gleosporioides***

**PLANT EXTRACTS OF *Opuntia ficus -indica*, *Phytolacca icosandra* , *Arundo
donax* and *Sida acuta* FOR IN VITRO CONTROL OF *Colletotrichum
gleosporioides*.**

RESUMEN

En México se pierde en postcosecha entre 10 y 40 % del volumen producido en frutos (aguacate, cítricos, mango, papaya y guayaba), debido a la alta incidencia de antracnosis y por daños mecánicos, ocasionando pérdidas económicas para el productor. El hongo *Colletotrichum gleosporioides* es el agente causal de antracnosis, ataca hojas y frutos. Actualmente, los extractos vegetales son una alternativa para el manejo integrado de plagas y enfermedades, con menos efectos negativos hacia el ambiente y el hombre, ya que son biodegradables e inocuos al ambiente. El objetivo fue evaluar el efecto de los extractos metanólicos de dos variedades de tuna (*O ficus-indica*), así como el extracto hexánico de *Phytolacca icosandra*, y los extractos metanólicos de *Arundo donax* y *Sida acuta* in vitro contra *Colletotrichum gleosporioides*. El hongo se aisló de un fruto enfermo. Las variables que se evaluaron fueron: el porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo y CL₅₀. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), comparación de medias por diferencia mínima significativa (DMS $P \leq 0,05$) y análisis Probit para el cálculo de la CL₅₀. El mayor efecto de inhibición se encontró en el extracto hexánico de *Phytolacca icosandra* (100% de inhibición a la concentración de 50 %) debido a la presencia de saponinas. En segundo lugar fue el caso del extracto metanólico de *O. ficus-indica* var. cristalina, que tuvo un porcentaje de inhibición de 48% a una concentración de 50%. La cepa rosa (CR) y el micelio (M) fueron más susceptibles a los extractos.

Palabras claves: Extractos vegetales, *Colletotrichum gleosporioides*, inhibición

ABSTRACT

In Mexico postharvest is lost between 10 and 40% of the volume produced in fruits like (avocado, citrus, mango, papaya and guava), due to the high incidence of anthracnose and mechanical damage, causing to the producer economic losses. The fungus *Colletotrichum gleosporioides* is the causal agent of anthracnose, it attacks leaves and fruits. Currently, the plant extracts are an alternative for the integrated management pest and disease control, with less negative effects to the environment and man, since they are biodegradable and environmentally safe. The objective was to evaluate the effect of methanol extracts of two varieties of tuna (*O ficus -indica*) and the hexane extract of *Phytolacca icosandra*, and *Arundo donax* methanolic extracts of *Sida acuta* in vitro vs. *Colletotrichum gleosporioides*. The fungus was isolated from a diseased fruit. The evaluated variables were: inhibition percentage of fungal growth and LC₅₀. A Variance analysis (ANOVA) was done, comparison media by a minimum significant difference (LSD $P \leq 0.05$) and Probit analysis for calculating LC₅₀ were performed. The greatest inhibitory effect was found in the hexane extract of *Phytolacca icosandra* (100% inhibition at 50% concentration) due to the presence of saponins. Secondly, the methanol extract of *O. ficus -indica* var. Crystal had an inhibition percentage of 48 at 50% concentration. The pink strain (PS) and mycelium (M) were more susceptible to the extracts.

Keywords: Plant Extracts, *Colletotrichum gleosporioides* inhibition

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. OBJETIVOS.....	3
1.1.1. OBJETIVO GENERAL.....	3
1.1.2. OBJETIVO PARTICULAR.....	3
1.2. HIPÓTESIS.....	3
2. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. Hongos fitopatógenos.....	7
2.2. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	8
2.2.1. Clasificación taxonómica.....	8
2.2.2. Antracnosis.....	9
2.2.3. Proceso de infección.....	10
2.2.4. Sintomatología.....	12
2.2.5. Especies frutales afectadas por antracnosis.....	13
2.2.6. Control de antracnosis.....	14
2.3. Características generales de <i>Opuntia ficus-indica</i>	17
2.3.1. Origen y clasificación taxonómica.....	17
2.3.2. Distribución en México.....	19
2.3.3. Descripción botánica.....	20
2.3.4. Composición química.....	21
2.3.5. Usos.....	22
2.3.6. Caracterización de la producción de Tuna en el Estado de Puebla	23

2.3.7. Descripción de tuna variedad Cristalina.....	24
2.3.8 Descripción de tuna roja variedad San Martín.....	25
2.4. Características generales de <i>Arundo donax</i>	25
2.4.1. Origen y clasificación taxonómica.....	25
2.4.2. Distribución en México.....	26
2.4.3. Descripción botánica.....	26
2.4.5. Composición química.....	26
2.4.5. Usos.....	26
2.5. Características generales de <i>Sida acuta</i>	27
2.5.1. Origen y clasificación taxonómica.....	27
2.5.2. Distribución en México.....	27
2.5.3. Descripción botánica.....	27
2.5.4. Composición química.....	28
2.5.5. Usos.....	28
2.6. Características generales de <i>Phytolacca icosandra</i>	29
2.6.1. Origen y clasificación taxonómica.....	29
2.6.2. Distribución en México.....	29
2.6.3. Descripción botánica.....	29
2.6.4. Composición química.....	30
2.6.5. Usos.....	30
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
3.1. Aislamiento de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	31
3.1.1. Elaboración del medio PDA.....	31

3.1.2. Identificación de las cepas.....	32
3.1.3. Purificación del hongo.....	33
3.1.4. Pruebas de patogenicidad.....	35
3.2. Recolección del material vegetal.....	36
3.2.1. Identificación de las especies.....	37
3.3. Preparación de los extractos vegetales.....	37
3.4. Evaluación de la actividad fungicida <i>in vitro</i>	38
3.5. Análisis estadístico.....	39
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
4.1. Actividad fungistática de las variedades de <i>Opuntia</i>	
<i>ficus-indica</i>	40
4.1.1. Análisis de varianza de la inhibición de <i>C. gloeosporioides</i>	40
4.1.2. Comparaciones de medias para el efecto de extracto	41
4.1.3. Comparaciones de medias para el efecto de las concentraciones	43
4.1.4. Comparaciones de medias para la interacción.....	46
4.2. Actividad fungistática de los extractos de <i>Phytolacca</i>	
<i>icosandra, Arundo donax y Sida Acuta</i>	49
4.2.1. Análisis de varianza de la inhibición de <i>C. gloeosporioides</i>	49
4.2.2. Comparaciones de medias para el efecto del extracto.....	50
4.2.3. Comparaciones de medias para el efecto de las concentraciones.....	52
4.2.4. Comparaciones de medias para la Interacción	55
4.3. Concentración inhibitoria Media (CL ₅₀).....	58
5. CONCLUSIONES.....	60
6. REFERENCIAS.....	61

7. Anexo 1.....	70
8. Anexo 2.....	71
9. Anexo 3.	73

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Coordenadas geográficas de los sitios de recolecta, tipo de tejido y rendimiento del extracto metanólico de las especies de <i>Opuntia</i>	36
Cuadro 2. Coordenadas geográficas de los sitios de recolecta, tipo de tejido y rendimiento del extracto de las especies de estudio.....	37
Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza de la inhibición de dos cepas del hongo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> por los extractos de <i>Opuntia ficus-indica</i> a seis concentraciones en dos condiciones de propagación.....	41
Cuadro 4. Porcentaje de inhibición de dos cepas del hongo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> por los extractos de <i>Opuntia ficus-indica</i> en dos condiciones de propagación.....	42
Cuadro 5. Porcentaje de inhibición de dos cepas del hongo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> por los extractos de <i>Opuntia ficus-indica</i> a seis concentraciones en dos condiciones de propagación.....	44
Cuadro 6. Comparación de medias del porcentaje de inhibición de dos cepas del hongo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> de los extractos de <i>Opuntia ficus-indica</i> a seis concentraciones en dos condiciones de propagación.....	47
Cuadro 7. Rendimiento de extractos vegetales de <i>Phytolacca icosandra</i> , <i>Arundo donax</i> y <i>Sida acuta</i>	49
Cuadro 8. Cuadrados medios del análisis de varianza de la inhibición de dos cepas del hongo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> por los extractos de <i>Phytolacca icosandra</i> , <i>Arundo donax</i> y <i>Sida acuta</i> en dos condiciones de propagación.....	50
Cuadro 9. Porcentaje de inhibición de dos cepas del hongo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> por los extractos de <i>Phytolacca icosandra</i> , <i>Arundo donax</i> y <i>Sida acuta</i> en dos condiciones de propagación.....	51
Cuadro 10. Porcentaje de inhibición de dos cepas del hongo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> por los extractos de <i>Phytolacca icosandra</i> , <i>Arundo donax</i> y <i>Sida</i>	

<i>acuta</i> a seis concentraciones en dos condiciones de propagación.....	53
--	----

Cuadro 11. Comparación de medias del porcentaje de inhibición de dos cepas del hongo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> por los extractos de <i>Phytolacca icosandra</i> , <i>Arundo donax</i> y <i>Sida acuta</i> a seis concentraciones en dos condiciones de propagación.....	56
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico de Antracnosis causada por <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> y <i>Glomerella cingulata</i>	11
--	----

Figura 2: Conidios (A) y apresorios (B) presentes en las cepas de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	32
---	----

Figura 3: Cepas de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> aisladas de <i>Carica papaya</i> ; A) Cepa Gris, B) Conidios de la cepa gris, C) Cepa Rosa, D) Conidios de la cepa rosa.....	33
---	----

Figura 4: Proceso de aislamiento, propagación del hongo <i>C. gloeosporioides</i>	34
---	----

Figura 5: Obtención del inóculo.....	35
--------------------------------------	----

Figura 7. Metodología para la obtención de las Cepas de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	35
---	----

Figura 8. Metodología para la elaboración de los extractos con el material vegetal en seco.....	36
---	----

Figura 9. Concentración Inhibitoria Media (CI ₅₀) de los extractos de <i>P. icosandra</i> en dos condiciones de propagación y dos cepas de <i>C. gloeosporioides</i>	58
--	----

Figura 10. Recuento de los 5 cuadros grandes de la cámara de Neubauer.....	71
--	----

EXTRACTOS VEGETALES DE *Opuntia ficus-indica*, *Phytolacca icosandra*,
Arundo donax y *Sida acuta* PARA EL CONTROL IN VITRO DE *Colletotrichum*
gloeosporioides

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad el control químico es el método de control de patógenos más generalizado en la agricultura. Por décadas, el hombre ha hecho un uso excesivo de estos productos con la finalidad de mantener sanidad en sus cultivos e incrementar los rendimientos en sus cosechas; sin embargo el uso indiscriminado de estos agroquímicos en los últimos años ha provocado problemas como: contaminación de mantos acuíferos, degradación de suelos, resistencia de los organismos plaga a los plaguicidas, y aún más importante ha generado enfermedades crónicas en la salud humana. Por ello, la conciencia ecológica se ha volcado hacia el uso de otras alternativas en el combate de plagas agrícolas como el control biológico, el cual se fundamenta en el uso de enemigos naturales tales como hongos, bacterias y la aplicación de extractos vegetales. Los beneficios ecológicos del uso de extractos vegetales para el combate de plagas en el proceso de producción agrícola son muchos, ya que son biodegradables, por lo tanto, no permanecen en el suelo, no causan daños en los mantos acuíferos y sobre todo no son perjudiciales al ser humano.

Grainge y Ahmed (1998) mencionan que se conocen aproximadamente 2 400 especies vegetales con propiedades fungicidas, nematocidas, bactericidas e insecticidas; de las cuales aproximadamente 400 presentan propiedad fungicida contra 142 diferentes especies de hongos fitopatógenos. Sin embargo, las familias con mayor potencial fungicida son: Apiaceae, Asteraceae, Cactaceae, Brassicaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Ranunculaceae y Rosaceae, entre otras. Sin embargo, en la amplia biodiversidad de especies vegetales descrita, existen otras que merecen ser valorados como productos fitosanitarios por sus principios activos con acción antimicrobiana, entre ellas: *Opuntia ficus-indica*, *Phytolacca icosandra*, *Arundo donax* y *Sida acuta*, es importante mencionar que

pocos estudios de sus efectos tóxicos contra organismos fitopatógenos se han realizado.

Entre los hongos fitopatógenos con importancia económica por el daño que causan a diversos cultivos es el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, el cual genera la enfermedad conocida como antracnosis. Se estima que entre el 10 y 40 % del volumen producido se pierde en postcosecha debido a la alta incidencia de antracnosis en los frutos y por daños mecánicos en su manipulación, con las consecuentes pérdidas económicas para el productor. La enfermedad tiene distribución mundial, especialmente en áreas húmedas y cálidas en donde bajo condiciones favorables para el crecimiento del hongo, los tejidos afectados se cubren con masas de esporas de color rosado (Menezes y Hanlin, 1996). La antracnosis se caracteriza por atacar los brotes y hojas jóvenes, así como las flores y frutos pequeños ocasionando pérdidas hasta el 60 % en la producción de fruta. Los síntomas de daño son la aparición de manchas oscuras en la hojas, flores y pedúnculos, aunque los frutos pueden ser afectados en la etapa de cuajado, o con daños antes de llegar a la madurez (Arias y Carrizales, 2007).

El control de esta enfermedad pre y postcosecha se ha realizado mediante la aplicación de plaguicidas sintéticos que pueden ocasionar resistencia en el patógeno, así como daños a la salud y/o al ambiente, deteriorando en ocasiones la calidad del producto con manchas, olores y sabores desagradables. El control biológico con microorganismos antagonistas y plantas con propiedades antimicrobianas ha sido una opción poco explorada (Bowers y Locke, 2000). Actualmente, se considera el uso de extractos vegetales con propiedades fungicidas o fungiestáticas son una alternativa para el control de antracnosis debido a que éstos no generan resistencia, son biodegradables y no contaminan (Regnault-Roger *et al.*, 2004). Los estudios de la actividad fungicida de los extractos vegetales y fitoquímicos se ha intensificado debido a la demanda de alimentos orgánicos y a las exigencias actuales de la defensa fitosanitaria de los productos hortícolas (Regnault-Roger *et al.*, 2004).

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad fungicida de extractos de la cáscara de tuna (*Opuntia ficus-indica*), *Phytolacca icosandra* L., *Arundo donax* L. y *Sida acuta* Burma contra *Colletotrichum gloeosporioides in vitro*.

1.1.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Aislar, identificar, purificar y propagar cultivo monospórico del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Preparar los extractos orgánicos de la cáscara de *Opuntia ficus indica*
- Preparar el extracto metanólico de *Arundo donax* y de *Sida acuta*
- Preparar el extracto hexánico de *Phytolacca icosandra*
- Evaluar *in vitro* la actividad de los extractos para control del desarrollo del hongo *C. gloeosporioides*

1.2. HIPÓTESIS

Los extractos *Opuntia ficus-indica*, *Phytolacca icosandra*, *Arundo donax* y *Sida acuta* inhibirán el crecimiento del hongo *Colletotrichum gloeosporioides in vitro*, pero debido a la diferente composición química de sus extractos, algunas especies tendrán un efecto fugistático.

2. MARCO TEÓRICO

En los primeros años del Siglo XXI, las proyecciones sobre el incremento poblacional indicaron que en las décadas venideras habría la necesidad de producir más y mejores alimentos para satisfacer la demanda mundial. Sin embargo, este reto es amenazado por las plagas, que representan un serio problema para los agricultores, reduciendo su rentabilidad y competitividad. Actualmente existe evidencia de que el uso irracional de plaguicidas para controlar las plagas puede generar serios problemas relacionados con el medio ambiente o la salud de las personas. Por esta razón, instituciones realizan trabajos de investigación para encontrar métodos alternativos para el control de plagas (Grainge y Ahmed, 1998).

Los pesticidas sintetizados químicamente se han utilizado con mucho éxito para el control de las enfermedades en plantas; sin embargo, en años recientes la excesiva contaminación debido al uso irracional de estos compuestos ha traído como consecuencia serios problemas ambientales y sociales (Wijesinghe *et al.*, 2011); a pesar de esto, el uso de plaguicidas y el control de plagas y enfermedades son necesarios para mantener la producción de alimentos considerando que la población en el mundo se incrementa a una tasa media de 1.1% cada año (Wang y Liu, 2007), este crecimiento demanda un aumento en la producción de los cultivos; sin embargo, la superficie de suelo destinada a estos es cada vez más limitada (Wijesinghe *et al.*, 2011).

Para mantener la productividad, fue necesario producir en el año 2000, tres millones de toneladas de ingredientes activos (Tilman *et al.*, 2002). Brasil es el tercer consumidor más importante de plaguicidas a nivel mundial, tan solo en el año 2001 se aplicaron 300 millones de toneladas de productos formulados, ocupando el octavo lugar a nivel mundial en uso de plaguicidas por hectárea (Fairbanks, 2001). En este país se reportan oficialmente 5 000 casos anualmente de envenenamiento por exposición a plaguicidas, siendo esta la primera causa de muertes por intoxicaciones (SINITOX, 2004). La falta de un sistema de regulación efectiva, deficiencias en el etiquetado de los productos,

analfabetismo e insuficiente conocimiento acerca de los riesgos así como el alto costo de los equipos de protección son las causas de las altas tasas de exposición a pesticidas en los países en desarrollo (Maumbe y Swinton, 2003).

Con esta problemática de fondo se han desarrollado diversas alternativas de control de enfermedades que reduzcan el riesgo a la salud humana, contaminación ambiental y que disminuyan el riesgo de residuos químicos peligrosos a lo largo de la cadena de producción y comercialización de alimentos (Singh *et al.*, 2007).

El control biológico de enfermedades en frutos ha mostrado ser prometedor en años recientes. Los antagonistas han sido empleados en frutos de uva (Dubos, 1984), fresas (Güedez *et al.*, 2009), piña (Lim y Rohrbach, 1980), cítricos (Singh, 1980), manzanas, banano (Golam y Ilagh, 1999). Un organismo ampliamente usado para el biocontrol de las enfermedades de las plantas es el hongo del género *Trichoderma* que ha sido usado de manera comercial en contra de patógenos de plantas. Los mecanismos responsables de la actividad antimicrobiana de *Trichoderma* son el parasitismo y competencia por espacio y nutrientes (Sivakumar, 2002), adicionalmente este género de hongo es capaz de sintetizar diferentes compuestos antagonistas como son proteínas, enzimas y antibióticos lo cual incrementa la capacidad de control de hongos fitopatógenos (Al-Taweil *et al.*, 2009).

Una de las alternativas que se han estudiado con resultados prometedores, se basa en el hecho que las plantas elaboran metabolitos secundarios, con la finalidad de disminuir el ataque de parásitos y depredadores naturales. Estos compuestos se caracterizan por ser inocuos para el humano y se consideran como “fungicidas naturales” (Hopkins, 1999).

Los extractos y aceites esenciales de diversas especies de plantas tienen propiedades antimicrobiales, afectando el desarrollo de hongos tanto *in vitro* como *in vivo* de productos hortícolas (Molina *et al.*, 2010). Una de estas

especies es *Thymus vulgaris* L. (Lamiales: lamiaceae), comúnmente conocida como tomillo, cuyo aceite esencial tiene actividad antibacterial y antifúngica sobre varios microorganismos patógenos (Yang y Clausen, 2007). Molina *et al.* (2010) encontró que este aceite a 0.15 % y aceite esencial de limón mexicano a 0.14 % redujeron la enfermedad en un 50 %, comparado con el testigo que presentó 100 % de infección cuando los frutos fueron inoculados después de la aplicación del tratamiento. Extractos de eucalipto y cocoite (*Gliricidia sepium*) fueron probados exitosamente contra *Colletotrichum* spp. y *R. solani* (Loaiza y Rivera, 2000).

Uno de los compuestos azufrados ampliamente estudiados son los sulfuros orgánicos, los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en las especies de *Allium*. En el caso del ajo, el sabor se debe a la presencia de estos compuestos. Ellos son inmediatamente reconocidos por su olor pungente y sus propiedades lacrimógenas. Probablemente se encuentran en los tejidos intactos como aminoácidos sulfurados. Entre ellos se puede mencionar a la aliína y alicina. Este último ha sido aislado en estado puro como un líquido incoloro que contiene aproximadamente un 4 % de azufre en su molécula. Se ha demostrado también su actividad antibacteriana y antifúngica (Cavallito y Bailey, 1994; Bianchi *et al.*, 1997; Montes *et al.*, 1990; Baños, 2004).

Otras especies vegetales producen metabolitos secundarios los cuales juegan un papel importante en la introducción de los mecanismos de defensa del hospedero contra fitopatógenos (Mihaliak *et al.*, 1991). Se ha demostrado que los aceites esenciales y sus compuestos tienen un efecto fungicida (Meepagala *et al.*, 2002), son inocuos para el medio ambiente y para los consumidores, sin embargo son efectivos para el control de enfermedades postcosecha.

2.1. Hongos Fitopatógenos

Entre los hongos fitopatógenos con importancia económica por el daño que causan a diversos cultivos, se encuentran: *Alternaria solani* ocasiona la descomposición de hortalizas y frutos frescos antes y después de la cosecha; *Fusarium oxysporum* que perjudica a cultivos como sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), maíz (*Zea mays* L.), algodón (*Gossypium hirsutum* L.) y alfalfa (*Medicago sativa* L.), así como a árboles frutales y forestales; *Penicillium* spp., causa las pudriciones más comunes y a menudo las más destructivas en postcosecha; *Monilia fructicola* que provoca la pudrición café de frutos con semillas grandes; *Botrytis cinérea* que ocasiona la pudrición en frutos como fresa (*Fragaria xananassa* Duch) (Ibarra et al., 2009); *Botryodiplodia theobromae* es responsable de severas pudriciones en mamey, guayaba (*Psidium guava*), mango (*Mangifera indica*), cítricos (*Citrus* sp), litchi (*Litchi chinensis*) y guanábana (*Annona muricata*); *Trichoderma harzianum*, hongo oportunista cuya acción deriva en pérdidas en postcosecha y presenta resistencia innata a muchos agroquímicos, como a los fungicidas (Martínez et al., 2008).

En la mayoría de los países productores de papaya la incidencia de las enfermedades postcosecha presenta valores altos cuando se aplican medidas de combate deficientes o nulas. Tal fue el caso de Brasil donde el 100 % de los frutos presentó enfermedades fungosas, en comparación con valores del 25 al 50 % en el caso de la fruta tratada con diversos productos fungicidas (Bolkan, 1976).

Colletotrichum gloeosporioides es un hongo fitopatógeno de gran importancia ya que infecta un amplio rango de hospedantes (Manners et al., 1992), entre ellos mango (*Mangifera indica* L.), papaya (*Carica papaya*), banano (*Musa paradisiaca* L.) Soja (*Glycine max* L.), chirimoya (*Annona cherimola* Mill.), flores como violetas (*Viola odorata* L.), orquídeas (*orchidaceae*) de diferentes géneros y especies, lluvia de oro (*Cassia fistula* L.), carambola (*Averrhoa*

carambola L.), aguacate (*Persea americana* Mill.), Menta (*Menta piperita* L.), gandul (*Cajanus cajan* L.), la fresa (*Fragaria vesca* L.), la manzana (*Malus domestica* Borkh), la almendra (*Prunus dulcis* Mill.), la lenteja (*Lens culinaris* Medik), el algodón (*Gossipium hirsutum* L.), el café (*Coffea arabica* L.), entre otras plantas (Lenné, 1992).

2.2. *Colletotrichum gloeosporioides*

Entre las especies más agresivas pertenecientes a este género (Bailey y Jeger, 1992) se pueden destacar a *C. gloeosporioides*, éste es un patógeno de una amplia variedad de frutas; *C. acutatum* Simmonds patógeno presente en almendras, aguacates, mangos, melocotones cítricos, uvas y fresas; *C. coccodes* (Wallr.) Hughes, éste hongo ataca principalmente a pimientos, patatas y tomates; *C. kahawae* Waller y Bridge es el agente causal de la antracnosis de los bananos y plátanos, así como otras especies con múltiples especies como *C. lindemuthianum* (Sacc. y Mag.), *C. capsici* (Sidow) Butler et Bisby, *C. dematium* (Pers.) Grove, *C. graminícola* (Ces,) Wils. y *C. truncatum* (Schwein.) v. Arx.

2.2.1. Clasificación taxonómica

C. gloeosporioides es el estado imperfecto de *Glomerella cingulata* (teleomorfo *Glomerella*) (Sutton, 1992). Su clasificación taxonómica según Agrios (1995) es la siguiente:

Reino: Mycetae o Fungi

División: Eumycota

Subdivisión: Deuteromycotina

Clase: Coelomycetes

Orden: Melanconiales

Género: *Colletotrichum*

Especie: *C. gloeosporioides*

Los hongos del género *Colletotrichum* causantes de la antracnosis constituyen un interesante campo de estudio, y su ámbito más frecuente en que encuentra mayor riqueza, es el que tiene que ver con su papel de patógeno de plantas (Correa *et al.*, 2007). Este género es considerado como uno de los más importantes en la agricultura debido a la diversidad de especies vegetales que pueden ser afectadas y la magnitud de los daños ocasionados sobre las plantas (Femenía, 2007).

Es uno de los hongos más importantes causantes de pudriciones de los frutos en postcosecha (Bolkan *et al.*, 1976). Parte de su importancia radica en que afecta flores, frutos tanto en árboles en desarrollo como en producción, y los frutos pueden ser afectados en cualquier etapa de crecimiento. Bolkan *et al.* (1976) reportaron que *C. gloeosporioides* fue aislado de frutos de papaya inmaduros y maduros, en porcentajes de 40 y 89 %, respectivamente, demostrando que este microorganismo está presente en las distintas etapas de desarrollo del fruto y en porcentajes considerables. Desde el punto de vista económico, este hongo causa elevadas pérdidas al sector agrícola de todo el mundo (Martínez y Estrada, 1994; Leroux, 2003).

2.2.2. Antracnosis

La antracnosis es una enfermedad que genera el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, el microorganismo en la naturaleza vive de la materia, ataca tejidos muy jóvenes o tejidos muy viejos y físicamente débiles de vegetales. Los ataques más severos a los frutos ocurren cuando coinciden el estado más susceptible de cultivo (floración o fructificación) con un tiempo lluvioso y días de permanente humedad relativa, mayor del 90 %. Las fuentes del inóculo se encuentran en las hojas, ramas, inflorescencias, brácteas de las flores y en los frutos, en términos generales en todo el árbol (Alarcón y Chavarriaga, 2007).

La antracnosis es una enfermedad común y destructiva, tiene distribución mundial especialmente en áreas húmedas y cálidas, en donde bajo condiciones favorables, los tejidos afectados se cubren con masas de esporas de color

rosado (Menezes-Morales y Hanlin, 1996). La mayor incidencia de la enfermedad se presenta en las áreas tropicales y subtropicales del planeta, debido a las condiciones ambientales de estas regiones, con temperaturas que van desde medias a altas, lluvias frecuentes y una humedad relativa significativa, que favorecen la dispersión y el desarrollo del patógeno (Menezes-Morales y Hanlin, 1996).

El método más empleado para el control de esta enfermedad es la aplicación de fungicidas sintéticos; sin embargo, el uso de químicos en la fruticultura ha sido restringido en muchos países (Serrano *et al.*, 2005; Dayan *et al.*, 2009). Así, los países consumidores demandan productos agrícolas sin residuos de pesticidas (Cutler y Cutler, 1999; Serrano *et al.*, 2005). Además, los plaguicidas pueden afectar las poblaciones de diversos organismos benéficos, y sus formas tóxicas pueden persistir en el suelo. Asimismo se puede incrementar la resistencia de patógenos hacia los químicos sintéticos (Cakir *et al.*, 2005).

2.2.3. Proceso de infección

El proceso de infección de *C. gloeosporioides* se inicia con el contacto del hongo y el fruto, sin ser necesaria la presencia de una herida para facilitar la entrada del hongo. El inóculo puede tener su origen en plantas enfermas (hojas flores y frutos). Por medio de la lluvia (salpicadura) y el viento, las esporas son transportadas hasta los frutos que se encuentren en desarrollo (Chau y Álvarez, 1983). Uno de los conidios se establece en la superficie del fruto y germinan si la humedad relativa es cercana al 100 % y si la temperatura oscila entre 25 y 29 °C, entonces el hongo produce una enzima llamada cutinasa, la cual es esencial en la penetración del tejido verde del fruto de papaya. Después de varias horas, el tubo germinativo se alarga y la punta se hincha para formar una estructura conocida como apresorio, el cual mantiene al hongo firmemente unido al fruto. El crecimiento fúngico se detiene y posiblemente una hifa subcuticular permanece temporalmente inactiva, hasta que el fruto madura (Binyamini y Schiffmann-Nadel, 1971).

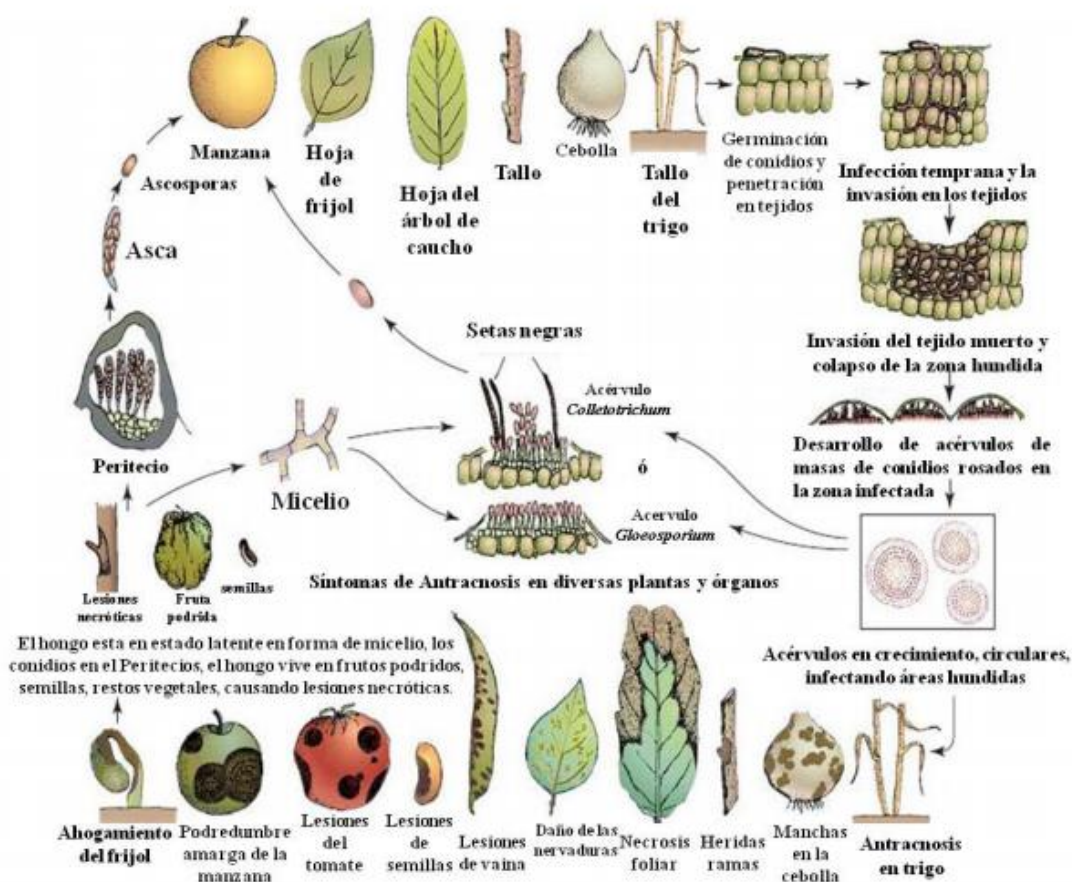


Figura 1. Ciclo biológico de Antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* y *Glomerella cingulata* (Agrios, 2002).

Usualmente este microorganismo se adquiere cuando el fruto está en la fase inmadura, y permanece en forma quiescente o latente (inactivo por un tiempo, pero con capacidad de reactivarse posteriormente unido a la epidermis por medio del apresorio y de la hifa subcuticular) y la reactivación se manifiesta principalmente en la etapa de postcosecha, cuando el fruto ingresa en la etapa climatérica o de maduración, es decir, cuando las condiciones de temperatura, humedad y nutrimentos son adecuadas para la germinación de esporas y el desarrollo micelial, ya que en esta etapa numerosas enzimas degradan los carbohidratos presentes en el fruto, transformándolos en azúcares sencillos y ácidos orgánicos, necesarios para la nutrición y desarrollo del hongo. De tal forma que las hifas subcuticulares que habían permanecido inactivas o

quiescentes, vuelven a estimularse y se ramifican a través del tejido hospedero, al que invade rápidamente, produciendo los síntomas típicos de la antracnosis (Verhoeff, 1974).

El desarrollo de la antracnosis se presenta también en el fruto en anaquel, favorecido por el mal manejo que se le da a la fruta antes, durante y después de la cosecha (Arauz y Mora, 1983).

2.2.4. Sintomatología

C. gloeosporioides es un patógeno de gran importancia ya que infecta un amplio rango de hospedantes (Manners *et al.*, 1992). La enfermedad causada por las diferentes especies del género *Colletotrichum* se manifiesta por la aparición de manchas oscuras en hojas y frutos, con formas redondeadas u ovaladas, con tamaños variables que pueden oscilar entre un diámetro de 1 ó 2 mm hasta 5 cm; en algunas ocasiones, las lesiones se presentan ligeramente sumidas o poseen un contorno levemente elevado (Morales, 1997).

En general, las lesiones producidas por la antracnosis se presentan con tonalidades negras o marrones; en otras ocasiones, la infección aparece con coloración que va del rojo ladrillo al púrpura, y posteriormente cambian hacia coloraciones pardas oscuras, hasta adquirir tonalidades muy negras. El nombre de antracnosis hace alusión al aspecto visual de las manchas necróticas hundidas. Es muy común observar en los centros de las lesiones más antiguas algunas masas de esporas de color rosa o salmón (Rivera, 1991).

En algunos vegetales, la enfermedad produce una disminución significativa del área foliar, que conlleva un debilitamiento de las plantas por reducción de la capacidad fotosintética. Los ataques a las inflorescencias y a los frutos en formación ocasionan su caída prematura, lo que conduce a una disminución de la productividad; los brotes tiernos y los tallos en formación de las plantas adultas y jóvenes son afectados drásticamente. El ataque ocasiona, en muchos casos, la muerte del huésped; este hecho es muy importante en los viveros,

donde se presentan pérdidas significativas de las plántulas destinadas al trasplante. Los efectos de la enfermedad se ven incrementados por la tendencia del patógeno a causar daños en los frutos durante los procesos de postcosecha; este estudio de la enfermedad afecta en gran medida a todos los frutos destinados a la exportación y aquéllos que son almacenados para su posterior comercialización o consumo (Castro y Restrepo, 2004).

2.2.5. Especies frutales afectadas con antracnosis

En cuanto a las especies frutales con reportes de infecciones quiescentes causadas por *Colletotrichum gloeosporioides* se tiene: aguacate, cítricos, mango, papaya, maracuyá y guayaba. Este hongo que causa la antracnosis ataca hojas y frutos formando en el follaje lesiones que se presentan como manchas necróticas concéntricas de color negro a lo largo de las nervaduras siendo más conspicuas en el envés; las lesiones en los frutos aparecen ligeramente hundidas de color negro y bien definidas (Alarcón y Chavarriaga, 2007).

El papayo es uno de los frutales más cultivados en los países tropicales, debido a que es una planta de producción rápida y corto período de reembolso. Otro aspecto que ha contribuido a la expansión de este cultivo en los últimos años, ha sido el incremento de la demanda, motivada por su valor alimenticio (Ramos, 2002). Su producción se ha extendido en diversos países tropicales y subtropicales del mundo, como son India, Brasil, Nigeria, Indonesia, México, Filipinas, Tailandia, China y Congo. En 2011, México ocupó el primer lugar como país exportador, seguido por Belice y Guatemala, y quinto como productor mundial (FAOSTAT, 2011). En general, en todos los países donde se cultiva la papaya existen elevadas pérdidas postcosecha debido al daño por numerosas enfermedades, o combinadas con manejo y empaque ineficiente de los frutos. Desde 1978, la Academia Nacional de Ciencia de los Estados Unidos estimó que el intervalo de pérdidas postcosecha de papaya en todo el mundo era de 40-100 % (NAS, 1978). De acuerdo a algunos reportes, Hawaii ha presentado pérdidas del 75 % (Paul *et al.*, 1997), Brasil más del 50 % (Bolkan *et*

al., 1976), Pakistán 35 % (Pantastico, 1979), Costa Rica del 33 %, Filipinas del 20-26 %, y Taiwan 24 % (Paul *et al.*, 1997).

El fruto es muy susceptible a diversas enfermedades ocasionadas por hongos, entre ellos *C. gloeosporioides*, que provoca antracnosis en hojas y frutos, ocasionando elevadas pérdidas económicas. A nivel internacional las pérdidas postcosecha han sido reportadas desde un 1% hasta un 93%, dependiendo del manejo que se le dé a los frutos y a los procedimientos de empaque y comercialización (Pantastico, 1979). En México no existen reportes sobre pérdidas postcosecha de papaya ocasionada por microorganismos; sin embargo, se sabe que en el Estado de Veracruz, específicamente en el municipio de Alto Lucero, las pérdidas varían en relación a la época del año. En los meses de febrero a mayo cuando la temperatura es elevada y las precipitaciones bajas, las pérdidas postcosecha oscilan entre 10 y 15 %; por el contrario, en los meses de junio a septiembre, cuando la temperatura y precipitaciones son elevadas, las pérdidas son de hasta un 75 %.

2.2.6. Control de antracnosis

Una alternativa de control amigable con el ambiente es el uso de hongos antagonistas debido a que su acción puede ser aprovechada como una forma de control biológico de patógenos. Entre los microorganismos más importantes se encuentran los hongos de los géneros *Penicillium oxalicum* Corrie and Thom, *Gliocladium viride* Matruchot, *Gliocladium roseum* Bainier, *Trichoderma harzianum* Rifai y *Cladosporium* sp. (Fernández-Larrea, 2001). *T. harzianum*, es el antagonista más utilizado para el control de enfermedades producidos por hongos fitopatógenos como *Phytophthora capsici* (Leo.), *Rhizoctonia solani* (Kühn), *Sclerotium rolfsii* (Sacc.), *A. alternata*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli* (Sacc.), *Verticillium dahliae* (Kleb) y *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Trichoderma* desplaza al hongo fitopatógeno: por competencia directa, espacio o nutrientes, parasitismo directo con metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas a los que

se atribuyen cambios estructurales a nivel celular, tales como la desintegración del citoplasma y lisis celular (Ezziyyani *et al.*, 2005).

Entre las diversas alternativas el uso de productos de origen vegetal, el uso de aceites esenciales que son biodegradables ha llamado la atención de científicos alrededor del mundo. Los productos de origen vegetal además de ser económicos y seguros ambientalmente, han demostrado ser eficaces para el control de enfermedades postcosecha, por lo que se consideran candidatos ideales para su uso como agroquímicos (Macias *et al.*, 1997). Recientemente se encontró que los aceites esenciales de hierba de limón (*Cymbopogon citratus* Stapf) y canela (*Cinnamomum zeylanicum* J. Presl) tienen propiedades antifúngicas en contra de *Colletotrichum musae* (Berk. et Curt.) en bananas (Maqbool *et al.*, 2010).

El aceite esencial de limón (*Citrus lemon*) (L.) Burm. f. (pro. sp.) contiene diversos compuestos, entre ellos el citral y el limoneno, compuestos que pertenecen a la familia de los terpenos y se ha demostrado que tienen actividad fungitóxica (Misra *et al.*, 1988). Los extractos de hojas de limón y papaya han sido utilizados para el control de otros hongos postcosecha, como son *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Pestalotiopsis* spp. y *Rhizopus* spp. Bautista *et al.* (2002) observaron que el extracto de hoja de limón inhibió completamente el desarrollo de *C. gloeosporioides in vitro*. Otro cítrico utilizado para el control de este hongo fue la toronja, de la cual se emplearon las semillas, demostrándose una reducción significativa de la infección en *Passiflora mollissima* (Bailey) (Cáceres *et al.*, 1998).

La canela ha sido otras de las especies vegetales comprobadas con efecto antimicrobial (Goñi *et al.*, 2009). Nikos (2007) encontró que frutos de tomate tratados con vapor de aceite de canela mantuvieron su firmeza durante la exposición, además los niveles de sólidos solubles totales fueron estimulados. El mismo autor (2009) encontró que el aceite de canela logró reducir el desarrollo de colonias de *C. coccodes*, *B. cinerea*, *Cladosporium herbarum*

Pers., *R. stolonifer* y *Aspergillus niger*. La germinación conidial y el crecimiento micelial también fueron inhibidos completamente usando extracto de la misma especie sobre *C. musae*, *Fusarium* sp. y *Lasioidiplodia theobromae* Pat. Griffon y Maubl (Kyu *et al.*, 2007).

Uno de los compuestos azufrados ampliamente estudiados son los sulfuros orgánicos, los cuales se encuentran distribuidos en las especies de *Allium*, entre ellos se puede mencionar a la alicína, este ha sido aislado en estado puro como un líquido incoloro que contiene aproximadamente un 4 % de azufre en su molécula. Se ha demostrado también su actividad antibacteriana y antifúngica (Cavallito y Bailey, 1994; Bianchi *et al.*, 1997; Montes *et al.*, 1990; Reyes, 1996; Baños *et al.*, 2004).

En un estudio en donde se empleó extracto de ajo (*Allium sativum* L.) *in vitro*, se encontró que este tuvo un amplio espectro de acción contra los 14 hongos que se probaron. Asimismo, *C. gloeosporioides* fue controlado por este extracto, manteniendo sanos hasta un 65.2 % de frutos de aguacate (Reyes, 1996). En estudios realizados por Baños *et al.* (2004) se evidenció que extractos de ajo y eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) redujeron la severidad de la antracnosis en frutos de papaya en un 45 y 41.7% respectivamente. Bianchi *et al.* (1997) observaron que los extractos de bulbo de ajo inhibieron en un 80 % el crecimiento micelial de *C. lindemuthianum* (Sacc. y Mag.).

Los extractos de hojas de limón y papaya han sido utilizados para el control de otros hongos postcosecha, como son *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Pestalotiopsis* spp. y *Rhizopus* spp. El extracto de hoja de *C. papaya* inhibió *in vitro* completamente las pudriciones ocasionadas por *C. gloeosporioides*. En Colombia se evaluó el efecto fungicida de *C. papaya* sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, utilizando como adherente el aceite de ricino, los autores encontraron que hubo respuestas de sensibilidad al hongo (Marín *et al.*, 2006).

Al respecto, Regnault-Roger *et al.* (2004) señalan que la importancia de la búsqueda de plaguicidas naturales es justificada, principalmente en aquellas especies vegetales que han sido poco estudiadas o en aquellas que se encuentran en peligro de extinción. Sin embargo, el cambio climático ha producido numerosos cambios en la distribución y abundancia de las especies vegetales y los escenarios futuros predicen, entre otras, el riesgo de la extinción de algunas plantas (Thomas *et al.*, 2004). Esto significa una pérdida del potencial que representa el conocimiento de sus metabolitos con propiedades insecticidas. Por lo que existe la necesidad de evaluar la actividad biológica de plantas con la finalidad de identificar los principios activos en beneficio del hombre, particularmente sobre todo aquellas que no han sido estudiadas, entre las que se podría considerar *Opuntia ficus-indica*, *Phytolacca icosandra*, *Arundo donax* y *Sida acuta*. El extracto de la cáscara de tuna (*Opuntia* sp.) inhibió significativamente el crecimiento de *E. coli* y *Salmonella typhi*. (Serrano-Rojero., 2007) Los extractos de *Phytolacca icosandra*, *Arundo donax* y *Sida acuta* presentaron efecto tóxico contra mosquita (Ángeles *et al.*, 2011), sin embargo, no ha sido evaluado el efecto en el control de *C. gloeosporioides* de los extractos de estas especies.

2.3. Características generales de *Opuntia ficus-indica*

2.3.1. Origen y clasificación taxonómica

Su distribución se presenta desde Canadá hasta Argentina, en México se concentra una amplia diversidad genética, por lo que se ha considerado el centro de origen y diversificación más importante del género *Opuntia* (Bravo, 1978; Bravo-Hollis y Scheinvar, 1999). Diferentes especies de nopal han evolucionado particularmente en las zonas áridas de América donde el aprovechamiento se realizaba por recolección, para luego establecer plantaciones de tipos sobresalientes y seleccionando los ejemplares más sobresalientes favoreciendo el origen de híbridos (Granados y Castañeda, 1991; Griffith, 2004).

En México se encuentra la mayor riqueza de especies y cultivares de nopal (*Opuntia* sp.) del mundo, debido a ello, México es considerado uno de los dos centros de origen y dispersión del género, el otro está en Sudamérica. Existen evidencias de que los nopales tuneros fueron cultivados desde 500 (a. C.) en Tehuacán, México. En nuestro país es común encontrarlo en las planicies áridas del centro y norte del país, creciendo en diferentes climas, suelos, altitudes y tipos de vegetación; también se ha reportado su existencia en climas subtropicales y tropicales. Sin embargo, en las zonas semiáridas existe la variación más amplia, por lo que algunos botánicos consideran las zonas semiáridas como el centro de origen de los nopales (Ochoa y Guerrero, 2011).

En México, por nopales se identifican como plantas de la familia *Cactaceae* de los subgéneros *Opuntia* y *Nopalea*; sin embargo, las especies de nopal tunero de importancia económica se ubican dentro del primero, ya que dentro *Nopalea* se cuenta únicamente con diez especies, de las que sólo una se utiliza como verdura (*Nopalea lutea*) (Pimienta, 1999).

De las especies de nopal tunero que son sujetas de cultivo, solamente un número reducido, se encuentran bien identificadas, tales como *Opuntia albicarpa*, *Opuntia ficus-indica* y *Opuntia megacantha*. El nopal tunero fue llevado por los colonizadores españoles a Europa y de allí se introdujo a distintas partes del mundo; ahora se le encuentra en condición cultivada y silvestre en España, Portugal, Italia, Argelia, Marruecos, Túnez, Grecia, Israel, Australia, Sudáfrica, Brasil, Argentina, Colombia y Estados Unidos. En algunos países, como Australia, Colombia y Sudáfrica, ha mostrado tan excelente adaptación que es considerada como maleza nociva (Pimienta, 1999).

A la fecha se reconocen 189 especies, de las cuales 83 se localizan en nuestro país; pero se han documentado alrededor de 144 variantes nuevas con características agronómicamente apreciadas, pero que no se han clasificado por falta de descriptores morfológicos distintivos (Reyes-Agüero *et al.*, 2005).

La taxonomía del género se ha reportado complicada debido a que existe una gran sinonimia y porque en la actualidad estas plantas continúan cambiando y por lo tanto en proceso de diferenciación; esto repercute en la semejanza de caracteres entre genotipos que interfieren en la separación adecuada de las especies (Bravo, 1978).

La clasificación es la siguiente:

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Caryophyllidae

Orden: Caryophyllales

Familia: Cactaceae

Subfamilia: Opuntioideae

Tribu: Opuntieae

Género: *Opuntia*

Subgénero: *Opuntia*

Especie: *O. ficus-indica* (L.) Miller

2.3.2. Distribución en México

Actualmente, la producción de tuna en nuestro país ya no se restringe únicamente a las zonas áridas y semiáridas, sino que debido a la amplia adaptación que presenta este género se encuentra extensamente distribuido en una gran variedad de zonas con condiciones edafológicas y climáticas. Los estados que producen tuna, se pueden agrupar en dos grandes regiones que son templadas, en la región centro norte (Zacatecas, San Luis Potosí, Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro y Jalisco) y la región centro-sur (Estado de México, Puebla, Tlaxcala e Hidalgo). Además de estas zonas se tienen

registradas plantaciones en diferentes estados como: Durango, Coahuila, Nuevo León, Oaxaca, Veracruz, Tamaulipas, Morelos, Michoacán, Baja California Norte y Baja California Sur, entre otros (Granados y Castañeda, 1991; Griffith, 2004).

2.3.3. Descripción botánica

Planta arbustiva de la familia de las cactáceas. Como la mayoría de los miembros de este género carece de hojas nomofilas, los segmentos o cladodios en que se divide, son tallos capaces de ramificarse, emitiendo flores y frutos. Estos tallos son planos, ovales y de color verde medio. Poseen dos clases de espinas, reunidas en los gloquidios (especie de cojincillos) de las areolas, unas largas y duras, y otras cortas y finas con aspecto veloso.

Las flores, en forma de corona, nacen de las areolas en los bordes de los segmentos. Florece una vez al año y tanto el fruto como la flor pueden ser de diversos colores, desde el amarillo al rojo.

El fruto maduro (Tuna) varía en forma y fisiología de acuerdo con la especie, pero a amplios rasgos, es una baya unicolor polisperma, carnosas de forma ovoide a esférica; sus dimensiones y coloraciones pueden variar según la especie, encontrándose frutos de 4 a 12 cm o más de longitud, de color amarillo canario, amarillo limón, anaranjado, rojo, guinda, rojo-morado, rosa, verde tierno, blanco-verdoso, etc. Poseen gran número de semillas lenticulares, con testa clara y arillo ancho, embrión curvo, la piel se origina en el receptáculo y es similar a la del cladodio (constituye del 30 al 50% del peso total del fruto), la epidermis tiene areolas perfectas y cubierta por gloquídeas o ahuates (es el pequeño aguijón fino delgado que se presenta en grupos y en puntos bien definidos); sin embargo, la hipodermis es delgada y la corteza es voluminosa. Las tunas son frutos no climatéricos con bajas tasas de respiración (Pimienta, 1996).

La tuna se puede encontrar en una gama amplia de colores, que puede variar desde el blanco, amarillo, naranja, rojo y púrpura. La coloración del fruto está determinada por la presencia de pigmentos, entre los cuales se encuentran las betalaínas. Las betalaínas son pigmentos solubles en agua, e incluyen a las betacianinas de color rojo-violeta y las betaxantinas de color amarillo; por lo tanto, el color del fruto depende de la concentración y tipo de las betalaínas que se encuentran presentes (Bolaños, *et al*; 2012).

2.3.4. Composición química

La Tuna es un fruto que se consume en fresco y recientes estudios han demostrado que la tuna contiene altos niveles de agentes antioxidantes tales como ácido ascórbico, compuestos fenólicos y pigmentos betalaínicos (Tesoriere *et al.* 2005); así como altas concentraciones de compuestos como calcio, magnesio, prolina y taurina, que le confieren características de un alimento funcional (Galati *et al.* 2003).

Los principales compuestos fenólicos en la tuna son la isorhamnetin-3-rutinósido y pequeñas cantidades de isorhamnetin-3-glucósido, rutina y kaempferol-3-rutinósido (Galati *et al.* 2003; Stintzing *et al.* 2001). Galati *et al.* (2003) observaron valores de 74,6 mg de ácido gálico 100 mL⁻¹ de jugo de tuna entera variedad siciliana. Por otro lado, Stintzing *et al.* (2005) obtuvieron valores de 24.2 ± 13.4, 24.7 ± 23.1, 33.5 ± 19.3, 66 ± 35.8 mg ácido gálico 100 mL⁻¹ de jugo de tuna verde, naranja, roja y morada, respectivamente. Stintzing *et al.* (2005) y Carrasco y Encina (2008) concluyeron que el contenido de compuestos fenólicos está en función de la variedad de tuna y que estos son los principales responsables de la actividad antioxidante. Piga *et al.* (2003) informaron que el contenido de compuestos fenólicos disminuía en tuna mínimamente procesada almacenada en refrigeración y era probablemente debido a que tenía un efecto protector sobre la actividad antioxidante y el ácido ascórbico.

2.3.5. Usos

El nopal ha desempeñado un papel muy importante en el desarrollo de las culturas prehispánicas de México, debido a los usos en los que se le ha involucrado, considerando desde la alimentación para consumo humano hasta su utilidad en el ámbito religioso (Granados y Castañeda, 1991).

En la zona norte de México, el nopal se explota como forraje y en segundo término como fruta; en el centro del país se utiliza principalmente como fruta y verdura. Del nopal es posible utilizar los frutos frescos directamente, como alimento humano; la pulpa comestible constituye entre 60 y 75 % del fruto y por lo general contiene de 12 a 15 % de azúcar con base en peso fresco, con la peculiaridad de que los azúcares presentes son considerados reductores, predomina la glucosa (60 %) y la fructosa (40%). Cabe aclarar que la fructosa es uno de los edulcorantes más aceptados en el mundo, dado que actualmente se está usando como sustituto de sacarina (Cantwell, 1995).

Las semillas constituyen entre el 5 y el 10 % del volumen total del fruto; el análisis de su composición química reveló la presencia de aceite y proteínas (Pimienta, 1990); los principales ácidos grasos encontrados son linoleico, oleico y palmítico; por lo que el aceite obtenido a partir de la semilla del fruto del nopal es semejante en calidad a los aceites comestibles de soya y cártamo (Pimienta, 1988). Las semillas son, además, una fuente de proteínas para alimentar aves y cerdos, ya que estos últimos pueden triturar la semilla.

El fruto es, además, la materia prima para la elaboración de mermeladas, jaleas, miel, queso de tuna, vino, bebidas y néctares, entre otros (Odoux y Dominguez, 1996).

Los brotes tiernos o cladodios inmaduros (nopalitos) de gran número de variantes silvestres y cultivadas, se utilizan para el consumo humano en el

centro y norte del país, y en algunos casos se exportan envasados a Estados Unidos, Canadá y Japón (Flores y Olvera, 1994).

A pesar del bajo nivel nutritivo que aporta el nopal, en el norte de México y sur de los Estados Unidos, el nopal es considerado como un forraje suplementario y de emergencia para la alimentación del ganado, sobre todos en las épocas de sequía, algunos ganaderos chamuscan con sopletes portátiles el nopal y otros lo pican en máquinas para procesarlo y hacer más eficiente la alimentación del ganado (Hanselka y Falconer, 1993).

A partir de las pencas maduras o adultas, es posible elaborar productos alimenticios, medicinales, de limpieza y aseo personal (Champús, enjuagues y cremas entre otros. Además por ser un alimento con una gran cantidad de fibra es un agente de control de peso, reduce los niveles de colesterol en la sangre (Frati *et al*; 1983). Asimismo los frutos de *Opuntia xocanostle* en la dieta de pacientes con diabetes mellitus tipo II ayuda controlar los niveles de glucosa en sangre, provocando un aumento satisfactorio en insulina sérica (Ramírez *et al*; 1995). Una de los principales usos, es la utilización de las pencas como sustrato en la producción de un insecto que se conoce como cochinilla (*Dactylopius coccus*), que produce el colorante llamado grana, constituyendo el uso más original histórico del nopal. Los subproductos provenientes de la cochinilla son ampliamente usados en la industria alimentaria, textil, farmacéutica y cosmetológica, dado su alto poder colorante y su inocuidad para la salud Méndez, 1999).

2.3.6. Caracterización de la Producción de Tuna en el Estado de Puebla

La región tunera del estado de Puebla, está considerada como la más productiva a escala nacional, está conformada por valles y lomeríos, con temperatura promedio que oscila entre los 15 y 17 °C y precipitación pluvial anual promedio de 600 a 800 mm. La tuna Poblana sale al mercado primero

que la de los otros estados productores, su cercanía con el Distrito Federal, le da ventajas importantes al mercado de la tuna.

El clima que presenta según la clasificación climática de Köpen modificado por Enriqueta García son de dos tipos: Templado sub-húmedo (C (W) (W)), con precipitación media anual de 656 mm. con variaciones muy marcadas siendo mayor en el norte y menor en el sur y con una temperatura media de 15.5°C y Semi-seco-templado con lluvias en verano (Bs, Kw) (w) y se localiza en el sur de la zona (DDR 07, Tecamachalco) con precipitaciones anuales de 413.4 mm y temperatura media de 18°C con riesgo de heladas entre octubre a marzo (SARH, 1993). La producción en su mayoría es de temporal y en riego solo unas cuantas hectáreas. El tipo de riego que se utiliza es rodado (Delegación SAGARP; Consejo Poblano de Tuna-Nopal A.C., Comité del sistema Producto nopal-tuna 2005).

2.3.7. Descripción de la tuna var. Cristalina

Es una variedad sobresaliente por el tamaño y la forma de los frutos. Por lo atractivo de sus frutos se han establecido plantaciones en los estados de Puebla, Aguascalientes, Guanajuato, San Luis Potosí y Jalisco. La producción que se obtiene se destina principalmente a los mercados de Guadalajara, Monterrey, Tampico, Puebla y esporádicamente al Estado de México y Distrito Federal.

La forma del fruto es ovoide piriforme y en algunos casos pedunculado, como en los frutos de la variedad “blanca burrona”. La cicatriz receptacular es de tamaño mediano, ligeramente cóncava. El color de la cáscara es amarillo verdoso y la pulpa es de color verde claro. Es uno de los frutos más grandes; el peso varía de 150 a 250 g, aunque en ocasiones se han encontrado frutos que tienen más de 300 g. El porcentaje de azúcares es cercano a 14 y de éste el diez por ciento lo constituyen reductores. El contenido de vitamina C es de 21.4 mg/100 g. se considera como una variedad de maduración intermedia, ya que la

cosecha se lleva a cabo durante septiembre y octubre. Los frutos son resistentes al manejo en postcosecha. La planta presenta hábito de crecimiento arbustivo: la forma de los cladodios es ovoide y son de color verde-amarillento. La floración es tardía, por lo que no ocurren daños por heladas tardías en flores en desarrollo. Otro aspecto sobresaliente es que presenta un mayor grado de resistencia al daño causado por la enfermedad de “engrosamiento de cladodios” (Andrade, 1996).

2.3.8. Descripción tuna roja var. San Martín

La Variedad Roja San Martín: es una variedad de tuna roja que se encuentra establecida en mayor escala en la región de Las Pirámides en el estado de México, de donde probablemente es originaria, también se produce en Puebla. Las pencas son medianamente espinosas, de forma ovoide, más angostas en la base, de color verde intenso. El fruto se caracteriza por el color verde rojizo de su cáscara al momento del corte, el cual se torna rojo oscuro (casi morado o púrpura) en madurez de consumo. Es de forma cilíndrica, ligeramente alargado, con el receptáculo circular y hundido cuando está maduro. La pulpa es de color púrpura, muy atractiva, la cáscara es gruesa y frágil en la base del fruto, por lo que requiere el uso de navaja para realizar el corte con cuidado y evitar que se rompa (Bolaños, *et al*; 2012).

2.4. Características generales de *Arundo donax*

2.4.1. Origen y clasificación taxonómica

Su origen se atribuye a España y Portugal, Aunque, se dice que es originario del mediterráneo (Spatz *et. al.*, 1997). Se conoce por varios nombres como: carrizo, caña gigante, falso bambú, junco gigante, etc. Según (Wagner y Bladt, 1999), su clasificación taxonómica pertenece al:

Reino: Plantae

Clase: Liliopsida

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Género: *Arundo*

Especie: *A. donax*

2.4.2. Distribución en México

Se localiza en todo el país, en lugares principalmente con alta humedad, a la orilla de canales de riego. Se considera como una planta dañina por ser invasora de grandes áreas de cultivo. En California se reporta como plaga y existen estudios para su control biológico (Boose, 2002).

2.4.3. Descripción botánica

Es una planta que crece en grandes colonias, llega a alcanzar los 6 metros de altura, tiene su tallo grueso y hueco. Las hojas son largas de 30 a 60 cm y de 5 a 7 cm de ancho, que cubren el tallo en forma de láminas verdes.

2.4.4. Composición química

Algunos estudios indican que los extractos de esta especie contiene un componente activo que se llama triptamina. Además, se han encontrado sustancias como la bufotenidina y gramina (Ghosal *et al*, 1999). Otros investigadores encontraron que los tallos y las hojas contienen una variedad de sustancias químicas, como alcaloides, que protegen a la planta de los insectos y herbívoros de vida silvestre (Miles *et al*, 1997).

2.4.5. Usos

Dentro de los estudios etnobotánicos se señala el uso común de las raíces de *A. donax* por tener propiedades medicinales como diaforéticas. Diuréticas y galactófagas; además los rizomas se usan también para tratamiento de cáncer. Los alcaloides aislados han demostrado el aumento de la presión sanguínea y la contracción del intestino y el útero al realizar pruebas en laboratorio (Chopra

et al, 1981). El consumo produce un aumento moderado en la producción de orina, favoreciendo la eliminación de la urea, el ácido úrico y otras sustancias de desecho (Duke y Wain, 1981).

2.5. Características generales de *Sida acuta*

2.5.1. Origen y clasificación taxonómica

Su origen se atribuye a Centroamérica, se conoce como escobilla, escobilla nega, malva, escoba de puerco, etc.

Esta especie taxonómica pertenece al:

Reino: Plantae

Clase: Dicotiledónea

Orden: Malvales

Familia: Malvacea

Género: *Sida*

Especie: *S. acuta*

2.5.2. Distribución en México

Se encuentra distribuida en todas las zonas templadas. Se encuentra generalmente asociada a los cultivos de maíz y frijol.

Descripción taxonómica.

2.5.3. Descripción botánica

Es una hierba de crecimiento erecto que llega a medir hasta un metro de altura. La raíz primaria es fuerte. Los tallos y las ramas son aplanados en las extremidades, es fibrosa, casi leñosa. Sus hojas son alteñas, delgadas, lanceoladas, agudas, con los márgenes dentados de 1.2 a 9 cm o más largo, de 0.5 a 4 cm de ancho, con la parte inferior de la superficie lisa, con presencia de pelos con venas prominentes, el peciolo de 3 a 6 m de largo, peludo, con un par de estípulas. Flores de 1 a 2 cm de diámetro, solitarias o en la axila

densamente; los pedicelos delgados de 3 a 8 mm, articulados; cáliz de cinco lóbulos; sépalos de color verde pálido, triangular de 6 mm aproximadamente. Los frutos son una cápsula de 3 a 4.5 mm de diámetro, áspero, consta de 5 a 8 carpelos que rompen en la madurez. Las semillas son pequeñas más o menos triangulares. Su distribución es por semilla; esta mide 1.5 mm de largo, con una depresión a cada lado, de color marrón rojizo a negro.

2.5.3. Composición química

En esta especie y otras del mismo género se han aislado diferentes constituyentes: alcaloides, β -fenetilaminas, quinazolininas y triptamina carboxilada en adición a colina y betalaína. Las cantidades y su variación de los constituyentes alcaloidales de las raíces y partes aéreas dependen de la etapa de crecimiento. Presenta también estos compuestos: aminas simpatomiméticas y vasicinona en esta especie, ya que se reporta que una buena combinación de éstos mejoraría su uso terapéutico en el sistema de medicina tradicional de la India (Prakash *et al.*, 1981).

Esta planta tiene propiedades farmacológicas importantes, entre los principales componentes de interés están los alcaloides indolquinonas, los cuales tienen una fuerte actividad antimicrobial. En el análisis de GC-MS del extracto reveló la presencia de dos principales alcaloides: critolepina y quindolina. Esta planta se considera importante por las diferentes propiedades farmacológicas que presenta (Damintoti *et al.*, 2005).

2.5.5. Usos

Se usa contra la malaria, mediante la cocción de la planta. En la india, esta especie es usada contra el dolor de cabeza, colocándose las hojas maceradas; también se usa en heridas (Chellaiah *et al.*, 2006).

2.6. Características generales de *Phytolacca icosandra*

2.6.1. Origen y clasificación taxonómica

El origen de esta especie se atribuye a México, Antillas hasta Sudamérica, se encuentra en lugares templados. Se conoce con varios nombres como: mazorquilla, carricillo, namole, conguerán (Michoacán), quelite (Veracruz; Martínez, 1979), higuera, jabonera, lavarropa, quelite y verbechina (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Su clasificación es la siguiente:

Reino: Plantae

Clase: Magnoliopsida

Orden: Caryophyllales

Familia: Phytolaccaceae

Género: *Phytolacca*

Especie: *P. icosandra*

2.6.2. Distribución en México

Se distribuye en todas las áreas altas en Aguascalientes, Baja California Norte, Baja California Sur, Campeche, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Colima, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Sonora, Sinaloa, Nayarit, Yucatán (Villaseñor y Espinosa, 1998).

2.6.3. Descripción botánica

Es una hierba anual o perenne, de vida corta, con frecuencia robusta, sin pelos o poco pubescente, algo succulenta; que alcanza casi los dos metros de altura. La raíz es gruesa, carnosa y los tallos son ramificados, huecos y angulosos.

Las hojas son alternas oblongo-lanceoladas de 7-20 cm de largo por 2.5 a 9.5cm de ancho, ápice agudo, acuminado y a veces mucronato, con base atenuada, acuminada; pecíolos bien manifiestos, de 1 a 6 cm de largo (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Las flores son sub sésiles o sobre pedicelos de 2 a 5 mm de largo, brácteas sub ovaladas, sépalos verdosos, blancos o rojizos, elípticos a ovados de 2.5 a 3.2 mm de largo por 1.5 a 3 mm de ancho, persistente; los estambres varían de 8 a 20, ovario sub globoso, con 6 a 10 carpelos, estilos encorvados. El fruto se integra en racimos pedunculados, numerosos, axilares y terminales de 8-1 cm o más de largo, en estado de fructificación, raquis frecuentemente pubescente (Turner y Szczawinski, 1999).

2.6.4. Composición química

Del extracto acuoso de esta especie se aislaron saponinas, ácidos serjánicos monodesmosídicos y una saponina espergulagénico monodesosídico. Del extracto metanólico de los frutos se obtuvo un complejo de tres glicósidos ácidos de los serjánicos bidesmosídicos. Las saponinas aisladas tienen propiedades moluscicidas, espermicidas y propiedades hemolíticas (Treyvaud *et al.*, 2000).

2.6.5. Usos

La raíz de la planta se usa como diurético. El jugo de los frutos y las hojas se emplea para curar la tiña. *Phytolacca icosandra* es utilizada también por muchas personas infectadas para controlar problemas con VIH, Herpes zoster y daños en la piel (Daniel *et al.*, 2007). En Etiopía se utiliza la infusión de las raíces y hojas, para ingerirla oralmente y en forma de pasta para controlar la rabia (Tilahun *et al.*, 2007). En la india las hojas frescas se usan para curar el dolor de cuerpo y la diarrea (Bharat y Hernant, 2008).

Por lo antes expuesto, se recomienda la necesidad de continuar con la investigación en cuanto a este tema se refiere, debido a que aún se desconoce el efecto que otros extractos vegetales pudieran tener sobre el desarrollo del hongo en estudio; asimismo, es de interés conocer los diferentes metabolitos secundarios involucrados en el efecto antimicrobial, así como la posible mezcla con algún otro compuesto, y que tuviera un mayor efecto contra éste u otros microorganismos fitopatógenos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Aislamiento de *Colletotrichum gleosporioides*

El hongo se aisló de la cáscara de frutos de *Carica papaya* que presentaron las lesiones características de la enfermedad de antracnosis, caracterizada por la presencia de manchas necróticas, concéntricas bien definidas de color negro, así como manchas de color salmón o rosa. Se trabajó en una cámara de flujo (Laminar Veco, México). Con la ayuda de un bisturí estéril se tomaron fragmentos del tejido enfermo de aproximadamente 5 X 5 mm, tratando de involucrar tejido infectado (20 %) y sano (80 %). Con la finalidad de eliminar otros patógenos no deseados, el tejido desinfesto con hipoclorito de sodio al 10 % por 2 min y después se enjuaga con agua estéril para posteriormente colocarlo en cajas de Petri con medio de cultivo de papa-dextrosa-agar (PDA). Se realizaron dos repeticiones por fruto, colocando cuatro fragmentos de tejido en la placa de agar (Cedeño *et al.*, 1993; Dhingra *et al.*, 1995), lo cual se realizó en una cámara de flujo laminar (Veco, México). Las cajas sembradas se incubaron a temperatura ambiente (± 24 °C), durante 7 d. Para la identificación de hongo se realizaron observaciones en un microscopio óptico (Olympus, Opticas C.O., LTD).

3.1.1. Elaboración del medio PDA

Para preparar el medio de cultivo PDA ya elaborado (Marca Difco), solo se suspendieron 39 g del medio en un litro de agua purificada. Se calentó con agitación suave hasta su completa disolución. Para posteriormente, se

esterilizó a presión (Marca Presto, México) a 121°C (15 libras de presión) durante 15 min, posteriormente se enfrió a una temperatura entre 45 - 50 °C para poder vaciarlo en placas de Petri estériles dentro de una cámara de flujo laminar.

3.1.2. Identificación de las cepas

La identificación morfológica se basó en cultivos monoconidiales; para identificar a género se utilizaron las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1998) y para la especie las referencias de Sutton (1992). Para la identificación del hongo, se colocó una asada del mismo en un portaobjeto y se tiñó éste adicionando una gota de azul de lactofenol al portaobjeto para ser observado en un microscopio estereoscópico (Nikon, Japan) posteriormente, la muestra también se observó en un microscopio óptico (Olympus) utilizando el objetivo a 40 y 100 X. Para identificar sus características morfológicas se ocuparon las técnicas con cinta pegante y montaje por disección (Contreras, 2006).

Se identificó al hongo como *C. gleosporioides*, en donde sus conidios presentaron las siguientes características: conidios rectos, cilíndricos con ambos extremos redondeados, con 13.4 µm de largo y 3.6 µm de ancho, observando la presencia de apresorios, encontrándose dos tipos de cepas una rosa (R) y una gris (G). El Dr. Marcelo Acosta del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Chapingo realizó la certificación del hongo *C. gleosporioides*.

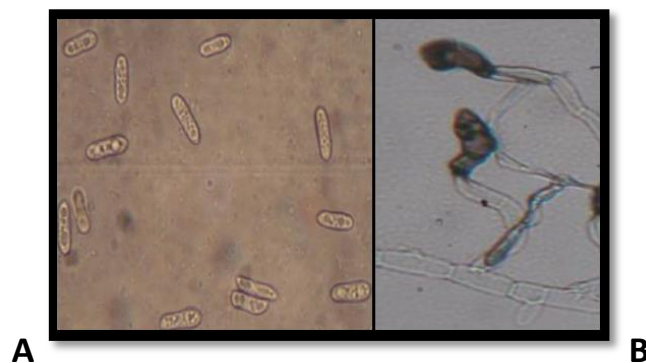


Figura 2: Conidios (A) y apresorios (B) presentes en las cepas de *Colletotrichum gleosporioides*.

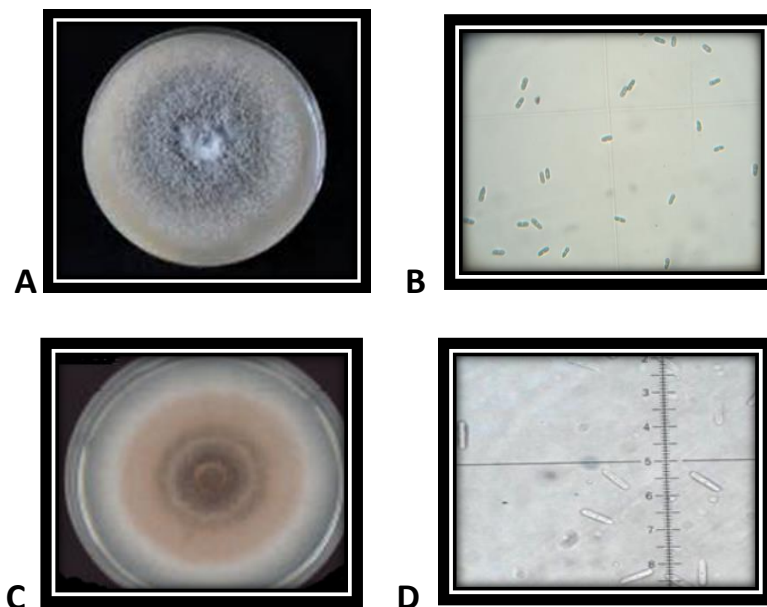


Figura 3: Cepas de *Colletotrichum gloeosporioides* aisladas de *Carica papaya*; A) Cepa Gris, B) Conidios de la cepa gris, C) Cepa Rosa, D) Conidios de la cepa rosa.

3.1.3. Purificación del hongo

Después de confirmar que la cepa pertenecía al hongo de estudio, se realizaron cultivos monospóricos de la misma con la finalidad de obtener colonias puras, para ello se siguió la metodología modificada propuesta por Wang y Wen (1997). Para este fin se debe que partir de una concentración de 10^5 conidios, para lo cual se llenaron 10 tubos de ensayo de 6 x1.5 cm previamente lavados y esterilizados con 10 ml de agua destilada estéril. Con un asa estéril se tomó una pequeña porción de los conidios de cada uno de las cepas: rosa (R) y gris (G) y se inocularon los tubos separadamente, posteriormente con ayuda de un agitador vortex se homogenizó cada mezcla.

Para determinar la concentración necesaria de 10^5 esporas ml^{-1} , se tomaron 10 μl de la mezcla anterior y se colocó en una cámara de Neubauer (Anexo 2), se contó el número de conidios localizados en los 64 cuadros, para poder

determinar su concentración. Se realizaron las diluciones correspondientes en los tubos con conidios y agua estéril hasta llegar a la concentración deseada (10^5 esporas ml^{-1}) (Manual de Procedimientos, 2001).

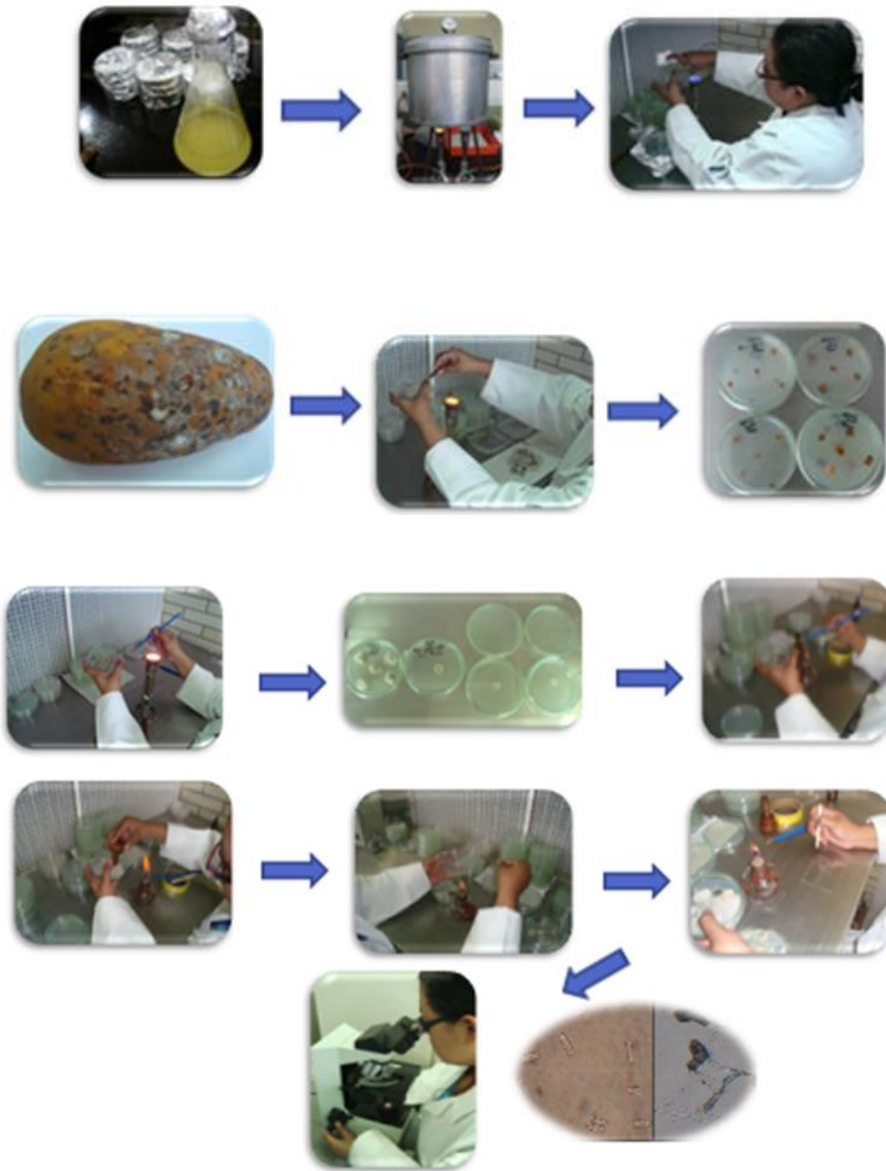


Figura 4: Proceso de aislamiento, propagación del hongo *C. gloeosporioides*

Una vez obtenida la concentración adecuada de conidios para propagar el hongo, se sembró 1ml de la solución con conidios en cajas Petri con medio PDA. Las placas con PDA fueron incubadas por 24 h a 27 °C en penumbra. Transcurridas las 24 h se observó bajo el microscopio estereoscópico la

superficie de la placa de agar agua buscando un único conidio germinado, el cual se resembró nuevamente en PDA y se incubó a 27 °C en penumbra, con la finalidad poder obtener la colonia pura de cada cepa rosa (R) y gris (G) (CORPOICA, 2001).



Figura 5: Obtención del inóculo

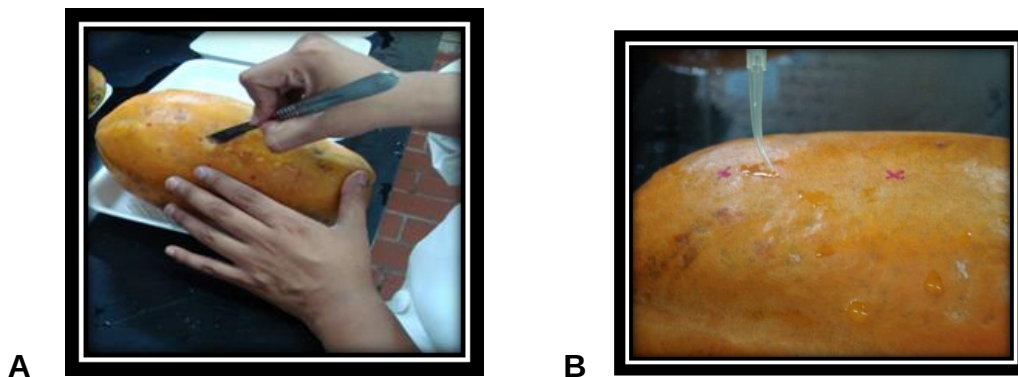


Figura 6. A) Realización de heridas en el fruto; B) Inoculación del hongo

3.1.4. Pruebas de Patogenicidad

Para conocer la capacidad patogénica de los diferentes cepas y estas ser capaces de generar síntomas de la enfermedad sobre frutos sanos, previamente desinfestados. Se seleccionaron dos frutos de papaya, uno por cada cepa. Sobre la parte media y superior de cada uno de los frutos se inoculo 1ml de solución a una concentración de 10^5 conidios ml^{-1} sobre 10 heridas hechas previamente con un bisturí (Figura 3). Sobre los frutos usados como controles se colocaron discos de agar estéril, luego de la inoculación se

colocaron en cámaras húmedas, éstas se mantuvieron a una temperatura de $\pm 24\text{ }^{\circ}\text{C}$ por un periodo de 10 d. Cada 24 h se revisaron para observar el momento en que se evidenciaron los primeros síntomas de la enfermedad.

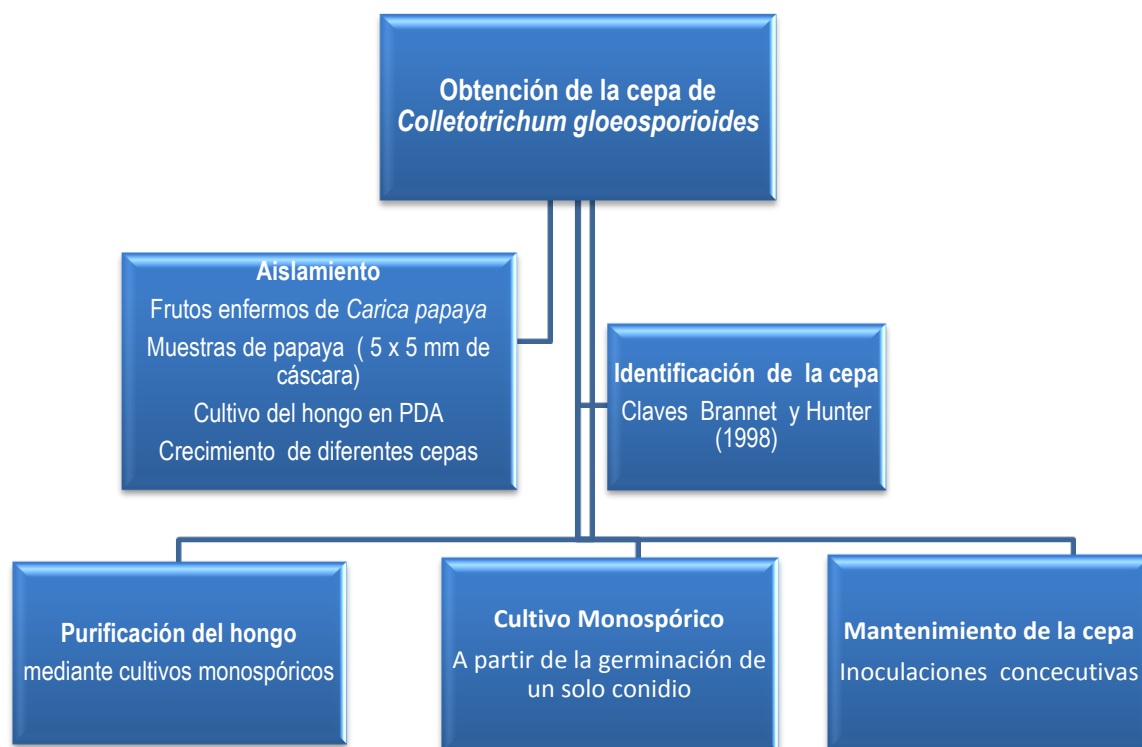


Figura 7. Metodología para la obtención de las Cepas de *Colletotrichum gloeosporioides*.

3.2. Recolecta del material vegetal

El material vegetal utilizado de Tuna se recolectó el 13 de julio del 2013, San, Sebastián Villanueva, Acatzingo, Puebla.

Cuadro 1. Coordenadas geográficas de los sitios de recolecta, tipo de tejido y rendimiento del extracto metanólico de las especies de *Opuntia*.

Especie	Familia	Lugar de recolecta	Ubicación	Tejido	Extracto metanólico (g 100 mg ⁻¹ p. s.)
<i>Opuntia ficus-indica</i> var. Cristalina	Cactaceae	San Sebastián Villanueva, Acatzingo, Puebla	18° 56'48" LN 97° 49'54" LO	cáscara	42.73
<i>Opuntia ficus-indica</i> var. San Martín	Cactaceae	San Sebastián Villanueva, Acatzingo, Puebla	18° 56'48" LN 97° 49'54" LO	cáscara	40.58

p.s. = peso seco.

Cuadro 2. Coordenadas geográficas de los sitios de recolecta, tipo de tejido y rendimiento del extracto de las especies de estudio.

Especie	Familia	Lugar de recolecta	Ubicación	Tejido para estudio	Extracto metanólico (g 100 mg ⁻¹ p. s.)
<i>Arundo donax</i>	Poaceae	Tepalcingo, Morelos	18°26' LN 98°18' LO	Raíz	32.0
<i>Sida acuta</i>	Malvaceae	Cuernavaca, Morelos	19°12' LN 99°20' LO	Toda la planta	18.0
<i>Phytolacca icosandra</i>	Phytolaccaceae	Cuernavaca, Morelos	19°12' LN 99°20' LO	Parte aérea	35.0

3.2.1. Identificación de las especies

La M. C. Ernestina Cedillo Portugal, encargada del Herbario del Departamento de Preparatoria Agrícola, identifico las especies: *Arundo donax* L. (Carrizo), *Phytolacca icosandra* L. (Guaguaro) y *Sida acuta* B. (Malva).

3.3. Preparación de los extractos vegetales

Para la obtención de los extractos de *O. ficus- indica*, *P. icosandra*, *A. donax* y *S. acuta* se realizó el secado de material vegetal a 50 °C en una estufa a temperatura constante de 50 °C durante 48 h; una vez deshidratado el material se molió en un molino Thomas-Wiley Mill (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ, USA) hasta obtener una harina. Esta harina se depositó en cartuchos de papel filtro, para ser colocados en un equipo soxhlet con 2 litros de hexano para desengrasar, a una temperatura de 60 °C por 48 h. Posteriormente, se utilizó el rotaevaporador marca Buchi para concentrar el extracto temperatura de 50 °C. Los extractos metanólicos se prepararon mediante el tratamiento por reflujo con metanol en un equipo soxhlet durante 48 h. Para posteriormente concentrar los extractos por evaporación del metanol a presión reducida en un rotaevaporador Büchi (García-Mateos *et al.*, 2007). De cada extracto se preparó una solución

madre y después por dilución se prepararon las concentraciones de 10, 20, 30, 40, 50 y 100 % v/v para las prueba en laboratorio.

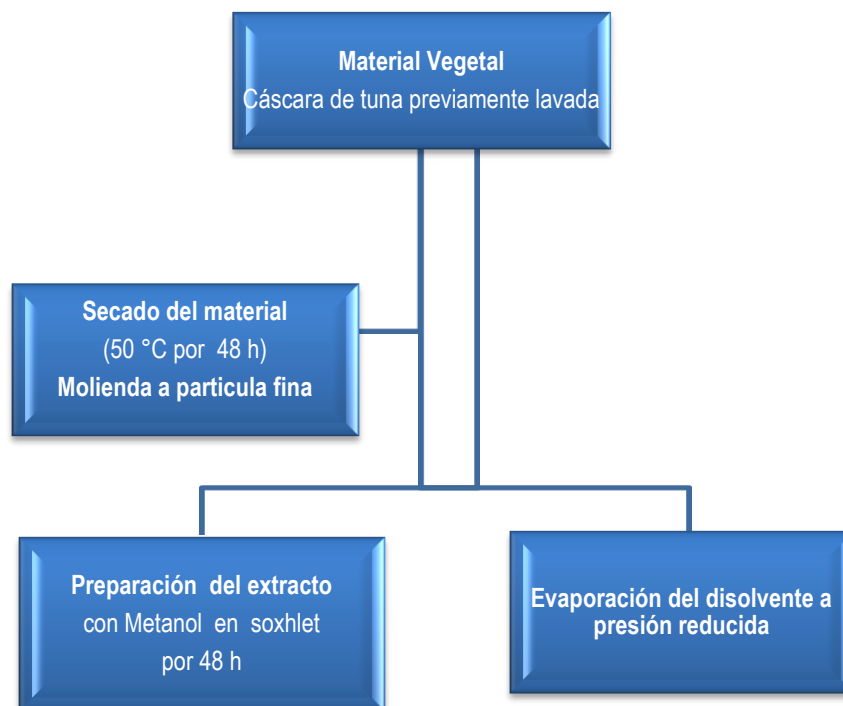


Figura 8. Metodología para la elaboración de los extractos con el material vegetal en seco.

3.4. Evaluación de la actividad fungicida *in vitro*

Para establecer la inhibición del hongo, se utilizó el método de difusión de disco (Murray *et al.*, 1995) para probar los extractos como agentes fungicidas, se prepararon suspensiones acuosas con 10^5 esporas mL^{-1} (Anexo 2) de *C. gleosporoides* (dos cepas), se ajustó la concentración mediante una cámara de Neubauer, después se tomó 1mL de la suspensión para inocular las cajas Petri con el medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA). Después de 2 min se colocaron tres discos de papel Whatman® No.1 de 6 mm de diámetro en cada caja, que previamente fueron saturados con las soluciones que se ajustaron a concentraciones del 10, 20, 30, 40, 50 y 100 %, más el grupo control que solo fue el disolvente de cada extracto, es decir sin la aplicación de algún extracto.

Se utilizó como controles dos productos comerciales, uno químico llamado Switch® (Ciprodinil 37.5 %, Fludioxonil 25 %) a una concentración de (0.05 g 50 ml⁻¹ de agua) y como control orgánico extracto de Gobernadora marca Ultraquímia® a una concentración de (0.75 ml 50 ml⁻¹ de agua), ambos se prepararon a las concentraciones que indica el fabricante.

Se realizaron nueve repeticiones de cada tratamiento, en cada caja se pusieron tres discos de la misma concentración, teniendo al final tres cajas Petri para cada tratamiento. Las cajas Petri se incubaron a 24 °C bajo iluminación continua por 7 d. Posteriormente, se midió la zona de inhibición de crecimiento del micelio a los 7 d, la cual incluyo el diámetro del disco de papel (Ibarra *et al.*, 2009).

Variables que se evaluaron fueron el Porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC), así como la Concentración inhibitoria media (CI₅₀), La primera se calculó mediante la fórmula utilizada por Fakhrunnisa *et al.* (2006) y Rondón *et al.* (2006). $PIC = (C_1 - C_2 / C_1) \cdot 100$; donde PIC = Porcentaje de inhibición en el crecimiento del micelio; C₁ = Crecimiento del patógeno sobre el lado opuesto de la caja Petri (Testigo); C₂ = Crecimiento del patógeno en enfrentamiento. La Concentración inhibitoria media (CI₅₀) se determinó mediante un Análisis Probit (Finney, 1971).

3.5. Análisis estadístico

Se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) y una prueba de Comparación de Medias (Tukey, $P \leq 0.05$) con el porcentaje de inhibición mediante el programa Statistical Analysis System (SAS), versión 9.1.3.

Debido a que las variables están reportadas en porcentaje, para proceder al análisis de varianza se llevó a cabo la transformación de los datos, con el objetivo de manejarlos bajo una distribución normal. La transformación de Yates se llevó a cabo con la siguiente propuesta: $XT = \sqrt{\text{Arcoseno}(x/100)}$

En donde: XT= Transformación de la variable, X= Variable respuesta expresado en porcentaje.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Actividad fungistática de las variedades de *Opuntia ficus-indica*

De la cáscara de *O. ficus-indica* var. Cristalina se obtuvo un rendimiento de extracto metanólico de 42.73 g 100 g⁻¹ de p. s., mientras que de la variedad San Martín se produjo 40.58 g 100 g⁻¹ de p. s.; ambos extractos se utilizaron para evaluar la actividad fungicida de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Por otro lado, durante la propagación e identificación del hongo *C. gloeosporioides* se lograron identificar microscópicamente dos tipos de cepas de acuerdo a sus características morfológicas: la cepa Gris (G) y la cepa Rosa (R), así como tres cepas de los géneros *Alternaria* sp., *Fusarium* sp. y *Cladosporium* sp, las que no fueron consideradas en el presente estudio.

4.1.1. Análisis de varianza de la inhibición de *C. gloeosporioides*

Se evaluaron seis concentraciones (tratamientos) del extracto metanólico de cada variedad de *Opuntia* en los dos tipos de cepa (R) y (G), las cuales fueron propagadas por micelio (M) y conidio (C), generando como consecuencia doce tratamientos, más dos controles representados por un producto químico (Switch) y un producto comercial orgánico (Gobernadora)

Cabe mencionar que para el análisis estadístico, fue necesario llevar a cabo una transformación de los valores de inhibición debido a que fueron reportados en porcentaje, de tal modo que dicha transformación permitió manejarlos bajo una distribución normal, y por lo tanto someterlos al análisis de varianza y comparaciones de medias. Los resultados del análisis de varianza mostraron diferencia significativa por efecto de los extractos, la concentración y su interacción, sobre el porcentaje de inhibición de los diferentes tipos de cepa y propagación de *C. gloeosporioides*. Los coeficientes de variación para las cuatro variables presentaron valores inferiores a 3.0 %, lo que implica una buena confiabilidad de los resultados obtenidos (Cuadro 3).

Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza de la inhibición de dos cepas del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* por los extractos de *Opuntia ficus-indica* a seis concentraciones en dos condiciones de propagación.

F.V.	GL	Cuadrados Medios			
		GM	GC	RM	RC
Extracto	4	6255.41**	13940.35**	9235.68**	15982.91**
Concentración	8	317.65**	2074.37**	560.69**	2248.01**
Extracto*Concentración	13	5.21**	98.50**	145.25**	2248.01**
Error	112	0.16	0.11	0.11	0.13
Total	125				
Media		32.22	11.27	34.41	16.20
C.V.		1.24	2.92	0.97	2.21

FV: fuente de variación; GL: Grados de libertad; GM: Cepa gris/micelio; GC: Cepa gris/conidios; RM: Cepa rosa/micelio; RC: Cepa rosa/conidios; CV: Coeficiente de Variación; **significativo ($P<0.05$); NS: No significativo.

4.1.2. Comparaciones de medias para el efecto de extracto

Como se indicó previamente, los valores en porcentaje se transformaron para ser debidamente analizados. En este contexto, en los cuadros de comparaciones de medias se crearon dos columnas; la primera que reporta los valores originales y la segunda que contiene los valores transformados con los respectivos estadísticos de la prueba de Tukey.

Los resultados de la prueba de comparación de medias de Tukey (Cuadro 4), muestran un efecto positivo del extracto comercial Switch sobre el porcentaje de inhibición de la cepa Gris de *C. gloeosporioides* propagada por micelio (GM), alcanzando una reducción de 90.77 %; superando estadísticamente en 62.55 % el efecto del control orgánico (comercial “Gobernadora”), en 66.01 % el extracto de la variedad Cristalina y 82.04 % al extracto de la San Martín en el mismo tipo de propagación. En la cepa Gris propagada por conidio (GC), la mayor inhibición (89 %) fue causada por el testigo Switch, superando estadísticamente en 63.93 % al control orgánico comercial (Gobernadora) y en 94.75 y 97.7 %, a los extractos de las variedades Cristalina y San Martín, respectivamente.

Cuadro 4. Porcentaje de inhibición de dos cepas del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* por los extractos de *Opuntia ficus-indica* en dos condiciones de propagación.

Extracto metanólico de cáscara	Inhibición (%)							
	GM		GC		RM		RC	
	Real	YT1	Real	YT2	Real	YT3	Real	YT4
<i>Opuntia ficus-indica</i> var. Cristalina	30.86	33.64 c [†]	4.68	5.33 c	43.82	41.43 b	19.94	19.44 c
<i>Opuntia ficus-indica</i> var. San Martín	16.31	23.54 d	2.05	3.42 d	13.19	20.26 d	0.0	0.0 d
Producto comercial Switch	90.77	72.34 a	89.00	70.65 a	92.44	74.06 a	91.77	73.36 a
Producto comercial orgánico Gobernadora	34.00	35.66 b	32.11	34.51 b	37.11	37.53 c	35.77	36.73 b
DMSH		0.37		0.30		0.31		0.33

[†]Medias con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales con base en la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$); YT1: Y transformada por tipo de propagación y tipo de cepa; GM: Cepa gris/micelio; GC: Cepa gris/conidio; RM: Cepa rosa/micelio; RC: Cepa rosa/conidio. DMSH: diferencia mínima significativa honesta.

Con respecto a la cepa Rosa propagada por micelio (RM), el control químico (Switch) inhibió 92.44 % en crecimiento del hongo, mientras que el control orgánico solo afectó 34 % el crecimiento, es decir 59.86 % menos que el primero. Adicionalmente, los extractos de las variedades de *Opuntia* Cristalina y San Martín, detuvieron el incremento del hongo en 30.86 y 16.13 %, respectivamente, lo que implica 52.6 y 52.6 % menos que el mejor de los tratamientos.

La cepa Rosa propagada por conidios (RC) tuvo una inhibición por efecto del control químico (Switch) del 91.77 %, es decir 61.02 % mayor que el generado por el producto orgánico Gobernadora y 78.27 % que el extracto de la variedad Cristalina, los cuales inhibieron al hongo en 35.77 y 19.94 %, respectivamente.

Con base en los resultados anteriores, es evidente que el control químico mostró la mejor inhibición en todos los casos, mientras que el producto orgánico superó ligeramente a los derivados de la *Opuntia*, entre los cuales el extracto de la variedad Cristalina inhibió en mejor medida el crecimiento del hongo en todas sus formas de propagación. Cabe destacar que el efecto en la inhibición del

crecimiento del hongo dependió del tipo de cepa y modo de reproducción, siendo la cepa Rosa y la generación por micelio los estados más susceptibles.

Esta variación entre las formas de propagación (M) y (C) podría explicarse debido a la composición bioquímica de los conidios, ya que estos poseen una pared gruesa de quitina lo que dificulta la absorción de los extractos; así mismo, los conidios se adhieren al hospedero por medio de una capa mucilagínosa compuesta de polisacáridos y glucoproteínas presente en el acérvulo. Las manoproteínas son las responsables de la hidrofobicidad en la superficie celular y controlan la adhesión de este patógeno al hospedero, lo que muestra la falta de compatibilidad del extracto polar metanólico con la hidrofobicidad de la superficie de los conidios. Para el caso del micelio, la membrana celular está conformada por el conjunto de hifas compuestas de capas de polisacáridos, como glucanos, mananos y polímeros de glucosamina; proteínas (permeasas); lípidos (ergosterol, que es un esteroles esencial) y componentes fibrilares como la quitina (Prusky *et al.*, 2001; Méndez, 2008), características estructurales que facilita la penetración de los componentes del extracto.

4.1.3. Comparaciones de medias para el efecto de concentraciones

En el cuadro de comparación de medias del efecto de la inhibición del crecimiento de dos cepas de *C. gloeosporioides* propagadas por conidio y micelio por los extractos a diferentes concentraciones (Cuadro 5), se observa que la cepa Gris propagada por micelio (GM) fue inhibida 90.7 % por el control comercial químico, el cual superó estadísticamente al testigo orgánico en 62.54 %, en virtud de que este último interrumpió el crecimiento del hongo en 34 %. La mayor inhibición por los extractos de *Opuntia* (30.36 %) se reportó en la concentración de 100 %; no obstante, su efecto fue 66.55 % menos eficiente que el producto químico (Switch). En relación a las demás concentraciones, el resultado en la inhibición del crecimiento del hongo fue menor a medida que la concentración disminuyó, de tal modo que el valor más bajo (14.5 %) se observó con la menor concentración (10 %), por lo que en dichas

concentraciones el resultado fue 70 % menos efectivo que el mejor de los tratamientos.

Cuadro 5. Porcentaje de inhibición de dos cepas del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* por los extractos de *Opuntia ficus-indica* a seis concentraciones en dos condiciones de propagación.

Concentración (%)	Inhibición (%)							
	GM		GC		RM		RC	
	Real	YT1	Real	YT2	Real	YT3	Real	YT4
100	30.36	33.25 c	20.23	26.29 c	41.725	40.16 b	29.21	24.92 c
50	28.12	31.81 d	0.0	0.0 d	31.78	33.45 d	19.26	19.18 d
40	25.23	29.93 e	0.0	0.0 d	28.44	30.97 e	11.35	14.23 e
30	23.26	28.58 f	0.0	0.0 d	26.005	29.26 f	0.0	0.0 f
20	20.5	26.43 g	0.0	0.0 d	23.315	27.20 g	0.0	0.0 f
10	14.05	21.54 h	0.0	0.0 d	19.8	24.03 h	0.0	0.0 f
Producto comercial Switch	90.77	72.34 a	89	70.65 a	92.4	74.06 a	91.7	73.36 a
Producto comercial orgánico Gobernadora	34	35.66 b	32.11	34.51 b	37.11	37.53 c	35.77	36.73 b
DMSH	0.45		0.37		0.38		0.41	

*Medias con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales con base en la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$); YT1: Y transformada por tipo de propagación y tipo de cepa; GM: Cepa gris/micelio; GC: Cepa gris/conidio; RM: Cepa rosa/micelio; RC: Cepa rosa/conidio. DMSH: diferencia mínima significativa honesta.

La mayor inhibición (89.0 %) de la cepa Gris propagada por conidio (GC) fue generada por la aplicación del producto comercial (Switch), mientras que el producto orgánico Gobernadora y el extracto al 100 % de concentración, solo detuvieron el crecimiento del hongo en 32.11 y 20.23 %, respectivamente, por lo que su efectividad con relación al producto químico fue 63.92 y 77.26 % menor. Las cinco concentraciones restantes del extracto de *Opuntia*, no mostraron efecto en la reproducción del hongo.

Los resultados del efecto del producto químico en la inhibición del crecimiento del *Colletotrichum gloeosporioides* de cepa Rosa propagado por micelio, alcanzaron 92.4 %, en tanto que el mejor de los extractos de *Opuntia* inhibió 41.75 %. Las concentraciones de 50, 40, 30, 20 y 10 %, detuvieron la propagación del micelio por abajo del 31.7 %, siendo el valor más pobre el obtenido con 10 % de concentración (19.8 %), de tal manera que el efecto de los cinco tratamientos fue superado al menos 60 % por el producto Switch.

Con respecto al *Colletotrichum* de cepa Rosa propagado por conidio (RC), se encontró la mayor inhibición promedio (91.7 %) como respuesta a la aplicación del control comercial químico, cuya efectividad superó en 60.99 % al resultado obtenido por el producto orgánico y en 68.14 % al efecto de la mayor de las concentraciones (100 %) del extracto de *Opuntia*; para las concentraciones restantes, la inhibición del crecimiento del hongo se logró solo hasta el 50 y 40 % de concentración, sin embargo su efectividad estuvo 80 y 87.62 %, respectivamente, inferior al mejor de los tratamientos.

Bajo estas circunstancias, ninguno de los tratamientos superó al testigo comercial Switch, sin embargo, los extractos puros (100 %) de *Opuntia*, tienden a competir con el extracto comercial orgánico Gobernadora, aunque la eficiencia de ambos difícilmente alcanza, al menos el 50 % de la generada por el producto químico. Adicionalmente, cabe indicar que hay una tendencia de la cepa de *Collectotrichum* Gris a resistir más que la Rosa, mientras que en ambos todos los casos la reproducción por conidio hizo más complicado el efecto de la inhibición del hongo por cualquiera de los tratamientos evaluados.

No se encuentra documentado el efecto de los extractos de *Opuntia* sobre el hongo *C. gloeosporioides*, sin embargo, algunos estudios describen su actividad en otros microorganismos. Al respecto, Serrano Rojero (2007) realizó un estudio *in vitro* sobre el efecto de extracto acuoso de la cáscara de tuna *Opuntia* sp. en el crecimiento de *Escherichia coli* y *Salmonella typhi*, encontrando que las variedades Duraznillo Rosa, Charola, Blanca Azúcar y Chaveña, inhibieron significativamente el crecimiento de estos patógenos. Sin embargo, el pH de los extractos de las variedades por la presencia de los ácidos ascórbico, cítrico, málico y succínico principalmente (Sánchez y Ortega, 1996), influyeron en la actividad en estos microorganismos. Para el caso del extracto de cáscara de la variedad Duraznillo Rosa (*Opuntia leucotricha*) con un pH de 4.01, superó en 14 % la inhibición que presentó la ampicilina (testigo); en contraste, el extracto de la variedad Cristalina presentó un efecto menor de inhibición a un pH de 5.02. El autor concluye que existe una influencia directa del pH con la inhibición del

crecimiento de esas bacterias, es decir a mayor acidez menor crecimiento de las mismas.

Asimismo, no se descarta la presencia de alguna otra sustancia química en el extracto responsable del efecto inhibitorio, como algunos carbohidratos (quitosán) debido a que una película del 0.1 % (p/v) inhibió *in vitro* totalmente el crecimiento *Aspergillus niger* (Sebti *et al.*, 2005).

Por otro lado, existen estudios que reportan actividad inhibitoria del hongo por extractos vegetales. En un estudio en donde se empleó extracto de ajo (*Allium sativum* L.) *in vitro*, se encontró que este tuvo un amplio espectro de acción contra los 14 hongos que se probaron. Asimismo, *C. gloeosporioides* fue controlado por este extracto, manteniendo sanos los frutos de aguacate hasta un 65.2 % (Reyes, 1996). En estudios realizados por Baños *et al.* (2004), se evidenció que extractos de ajo y eucalipto (*Eucalyptus globulus* L.) redujeron la severidad de la antracnosis en frutos de papaya en un 45 y 41.7 %, respectivamente. Bianchi *et al.* (1997) observaron que los extractos de bulbo de ajo inhibieron en un 80 % el crecimiento micelial de *C. lindemuthianum* (Sacc. y Mag.).

4.1.4. Comparaciones de medias para la interacción

Debido a que el análisis de varianza presentó efecto significativo en las interacciones extractos por concentración para los cuatro sistemas de *C. gloeosporioides* evaluados (Cuadro 3), se llevó a cabo la comparación de medias para evaluar el efecto de dos extractos de *O. ficus-indica* a diferentes concentraciones, sobre la inhibición en el crecimiento de *C. gloeosporioides* generado de dos cepas y por dos estructuras de reproducción (Cuadro 6). De este modo, se observa que el control químico produjo la mayor inhibición (90.77%) en el crecimiento de la cepa gris reproducida por micelio (GM). Cabe mencionar que entre los extractos, los generados por la variedad Cristalina tienden a presentar valores más grandes de inhibición que los de la variedad San Martín. Bajo estas circunstancias, el extracto de Cristalina a concentración del 100 y 50 %, promovieron inhibiciones de 38.31 y 35.83 %, siendo superadas

solamente por el producto químico en un 57.79 y 61.02 %, respectivamente. Simultáneamente, el testigo orgánico (Gobernadora), detuvo el crecimiento del hongo en 34.00 %, siendo estadísticamente menor a los tres previamente referidos con un 62.54 %. Esta situación indica que los extractos de la variedad Cristalina al 100 y 50 % pueden competir en el manejo del hongo cuando se pretenda utilizar un producto orgánico. Paralelamente, la disminución de la concentración de los extractos de la opuntia Cristalina fueron reduciendo su efecto en el control del hongo; sin embargo, exceptuando la concentración al 10 %, el resto de los tratamientos fueron estadísticamente superiores a las concentraciones de los extractos de la variedad San Martín, lo que hace pensar que desde el punto de vista químico, ésta última no posee la capacidad para contrarrestar el crecimiento del patógeno.

Cuadro 6. Comparación de medias del efecto de dos extractos de *Opuntia ficus-indica* a seis concentraciones, sobre el porcentaje de inhibición de dos cepas del hongo *Colletotrichum gleosporioides* propagado por micelio y conidios.

Tratamiento	Extractos de <i>Opuntia ficus-indica</i>	Concentración (%)	Inhibición			
			GM (%)	GC (%)	RM (%)	RC (%)
1	Cristalina	100	38.31 b	28.14 c	51.12 b	58.42 b
2	Cristalina	50	35.83 c	0.00 e	48.82 c	38.51 c
3	Cristalina	40	32.14 e	0.00 e	46.03 d	22.71 e
4	Cristalina	30	30.17 f	0.00 e	42.81 e	0.00 f
5	Cristalina	20	28.92 g	0.00 e	39.51 f	0.00 f
6	Cristalina	10	20.04 i	0.00 e	35.71 h	0.00 f
7	San Martín	100	22.69 h	12.34 d	33.33 i	0.00 f
8	San Martín	50	20.42 i	0.00 e	14.76 j	0.00 f
9	San Martín	40	18.32 j	0.00 e	10.85 k	0.00 f
10	San Martín	30	16.35 k	0.00 e	9.21 l	0.00 f
11	San Martín	20	12.08 l	0.00 e	7.14 m	0.00 f
12	San Martín	10	8.07 m	0.00 e	3.89 n	0.00 f
13	Switch	Recomendada	90.78 a	89.00 a	92.44 a	91.78 a
14	Gobernadora	Recomendada	34.00 d	32.11 b	37.11 g	35.78 d
DMSH			0.88	0.68	0.67	0.71

¶Medias con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales con base en la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$); YT1: Y transformada por tipo de propagación y tipo de cepa; GM: Cepa gris/micelio; GC: Cepa gris/conidio; RM: Cepa rosa/micelio; RC: Cepa rosa/conidio. DMSH: diferencia mínima significativa honesta.

En relación al hongo de cepa gris reproducido por conidio (GC), se aprecia que los controles, Switch y Gobernadora, tuvieron estadísticamente el mayor efecto en la inhibición del hongo; sin embargo, destaca el control químico por haber alcanzado 89 % de inhibición, mientras que el orgánico solo logró 32.11 %, es decir 63.92 % menos eficiente que el mejor de los tratamientos. En relación a los extractos de las variedades San Martín y Cristalina, sólo las concentraciones al 100 % pudieron inhibir al hongo en 28.14 y 12.34 %, respectivamente, por lo que su eficiencia fue aún menor (86.13 y 68.4 %, respectivamente) que el producto químico, lo que hace suponer que no son una alternativa para el manejo del hongo cuando es reproducido por conidios. Simultáneamente, se observó de nuevo que la variedad Cristalina puede ser una mejor opción que la variedad San Martín, lo que implica diferencias genéticas y como consecuencia químicas entre ambas.

Los resultados para la cepa rosa reproducida por micelio (RM), indican una mayor susceptibilidad de la misma a los diferentes tratamientos, de tal modo que el producto químico Switch, inhibió hasta 92.44 % el crecimiento del hongo; simultáneamente, el extracto de la variedad Cristalina detuvo el crecimiento desde 52.12 % en la máxima concentración, hasta 35.71 % al 10 % de concentración, siendo ésta última el único tratamiento que fue estadísticamente superado por el producto orgánico. En relación a los tratamientos derivados de la variedad San Martín ninguno alcanzó más del 33.33 % de inhibición del hongo, de tal modo que nuevamente tuvo un menor comportamiento que el de la variedad Cristalina. Si bien el manejo del hongo con los extractos de Cristalina no representa valores por arriba del 52 %, es importante establecer que una concentración al 100 % de dicho extracto mostró una eficiencia de 44.69 % con respecto al Switch, lo que pudiese ser considerado como una opción, particularmente cuando se pretenda establecer un manejo integral de patógeno.

Del mismo modo que en casos anteriores, la cepa rosa reproducida por conidios (RC) resistió en mejor medida a los productos aplicados. En este contexto el producto químico redujo hasta 91.77 % el crecimiento del patógeno, mientras que los extractos al 100, 50, y 40 % de la variedad Cristalina,

inhibieron al hongo en 58.42, 38.51 y 22.71 %, respectivamente, siendo éste último superado por el control orgánico, que alcanzó 35.77 % de inhibición.

Con base en los resultados anteriores, queda demostrado que hay un efecto de interacción de los factores evaluados, donde el producto comercial Switch genera un efecto similar en cualquiera de las condiciones del hongo. En el caso de los extractos, es evidente que el mayor efecto es generado por la variedad Cristalina, lo que implica que genéticamente y por lo tanto químicamente, puede ser explotada para generar productos que inhiban el crecimiento de los hongos, que inclusive superen al del producto orgánico (Gobernadora) utilizado como control en este experimento. Adicionalmente, la concentración fue determinante, pues se observó de manera paralela, una menor eficiencia a medida que la concentración disminuyó, además de que la cepa rosa es más susceptible al manejo particularmente cuando fue reproducida por micelio.

4.2. Actividad fungistática de extractos de *Phytolacca icosandra*, *Arundo donax* y *Sida acuta*

Numéricamente, el rendimiento del extracto de *Arundo donax* fue mayor que el obtenido en *Phytolacca icosandra* y *Sida acuta*, los cuales fueron relativamente similares entre ellos (Cuadro 7).

Cuadro 7. Rendimiento de extractos vegetales de *Phytolacca icosandra*, *Arundo donax* y *Sida acuta*

Planta	Disolvente	Rendimiento (g 100 g ⁻¹ de p. s.)
<i>Phytolacca icosandra</i>	Hexano	28.36
<i>Arundo donax</i>	Metanol	36.79
<i>Sida acuta</i>	Metanol	26.38

4.2.1. Análisis de varianza de la inhibición de *C. gloeosporioides*

Los resultados del efecto seis concentraciones (tratamientos) del extracto metanólico de *Arundo donax* y *Sida acuta*, así como el hexánico de *Phytolacca icosandra* sobre la inhibición del crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides*

generado de los dos tipos de cepa Rosa (R) y Gris (G) propagados por micelio (M) y conidio (C), fueron sometidos a un análisis de varianza (Cuadro 8). Los resultados mostraron diferencia significativa de los extractos, la concentración y su interacción, sobre el porcentaje de inhibición de los diferentes tipos de cepa y propagación (TC-TP) de *C. gloeosporioides*. Los coeficientes de variación para las cuatro variables presentaron valores inferiores a 1.5 %, lo que implica una buena confiabilidad de los resultados obtenidos.

Cuadro 8. Cuadrados medios del análisis de varianza de la inhibición de dos cepas del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* por los extractos de *Phytolacca icosandra*, *Arundo donax* y *Sida acuta* en dos condiciones de propagación.

F.V.	GL	Cuadrados Medios			
		GM	GC	RM	RC
Extracto	4	39256.75**	31913.17**	39909.97**	31980.71**
Concentración	5	4009.98**	6140.81**	4292.05**	6723.61**
Extracto*Concentración	10	932.89**	2648.07**	819.06**	2551.79**
Error	160	0.09	0.08	0.08	0.098
Total	179				
C.V.		1.04	1.09	0.87	1.14

FV: fuente de variación; GL: Grados d Libertad; GM: Cepa gris/micelio; GC: Cepa gris/conidios; RM: Cepa rosa/micelio; RC: Cepa rosa/conidios; CV: Coeficiente de Variación; ** significativo ($P<0.05$); NS: No significativo.

4.2.2. Comparaciones de medias para el efecto de extracto

Debido a que los valores de inhibición se tomaron en porcentaje, fue necesaria una transformación de los mismos para poder ser manejados bajo una distribución normal. En este contexto en los cuadros de comparaciones de medias se crearon dos columnas; la primera que reporta los valores originales y la segunda que contiene los valores transformados con los respectivos estadísticos de la prueba de Tukey.

Los resultados de la prueba de comparación de medias de Tukey (Cuadro 9), muestran un efecto positivo del producto comercial Switch sobre el porcentaje de inhibición de la cepa Gris de *C. gloeosporioides* propagada por micelio (GM), alcanzando una reducción hasta de 90.77 %; es decir 15.42 y 62.54 % más que la inhibición promovida por el extracto de *P. icosandra* y por el testigo orgánico (Gobernadora); adicionalmente, la influencia de los extractos de *A. donax* y *S. acuta* fue poco significativa (2.8 y 1.84 %, respectivamente), particularmente si

se compara con el mejor de los tratamientos (Switch) cuya eficiencia fue en 97.02 y 97.97 % mayor que estos dos.

Cuadro 9. Comparación de medias del efecto de los extractos de *Phytolacca icosandra*, *Arundo donax* y *Sida acuta*, sobre el porcentaje de inhibición de dos cepas del hongo *Colletotrichum gleosporioides* propagado por micelio y conidios.

Extracto	Inhibición (%)							
	GM		GC		RM		RC	
	Real	YT1	Real	YT2	Real	YT3	Real	YT4
<i>P. icosandra</i>	76.77	66.84 b ^t	68.62	59.10 b	81.25	71.15 b	70.83	60.66 b
<i>S. acuta</i>	1.84	4.31 e	1.71	4.12 e	4.08	8.88 d	3.28	6.56 d
<i>A. donax</i>	2.7	5.60 d	2.21	4.89 d	3.72	7.73 e	2.66	5.91 e
Producto comercial Switch	90.77	72.34 a	89	70.65 a	92.44	74.06 a	91.77	73.36 a
Producto comercial orgánico Gobernadora	34	35.66 c	32.11	34.51 c	37.11	37.53 c	35.77	36.73 c
DMSH		0.27		0.25		0.25		0.28

^tMedias con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales con base en la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$); YT1: Y transformada por tipo de propagación y tipo de cepa; GM: Cepa gris/micelio; GC: Cepa gris/conidio; RM: Cepa rosa/micelio; RC: Cepa rosa/conidio. DMSH: diferencia mínima significativa honesta.

En el Cuadro 9, los resultados muestran para la cepa gris propagada por conidio (GC), un 89 % de inhibición como consecuencia de la aplicación de Switch, superando estadísticamente en 22.89 % al efecto del extracto de *P. icosandra*, y 63. 93 % al del control orgánico comercial (Gobernadora); adicionalmente es mayor en 97.51 % el extracto de *A. donax*, y un 98.07 % el extracto de *S. acuta*. Del mismo modo que en GM, los extractos de *A. donax* y *S. acuta* fueron poco efectivos al no inhibir el crecimiento de *C. gloeosporioides* por arriba de 2.1 %.

El producto químico inhibió 92.44 % el crecimiento de *C. gloeosporioides* de cepa Rosa propagada por micelio (RM), de tal modo que superó estadísticamente en 12.10 % al resultado promovido por el extracto de *P. icosandra*, el cual a su vez fue mayor que el efecto logrado por Gobernadora (control comercial orgánico), cuyo comportamiento fue 40.14 % menor que

Switch. Los extractos de *A. donax* y *S. acuta* nuevamente no reflejan una influencia significativa en la reducción del crecimiento del hongo al no superar el 3.72 y 4.08 % la inhibición del patógeno.

Finalmente, el hongo de cepa Rosa propagada por conidios (RC) tuvo una inhibición con el control químico (Switch) del 91.77 %, y superó estadísticamente en 22.81 % a lo generado por el extracto de *P. icosandra*, así como 61.02 % al efecto del control orgánico (Gobernadora). La eficiencia de los extractos de *A. donax* y *S. acuta* fueron 97.16 y en 96.42 % menores que el observado con el producto comercial Switch.

Con base en los resultados anteriores, es evidente que el control químico no inhibe al 100 % el crecimiento del hongo; sin embargo, mostró la mayor inhabilitación del *C. gloeosporioides* en todas las cepas y modos de reproducción, donde adicionalmente la eficiencia de inhibición del extracto de *P. icosandra* fue de 12 a 22 % menor que el de Switch, lo que para algunos investigadores puede ser considerada una buena alternativa para el manejo de la enfermedad por ser orgánico. Por otra parte, el uso del producto comercial orgánico (Gobernadora) y particularmente de los extractos *A. donax* y *S. acuta* no son una buena alternativa para neutralizar el crecimiento del hongo por su baja eficiencia de acción.

Cabe destacar que la inhibición del crecimiento del hongo se vio afectada por el tipo de cepa de origen; la rosa es más susceptible que la gris con cualquiera de los extractos. Asimismo, el tipo de reproducción también tuvo un rol determinante, debido a que las cepas reproducidas por micelio fueron más susceptibles que las generadas por conidio.

4.2.3. Comparaciones de medias para el efecto de concentraciones

Los resultados del cuadro de comparación de medias de Tukey, referentes al efecto de concentraciones de extractos de *P. icosandra*, *A. donax* y *S. acuta* sobre la inhibición en el crecimiento de dos razas de *C. gloeosporioides*

propagadas por micelio y conidio (Cuadro 10), muestran que el producto comercial Switch inhibió en 90.77 % al hongo de la cepa gris propagada por micelio (GM), el cual superó estadísticamente en 43.69 % a la mejor de las concentraciones (100 %), con la cual se afectó 40.7 % el crecimiento del patógeno. La reducción en la concentración de los extractos manifestó un incremento paralelo en la inhibición en el crecimiento del hongo, de tal forma que el control menos eficiente fue el que se obtuvo con la concentración al 10 %. Cabe mencionar que el testigo orgánico (Gobernadora) fue superado por los extractos aplicados al 100 y 50 %, por lo que éstos podrían ser considerados para el manejo del fitopatógeno cuando se pretenda excluir en el manejo el uso de productos químicos.

Cuadro 10. Comparación de medias del efecto de los extractos a seis concentraciones, sobre el porcentaje de inhibición de dos cepas del hongo *Colletotrichum gleosporioides* propagado por micelio y conidios.

Concentración (%)	Inhibición (%)							
	GM		GC		RM		RC	
	Real	YT1	Real	YT2	Real	YT3	Real	YT4
100	40.73	42.91 b ^t	39.15	41.45 b	42.2	44.15 b	40.73	42.83 b
50	35.57	35.93 c	35.36	36.58 c	37.03	39.07 c	36.81	38.80 c
40	30.48	24.33 e	29.91	23.77 e	34.85	34.27 e	31.12	27.29 e
30	28.45	22.50 f	25.06	20.04 f	32.91	29.36 f	28.40	22.46 f
20	17.74	15.24 g	16.21	14.39 g	19.51	16.22 g	17.10	14.88
10	10.86	11.60 h	0.0	0.0 h	12.32	12.48 h	0.0	0.0 h
Producto comercial Switch	90.77	72.34 a	89	70.65 a	92.44	74.06 a	91.77	73.36 a
Producto comercial orgánico Gobernadora	34	35.66 d	32.11	34.51 d	37.11	37.53 d	35.77	36.73 d
DMSH		0.30		0.28		0.28		0.32

^tMedias con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales con base en la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$); YT1: Y transformada por tipo de propagación y tipo de cepa; GM: Cepa gris/micelio; GC: Cepa gris/conidio; RM: Cepa rosa/micelio; RC: Cepa rosa/conidio. DMSH: diferencia mínima significativa honesta.

La cepa gris propagada por conidio (GC) tuvo una inhibición del 89 % por la aplicación del control comercial químico, esto es 56 y 60.26 % mejor que el efecto de las mejores concentraciones de los extractos (100 y 50 %, respectivamente) y 63.92 % que el control orgánico Gobernadora. Una reducción de inhibición del crecimiento del hongo se observó a medida que la

concentración de los extractos fue más bajo, alcanzando un efecto nulo al 10 % de concentración.

La mayor inhibición (92.44 %) en el crecimiento de la cepa Rosa propagada por micelio (RM) fue promovida por la aplicación de Switch, mientras que el mejor de los extractos evaluados (al 100 % de concentración) sólo inhibió 42.2 % al patógeno, es decir 54.34 % menos que el producto químico comercial. Los extractos a concentraciones de 50 y 100 %, superaron estadísticamente el producto orgánico comercial, no así el resto de los tratamientos cuya eficiencia fue menor conforme la concentración descendió.

Para el caso de la cepa Rosa propagada por conidio (RC), se encontró una inhibición del hongo de 91.7 % por la aplicación del tesigo químico, el que a su vez superó estadísticamente al efecto de los extractos a concentraciones de 100 y 50 %, lo que representa 55.61 y 59.88 % menos eficiencia que el mejor de los tratamientos; en el mismo contexto, el control orgánico (Gobernadora) fue menor en 61.02 %, y el resto de las concentraciones no contrarrestaron el crecimiento del patógeno por arriba del 35 %.

Bajo estas circunstancias, la inhibición del *C. gloeosporioides* en las cuatro modalidades evaluadas, la aplicación del producto químico Switch fue la única alternativa que permitió el control del patógeno por arriba de al menos 89 %, de tal modo que queda abierta la búsqueda de la alternativa que contrarreste totalmente al hospedero. Adicionalmente, los extractos en concentraciones de 100 y 50 %, si bien tienen una eficiencia en el control del hongo menor al 50 % con respecto Switch, superan estadísticamente al testigo orgánico (Gobernadora), de tal modo que dichos productos pueden ser considerados para el manejo del hospedero cuando se trate de un manejo orgánico, o bien como parte de un programa integral. Los extractos a concentraciones menores al 40 %, no pueden ser considerados como una buena alternativa para reducir la inhibición del *C. gloeosporioides* s, debido a que su eficiencia no fue mayor al 37 %, con respecto al mejor de los tratamientos (Switch).

Cabe destacar que la efectividad del control químico comercial Switch se debe a que este se encuentra conformado de ciprodinil en un 37.5 % que posee un carácter sistémico, debido a que altera la síntesis de algunos aminoácidos y de fludioxonil en un 25 % el cuál inhibe la germinación de conidios y el crecimiento del tubo germinativo y del micelio.

4.2.4. Comparaciones de medias para la interacción

Debido a que el análisis de varianza se presentó efecto significativo de las interacciones de extractos por concentración para los cuatro sistemas de *C. gloeosporioides* evaluados (Cuadro 8), se procedió a llevar a cabo una prueba de comparación de medias (Cuadro 11) donde se observa que la cepa gris propagada por micelio (GM) fue inhibida al 100% por el extracto de *P. icosandra* a concentraciones de 100 y 50 %, mientras que a 40 %, el efecto inhibitorio fue de 91.46 %, superando inclusive a lo logrado por el control químico Switch (90.78 %); extracto de *P. icosandra* diluido al 30 fue 15 % menos eficiente que el mejor de los tratamientos, mientras que las concentraciones restantes no inhiben más del 50 % del crecimiento. Los extractos de *S. acuta* y *A. donax*, no mostraron buena eficiencia en el control del fitopatógeno al no detener el crecimiento por arriba del 13.35 y 8.83 %, respectivamente.

El efecto de los extractos vegetales en la cepa gris propagada por conidios (GC), promovieron un inhibición total con el extracto de *P. icosandra* a concentraciones del 100 y 50 %, mientras que el efecto de 40 % de concentración y el control químico detuvieron el crecimiento del hongo en 89.75 y 89 %, respectivamente. Los extractos de *P. icosandra* al 40 y 30 %, superaron el efecto del producto comercial orgánico, mientras que los mejores resultados de los extractos de *S. acuta* y *A. donax* (8.4 y 9.13 %, respectivamente), se lograron a 100 % de concentración, de tal modo que nuevamente no fueron eficaces para contrarrestar el crecimiento del hospedero.

Cuadro 11. Comparación de medias del efecto de los extractos de *Phytolacca icosandra*, *Arundo donax* y *Sida acuta* a seis concentraciones, sobre el porcentaje de inhibición de dos cepas del hongo *Colletotrichum gleosporioides* propagado por micelio y conidios.

Tratamiento	Extractos	Concentración (%)	Inhibición			
			GM (%)	GC (%)	RM (%)	RC (%)
1	<i>P. icosandra</i>	100	100 a	100 a	100 a	100 a
2	<i>P. icosandra</i>	50	100 a	100 a	100 a	100 a
3	<i>P. icosandra</i>	40	91.46 b	89.75 b	98.41 b	90.37 c
4	<i>P. icosandra</i>	30	85.38 d	75.18 d	95.73 c	85.22 d
5	<i>P. icosandra</i>	20	51.27 e	46.84 e	56.38 e	49.41 e
6	<i>P. icosandra</i>	10	32.58 g	0 k	36.98 f	0 k
7	<i>S. acuta</i>	100	8.83 i	8.34 h	9.96 h	7.62 h
8	<i>S. acuta</i>	50	2.24 k	1.92 j	5.52 i	5.37 i
9	<i>S. acuta</i>	40	0 l	0 k	3.87 j	2.99 j
10	<i>S. acuta</i>	30	0 l	0 k	3.02 k	0 k
11	<i>S. acuta</i>	20	0 l	0 k	0 m	0 k
12	<i>S. acuta</i>	10	0 l	0 k	0 m	0 k
13	<i>A. donax</i>	100	13.35 h	9.13 g	16.64 g	14.61 g
14	<i>A. donax</i>	50	4.47 j	4.18 i	5.57 i	5.07 i
15	<i>A. donax</i>	40	0 l	0 k	2.29 l	0 k
16	<i>A. donax</i>	30	0 l	0 k	0 m	0 k
17	<i>A. donax</i>	20	0 l	0 k	0 m	0 k
18	<i>A. donax</i>	10	0 l	0 k	0 m	0 k
19	Switch	Recomendada	90.78 c	89 c	92.44 d	91.78 b
20	Gobernadora	Recomendada	34 f	32.11 f	37.11 f	35.78 f
DMSH			0.64	0.60	0.52	0.64

^aMedias con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales con base en la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$); YT1: Y transformada por tipo de propagación y tipo de cepa; GM: Cepa gris/micelio; GC: Cepa gris/conidio; RM: Cepa rosa/micelio; RC: Cepa rosa/conidio. DMSH: diferencia mínima significativa honesta.

Para el caso de la cepa rosa propagada por micelio (RM), el extracto de *P. icosandra* inhibió en su totalidad al hongo en concentraciones del 100 y 50 %, superando a la aplicación al 40 % y 30 % de concentración, así como al testigo químico (Switch) en 1.5, 4.27 y 7.56 %, respectivamente, lo que implica que

estos últimos detuvieron el crecimiento por arriba del 92 %, siendo una buena alternativa para el manejo de la enfermedad. El resto de las concentraciones de *P. icosandra* no inhibieron más allá del 50 % al hongo, en tanto que los mejores de los extractos de *Arundo donax* y *Sida acuta*, logrados con 100 % de concentración, sólo alcanzaron afectar en 16.64 y 9.96 % el incremento del hospedero.

Una dinámica similar a las tres anteriores fue observada en la cepa rosa propagada por conidio (RC) ya que el extracto de *P. icosandra* inhibió al 100% el crecimiento del hongo a concentraciones del 100 y 50 %, superando al químico Switch en 8.22 % y a las concentraciones de 40, 30 y 20 % de *P. icosandra* 9.63, 14.78, 50.59 %, con inhibiciones del 90.37, 85.22 y 49.41 %, respectivamente. El testigo orgánico (Gobernadora) fue 64.22 % menos eficiente que los mejores tratamientos, así como los extractos al 100 % de concentración de *S. acuta* y *A. donax* las cuales solo alcanzaron a inhibir el crecimiento de las colonias en 7.62 y 14.61 %.

El efecto del control químico con Switch mantuvo porcentajes por arriba del 89 % de inhibición, no obstante, se puede establecer que el extracto vegetal de *P. icosandra* al mostrar el mayor efecto para el manejo de *C. gloeosporioides*, a concentraciones del 100, 50 y 40 %, puede ser una buena alternativa para el control orgánico del patógeno, no así para los extractos de *A. donax* y *S. acuta* debido a que resultaron ser poco eficientes para el manejo del hongo *C. gloeosporioides*. Cabe destacar que el análisis indicó que la cepa rosa fue más susceptible a los tratamientos que cepa gris, además que los extractos fueron menos eficientes ante los hongos propagados por conidios.

4.3. Concentración Inhibitoria Media (CI₅₀)

Los resultados de la Concentración inhibitoria media (CI₅₀) determinada mediante un análisis Probit, muestran que la CI₅₀ del extracto de *P. icosandra*, es de 13.88 % en la condición (RM); para la condición (GM) se obtuvo de 15.82 %, mientras que para los hongos propagados por conidio, es recomendable concentraciones de 20.58 y 21.42 % para las cepas Rosa y Gris, respectivamente (Figura 9). El extracto de *O. ficus-indica* var. Cristalina se necesita a concentraciones del 74.82 % en la condición (RM) y una concentración del 76.35 % en condición (RC). Los valores de CI₅₀ coinciden con los resultados anteriores, ya que confirman que el extracto metanólico de *P. icosandra* presentó mayor efecto fungiestático en el hongo que los extractos restantes, debido a que con una menor concentración (13.88 %) se logró la inhibición de 50 % del desarrollo del micelio de la cepa Rosa. Cabe destacar que este hongo *C. gloeosporioides* es una especie de las más agresivas pertenecientes a este género, ya que es considerado uno de los hongos más exitosos en el ataque a vegetales (Nuñez, 2012).

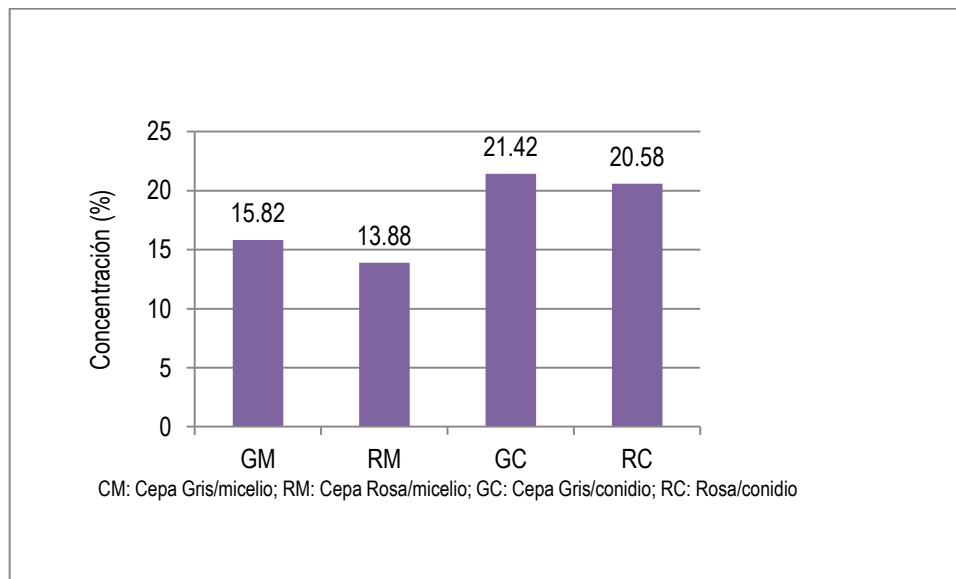


Figura 9. Concentración Inhibitoria Media (CI₅₀) de los extractos de *P. icosandra* en dos condiciones de propagación y dos cepas de *C. gloeosporioides*.

El efecto de los extractos para el caso de *P. icosandra* y de *O. ficus-indica* var. Cristalina, se podrían explicar a varias razones: a) debido a la afectación de algunas las rutas metabólicas del hongo evitando la correcta absorción de nutrientes (Drori *et al.*, 2003; Prusky *et al.*, 2001; Serrano-Rojero, 2007); b) imposibilidad de activar las vías de transducción de señales involucradas en la diferenciación y germinación de conidios (Yakoby *et al.*, 2000 y Prusky *et al.*, 2001); c) a la composición química de los extractos de cada especie vegetal.

El efecto del extracto de *P. icosandra* se puede atribuir a la presencia reportada de saponinas esteroidales formadas por triterpenoides tetracíclicos, identificadas en extractos etanólicos de *P. icosandra* (López-Fuentes, 2000). Sparg *et al.* (2004) señalan que diferentes especies del género *Phytolacca* (*Phytolaccaceae*) contienen saponinas y muestran actividad fungicida, así como molusquicida (Treyvaud *et al.*, 2000). En el estudio fitoquímico realizado por Ángeles-Martínez *et al.* (2011) identificaron cualitativamente la presencia terpenoides en *P. icosandra* a lo que atribuyen en parte la actividad del extracto contra *Trialeurodes vaporariorum*. Treyvaud *et al.* (2000), así como, Sparg *et al.* (2004) describen la presencia de saponinas (terpenoides) con efectos tóxicos (Abdel-Gawad *et al.*, 1999) y efectos antimicóticos en los extractos de *Solanum chrysotrichum* (Zamilpa *et al.*, 2002). Al respecto, se ha utilizado el cultivo de células de *Solanum chrysotrichum* como una alternativa para la producción de saponinas con actividad antimicótica (Villareal *et al.*, 1998). Cheeke (2000) señala que las saponinas de diferentes fuentes vegetales varían ampliamente en su toxicidad y efectos farmacológicos, como fisiológicos relacionado a su estructura químicas. Este tipo de metabolitos se han reportado en plantas que poseen actividad fungicida como *Dioscorea composita* (Ousbourn, 1996).

En extractos de *A. donax* se reportan la presencia de alcaloides (Kruzhaev *et al.*, 2004; Zhalolov *et al.*, 2000) y terpenoides (Miles *et al.*, 1993). Smith (1977) señala la toxicidad de *A. donax* por la presencia de derivados indolalquilaminas (triptaminas) y *S. acuta* se reporta la presencia de alcaloides (Karou *et al.*, 2003 ; 2005; Banzouzi *et al.*, 2004); flavonoides (Prakash *et al.*, 1981 ; Ángeles

et al., 2011) y terpenoides (Karou *et al.*, 2007; Ángeles *et al.*, 2011), sin embargo no se describe la presencia de saponinas, lo cual podría explicar en parte los resultados obtenidos en el presente estudio.

Las diferencias que existen entre las variaciones de la actividad por tipo de cepa y forma de propagación del hongo y tipo de extracto son marcadas, además, se observó que existe una respuesta diferencial del hongo debido a la composición química de los extractos. Lo que podría explicar el efecto fungistático en mayor medida del extracto de *P. icosandra* seguido del extracto de *O. ficus-indica* var. Cristalina.

8. CONCLUSIONES

El producto comercial Switch inhibió entre el 89 y 92 % el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides*

Entre los extractos de *O. ficus indica*, el de la variedad Cristalina mostró el mejor efecto inhibitorio al 100 % de concentración, aunque no redujo el crecimiento del *Colletotrichum gloeosporioides* por arriba del 58 %.

Un porcentaje total de inhibición de *Colletotrichum gloeosporioides*, fue logrado por la aplicación del extracto de *Phytolacca icosandra* al 50 % de concentración en cualquiera de las cepas y modos de reproducción estudiados.

El uso de extractos de *Arundo donax* y *Sida acuta*, no son una alternativa para el control de *Colletotrichum gloeosporioides*.

La cepa rosa de *Colletotrichum gloeosporioides* propagada por micelio, fue la más susceptible a la inhibición de su crecimiento como respuesta a la aplicación de los tratamientos evaluados.

6. REFERENCIAS

1. Abdel-Gawad, M. M., M. El-Sayed y E. Abdel-Hameed, 1999. Molluscicidal steroidal saponins and lipid content of *Agave decipiens*. *Fitoterapia* 70:371-381.
2. Agostin, J. P, Timer, L. W., y Michell, D. J. 1992. Morphological and pathological characteristics of strains of *Colletotrichum gloeosporioides* from citrus. *Phytopathology* 82: 1377-1382.
3. Agrios G. N. 2002. Fitopatología. Editorial Limusa. México, D.F. 838p.
4. Alarcón R. J. J., Chavarriaga M. W. 2007. Diagnóstico precoz de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) (Penz) Penz and Sacc. En tomate de árbol mediante el empleo de infecciones quiescentes. *Agron.* 15(1):89-102.
5. Al-Taweil, H. I., Osman, M. B., Aidil, A. H., and Wan-Yussof, W. M. 2009. Optimizing of *Trichoderma viride* cultivation in submerged state fermentation. *American Journal Applied Science* (6):1277-1281.
6. Andrade R. J. 1996. Frigopreservación de seis variedades de tuna *Opuntia* spp. (amarilla montesa, burrona, copena, cristalina, picochulo y torryoja). Tesis profesional. Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo. México. 64p.
7. Ángeles M. O., García M. M.R., Rodríguez P. E. Sánchez A. E. y Soto H. M. 2011. Toxicidad de extractos vegetales para el control de *Trialeurodes vaporariorum* W. (Homoptera: Aleyrodidae) en laboratorio y en cultivo de tomate en invernadero. *J. Agric. Univ. Puerto Rico* 95(3-4):117-132.
8. Arauz, F. L., Mora, D. 1983. Evaluación preliminar de los problemas postcosecha en seis frutas tropicales de Costa Rica. *Agronomía Costaricense* 7(1/2):43-53.
9. Banzouzi, J.T., R. Prado, H. Menan, A. Valentin, C. Roumestan, M. Mallie, Y. Pelissier and Y. Blache, 2004. Studies on medicinal plants of Ivory Coast: investigation of *Sida acuta* for *in vitro* antiparasitoid activities and identification of an active constituent. *Phytomedicine* 11:338-341.
10. Baños-Guevara, P.E., Zavaleta-Mejía, E., Colinas-León, M.T. Luna-Romero, I. y Gutiérrez-Alonso, J. G. 2004. Control biológico de *Colletotrichum gloeosporioides* en papaya Maradol Roja y fisiología postcosecha de frutos infectados. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 2:198-205.
11. Barnett, H.L y Hunter, B.B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Cuarta edición. Minesota. APS Press. 218 p.
12. Bautista-Baños, S., Barrera- Necha L. L., Bravo Luna, L. and Bermúde Torres, K. 2002. Antifungal activity of leaf and stem extracts from various plant species on the incidence of *Colletotrichum gloeosporioides* of papaya and mango fruit after storage. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20: 8-12.
13. Bharat K. P. and Hemant K.B. 2008. Ethnomedicinal plant use by Lepcha tribe of Dzongu Valley, Bordering Khangchendzonga Biosphere Reserve, in North Sikkim, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 4:4-22.
14. Bianchi, A., Zambonelli, A., Daulerio, A.Z., and Bellesia, F. 1997. Ultrastructural studies of the effects of *Allium sativum* on phytopathogenic fungi *in vitro*. *Plant Disease* 81:1241-1246.
15. Binyamini, N., Schiffmann-Nadel, M. 1971. Latent infection in avocado fruit due *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology*. 62:592-594.
16. Bolaños A. N. E., Chavarría M. Y., Chávez S. J. L., Guzmán G. R. I., Silva H. R., Verdalet G. I. 2012. Caracterización fisicoquímica de siete variedades de Tuna (*Opuntia* spp.) color rojo-violeta y estabilidad del pigmento de las dos variedades con mayor concentración. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. 55:3-10.

17. Bolkan, H. A., Cupertino, F. P., Dianese, J. C. and Takatsu, A. 1976. Fungi associated with pre and post-harvest fruit rots on papaya and their control in central Brazil. *Plant Disease Reporter* 60:605-609.
18. Boose H. 2002. Environmental effects on asexual reproduction in *Arundo donax*. Department of Botany and Plant Sciences. University of California. Riverside, USA. *Weed Research*. 39:117-127.
19. Bravo-Hollis H. 1978. Las cactáceas de México. Segunda edición. Universidad Nacional Autónoma de México. México. Vol. 1. 743 p.
20. Cáceres, M.I., Martínez, E. and Torres, F. 1998. Efecto del tiabendazol y extracto de semilla de toronja en el control de enfermedades de curuba en pre y postcosecha en Nuevo Colón (Boyaca). *Fitopatología Colombiana*. 22: 35-38.
21. Cakir, A., Kordali, S., Kilic, H., and Kaya, E. 2005. Antifungal properties of essential oil and crude extracts of *Hypericum linarioides* Bosse. *Biochemical Systematics and Ecology*. 33: 245–256.
22. Cantwell, M. 1995. Postharvest management of fruits and vegetables stems. En *Agro-ecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear*, G. Barbera, P. Inglese and E. Pimienta-Barrios. Eds., FAO Plant Production and Protection Paper. Roma, Italia. 132:120-143pp.
23. Carrasco, R., C. Encina. 2008. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas, *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 74(2)108-124.
24. Castro, B. y Restrepo, L. 2004. Efectos de tratamientos postcosecha sobre la prolongación de la maduración del baby banano (*Musa accuminata*). *Memorias XVI Reunión Internacional Acobat*. Oaxaca, México. 273-274
25. Cavallito, C.J. and Bailey, H.J. 1994. Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties and antibacterial action. *J. American Chemistry Society* 66:1950-1963
26. Cedeño, L., Mohali, S., y Palacios Prü, E. 1993. Antracnosis causada por dos cepas de *Glomerella congesta* en frutos de parchita. *Fitopatol. Venez.* (6):30-33.
27. Chau, K. F. and Álvarez, A. M. 1983. A histological study of anthracnose in *Carica papaya*. *Phytopathology* 73:113-116.
28. Cheeke, P. R. 2000. Glycosides. *En: Toxicants of Plant Origin*. Ed. CRC Press. Boca Raton, Florida. USA. 98-140pp.
29. Chellaiah. R., Muniappan, A. M., Nagappan R. and Savarimuthu I. 2006. Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepura District of Tamil Nadu, India. *Entomology Research Institute, Loyola College, Chennai*. 69:2-43.
30. Chopra R. N., Nayar S. L. and Chopra I. C. 1986. *Glossary of Indian Medicinal Plants*. Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi. India. 185p.
31. Contreras, C., 2006. Caracterización y pruebas de patogenicidad cruzada entre aislamientos de *Colletotrichum spp.* Obtenidos de frutos de lulo (*Solanum quitoense* Lam), tomate de árbol (*Solanum betacea* Sendt), granadilla (*Passiflora ligularis* Juss), mango (*Mangifera indica* L) y tallos de mora (*Rubís glaucus* Benth) con síntomas de antracnosis. Trabajo de grado presentado como requisito para la carrera de Microbiología Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana. 104p.

32. Correa, G. L., Lavalett, M.P., Afanador, L. 2007. Use of multivariate methods for grouping strains of *Colletotrichum* spp. Based on Cultural and Morphological Characters. Rev. Fac. Nal. Agro. Medellín 60(1):3671-3690.
33. Cutler, H. G., Cutler, S. J. 1999. Biological active natural products: Agrochemicals. Boca Raton, USA: CRC Press. 299 p.
34. Dayan, F.E., Cantrell, C.L. and Duke, S.O., 2009. Natural products in crop protection. Bioorg. Med. Chem. 17: 4022–4034.
35. Dhyngra, O.D., Sinclair. B.J. 1995. Basic Plant Pathology Methods. CRC.Press.434p.
36. Drori, N., Kramer, H., Haimovch, Rollins, J., Dinoor, A., Ocoton, Y., Pines, O., and Prusky, D. 2003. External pH and nitrogen source affect secretion of pectate lyase by *Colletotrichum gloeosporioides*. Applied and Enviromental Microbiology 69:3258-3262.
37. Dubos, B. 1984. Biocontrol of *Botrytis cinerea* on grapevines by antagonistic strain of *Trichoderma harzianum*. In: M.J. Klub and C.A. Reedy .Ed. Current.26-32 pp.
38. Duke J. A., Wain K. K. 1981. Medicinal plants of the world. Computer index with more than 85 000 entries. 3:245p.
39. Ezziyyani, M; Requena, M. E. y Candela M. E. 2005. Producción de proteínas- PR en la inducción de resistencia a *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.) tratadas con *Trichoderma harzianum*. Anales de Biología 27:143-153.
40. Fairbanks, M. 2001. Defensivos agrícolas amplio mercado. Rev. Quim. Deriv. 398: 398–403.
41. FAOSTAT, 2011. Consultado el 11 de mayo del 2014, de <http://faostat3.fao.org/home/index.html#download>
42. Femenía, M. 2007. Caracterización química de cepas de hongos del género *Colletotrichum*: Síntesis de gloeosporiol. Diseño y síntesis de modelo de agentes fungiestáticos, Tesis de grado, Universidad de Cádiz, Facultad de Ciencias, Departamentos de Química orgánica, España.95p.
43. Fernández-Larrea, V. O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control Fitosanitario Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 62: 96 -100.
44. Finney, D.J. 1971. Probit Analysis. 3rd. ed. Cambridge University Press. London. 318p.
45. Frati, M. A. C., J.A. Fernández, H., H. de la Riva; R, Ariza A. y M. Torres. 1983. Efecto del nopal (*Opuntia* sp.) Sobre los lípidos séricos, glucemia y el peso corporal. Rev. Med. IMSS. México. 14-117.
46. Fakhrunnisa, H.and Ghaffar A. 2006. *In vitro* interaction of *Fusarium* spp., with other fungi. *Pakistan Journal of Botany*. 38: 1317-1322.
47. French, R.E. y Hebert T. 1982. Métodos de investigación fiopatológica. 1ªed., 1ª reimpresión. IICA. San José de Costa Rica. Serie de libros y material educativo. No. 43:290.
48. García-Mateos, M. R., Elizalde, S. E., Espinosa-Robles P., Álvarez-Sánchez M. E. 2007. Toxicity of *Petiveria alliacea* L. on white fly (*Trialeurodes vaporariorum* West.) in laboratory and greenhouse. Interciencia 32:121-125.
49. Galati, E.M., M.R. Mondello, D. Giuffrida, G. Dugo, N. Miceli, S. Pergolizzi y M. F. Taviano. 2003. Chemical characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity, Journal of Agricultural and Food Chemistry: 51:4903-4908.

50. Ghosal, S., Duta, K , Sanyal, T.and Bhattacharya, J.. 1999. *Arundo donax* L. (Graminae), Phytochemicals and Pharmacological Evaluation. Journal of Medical Chemystri. 12:480.
51. Golam, M., Ilag, L. L. 1999. Potential for Biocontrol of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. y Maubl. in Banana Fruits by *Trichoderma* Species. Biological Control 15: 235–24.
52. Goñi, P., López P., Sánchez, C., Gómez-Lus R., Becerril R. and Nerín C. 2009. Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. Food Chemistry. 116: 982-989.
53. Grainge M., Ahmed S. 1988. Handbook of plants with pest control properties. John Willey & sons. NY. USA. 470 p.
54. Granados, S. D., Castañeda, D. P. 1997. El nopal, fisiología, genética e importancia frutícola. Editorial Trillas. México, D.F. 227 p.
55. Griffith, P. M. 2004. The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): new molecular evidence. American Journal of Botany 91:1911-1921.
56. Guédez, C., Cañizales, L., Castillo, C. y Olivar, R. 2009. Efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* sobre algunos hongos patógenos postcosecha de la fresa (*Fragaria* sp). Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología 29: 34-38.
57. Hanselka, W. y Falconer, L. 1993. An economic assessment of prickly pear management in south Texas. En: Proc. 4th. Annual Texas Prickly Pear Council. Kingsville, Tx. U.S.A.46-55 pp.
58. Hopkins W. G. 1999. Introduction to the plant physiology. John Wiley and Sons. 2^a Edición. USA. 512 p.
59. Ibarra E. E., Téllez M. R., Soto-Hernández M., Martínez V. M., García-Mateos R. y San Miguel-Chávez R. 2009. Actividad antimicótica *in vitro* de Erisovina. Rev. Fitotec. Mex. 32(4):327-330.
60. Karou D., M.H. Dicko S. Sanon, J. Simporé and A.S. Traore, 2003. Antimalarial activity of *Sida acuta* Burm. f. (Malvaceae) and *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). J. Ethnopharmacol. 89:291–294.
61. Karou D., S. Aly C. A. , Saydou, M. C. and Jacques C. Vittorio and A.S. Traore, 2005. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. Afr. J. Biotechnol. 4:1452–1457.
62. Karou, S. D., M.W.C. Nadembega, D.P. Ilboudo, D. Ouermi, M. Gbeassor, C. De Souza and J. Simporé, 2007. *Sida acuta* Burn. F.: a medicinal plant with numerous potencies. Afr. J. Biotechnol. 6:2953-2959.
63. Kruzhaev, V.U., I. Zh. Zhalolov, M. G. Levkovich, S. E. Aripova, A.S. Shashkov, 2004. Alkaloids of *Arundo donax* L. A new dimeric indole alkaloid arundarine from the roots of *Arundo donax* L. Rus. Chem. 53:1765-1767.
64. Kyu, K. W. N., Jitareerat, P., Kanlajanarat, S. and Sangchote, S. 2007. Effects of cinnamon extract, chitosan coating, hot water treatment and their combinations on crown rot disease and quality of banana fruit. Postharvest Biology and Technology (45):333-340.
65. Lenné, J. M. 1992. *Colletotrichum* diseases of legumes. En: Bailey, J. A. y M. J. Jeger. 1992. *Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control. British Society for Plant Pathology (Ed.) UK. 134-165 pp.
66. Leroux, P. 2003. Mode of action of agrochemicals towards plant pathogens. Comptes Rendus biologiques 326:9-21.
67. Lim, TK and Rohrbach, KG., 1980. Role of *Penicillium funiculosum* strains in the development of pineapple fruit diseases. Phytopathology 70:663-665.

68. Loaiza, J.E., Rivera, G. 2000. Potencial biocida de extractos de *Gliricida psepium* contra patógenos del cultivo de la papaya. *Agronomía Costarricense* 1:29-36.
69. López, Fuentes L. G. 2000. Cuantificación de sapogeninas esteroideas en *Phytolacca icosandra* L. (saquichán). Tesis para obtener el grado de Químico farmacéutico. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias químicas y farmacia. 61 p.
70. Macias, F. A., Castellano, D., Oliva, R. M., Cross, P., and Torres, A. 1997. Potential use of allelopathic agents as natural agrochemicals. *Proceedings of Brighton Crop Protection Conference—Weeds*. Brighton, UK.33-38.
71. Manner, J.M., Masel, A., Braithwhite, K.S., and Irwin, J.A.G. 1992. Molecular analysis of *Colletotrichum gloeosporioides* pathogenic on the tropical pasture legume *Sthylasantos*. In: J.A. Bailey and M.J. Jegers (eds) *Colletotrichum*; Biology, pathology and control. British society for plant pathology. C.A.B. International. London, England. 250-268.
72. Manual de Procedimientos, CORPOICA. 2001. Obtención de Cultivos monospóricos.89 p.
73. Maqbool, M., Ali, A., Ramachandran, S., Smith, D.R., Alderson, P.G. 2010. Control of postharvest anthracnose of banana using a new edible composite coating. *Crop Prot.* 29:1136–1141.
74. Marín, B., Villadiego, M. y Barrera, J. 2006. Evaluación de extractos vegetales para el control de *Mycosphaerella fijiensis* en Plátano Harton (Musa ABB) en Córdoba- Colombia. XVII Reuniao Internacional de Associacao para a Cooperacao nas Pesquisas sobre Banano no Caribe na America Tropical. ACORBAT. Joinville, Santa Catalina, Brasil. 560-571.
75. Martínez, B.R. y Estrada, N. L. 1994. Importancia de la antracnosis *Colletotrichum gloeosporioides* y la roña *Sphaceloma perseae* en la producción de aguacate en Michoacán. Facultad de Agrobiología U.M.S.N.H. Documento inédito.18 p.
76. Martínez, M. A., Hernández H. L. U., Osorio O. R., Alia T. I., López M. V., Bautista B. S.y Guillén S.D. 2008. Incidencia y severidad de *Botryodiplodia theobromae* en frutos de zapote mamey en Jalpa de Méndez, Tabasco, México. *UDO Agrícola*. 8 (1):29-32.
77. Maumbe, B. M., and Swinton, S. M. 2003. Hidden health costs of pesticide use in Zimbabwe's smallholder cotton growers. *Soc. Sci. Med.* 57: 559-1571.
78. Meepagala, K. M.; Sturtz, G. and Wedge, D. E. 2002. Antifungal constituents of the essential oil fraction of *Artemisia drancunculus* L. var. *dracunculus*. *J. Agric. Food. Chem.* 50:6989-6992.
79. Menezes-Morales, J. and Hanlin, R. T. 1996. Appressoria of brazilian isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sacc. Causal agent of anthracnoses disease. *Revista de Microbiología* 27: 247-251.
80. Méndez, T. Estructura y fisiología de los hongos patógenos. 2008. En: López-Martínez R, Méndez-Tovar LJ, Hernández-Hernández F. *Actualidades en Micología Médica* 4ta ed. Cap. 3. México. UNAM. 7-12 pp.
81. Méndez, G., S. J. 1999. Cultivo y manejo de la grana cochinilla. En: Llandarel C., C. y R. Nieto H., eds. *Cría de la grana cochinilla del Nopal para la producción de su pigmento*. Instituto de Fito sanidad Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 69-78 pp.
82. Mihaliak, C.A.; Gershenzo, J. and Croteau, R. 1991. Lack of rapid monoterpene turnover in rooted plants, implication for theories of plant chemical defense. *Oecologia* 87:373-376.
83. Miles, D.H., K. Tunsuwan, V. Chittawong, U. Kokpol, M.I. Choudhary and J. Clardy, 1993. Boll weevil antifeedants from *Arundo donax*. *Phytochemistry* 34:1277-1279.

84. Misra, N. Batra, S., Mishra, D. 1988. Fungitoxic Properties of the Essential Oil of *Citrus limon* (L.) Burm. Against a Few Dermatophytes. *Mycoses* 7:380-382.
85. Molina, B.E, Ronquillo, E. J., Bautista, B. S., J.R. Verde, C. J.R. and Morales, L. J. 2010. Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings. *Postharvest Biology and Technology* 57:132–137.
86. Montes, B.R.; Sandoval, G.G. y Orozco, R.C. 1990. Extractos vegetales inhibidores de la germinación de urediosporas de *Uromyces phaseoli* var. *Typica* Arth. Y su espectro de acción antiesporulante. *Revista Mexicana de Fitopatología* 8: 64-67.
87. Morales, G.J.L. 1997. Enfermedades del fruto de aguacate, dinámica, efectos en postcosecha y control. IV curso de aprobación fitosanitario en el manejo del aguacate. Memoria. Facultad de agrobiología "Presidente Juárez". 386 p.
88. Murray P.R., Baron M. A., Pfaller F.C., Tenover R. H. 1995. *Manual of Clinical Microbiology* 6. ASM. Washington, USA. 1005.
89. NAS, National Academy of Sciences. 1978. Postharvest food losses in developing countries. Board on Sciences and Technology for International Development. Washington D.C. U.S.A. 202.
90. Nikos, G. T. 2007. Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 8: 111–116.
91. Nuñez O. V. 2012. Bacterias antagonistas con potencial para el control biológico postcosecha de la antracnosis en papaya (*Carica papaya*). Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Producción Agrícola Sustentable. Centro Interdisciplinario de Investigación Para el Desarrollo Integral Regional Unidad Michoacán. IPN. 117 p.
92. Ochoa, C.E. y J.A. 2010. Guerrero, La tuna: una perspectiva de su producción, propiedades y métodos de conservación, *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, Universidad de las Américas Puebla, México: 4(1), 49-63.
93. Odoux E. y A. Dominguez-López. 1996. Le figuier de Barbarie: une source industrielle de betalaines? *Fruits*. 51(1):61-78.
94. Ousbourn A.E. 1996. Saponinas and plant defense: a soap story. *Trends Plant Sci.* 1:4-9.
95. Prakash, A., R.K. Varma and S. Ghosal, 1981. Alkaloidal constituents of *Sida acuta*, *S. humilis*, *S. rhombifolia* and *S. spinosa*. *Planta Med.* 43:384-388.
96. Pantastico, E.B. 1979. Fisiología de la postrecolección. Manejo y utilización de frutas y hortalizas tropicales y subtropicales. Ed. Continental. México. 529.
97. Paul, R. E., Nishijima, W. Reyes and Cabaletto, C. 1997. Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L): *Postharvest Biology and Technology* 11: 165-179.
98. Piga, A., A. Del Caro, I. Pinna y M. Agabbio. 2003. Changes in ascorbic acid, polyphenol content and antioxidant activity in minimally processed cactus pear fruits. *Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie*: 36, 257-262.
99. Pimienta B. E. 1999. Agroecología, cultivo y usos del nopal. FAO. Roma. 126-136 pp.
100. Pimienta Barrios, E. 1990. El Nopal Tunero. Universidad de Guadalajara. Jalisco, México. 246 p.
101. Pimienta-Barrios, E. and A. Muñoz-Urias. 1995. Domestication of Opuntias and cultivated varieties. In: Barbera, G.; Inlgese, P.; Pimienta-Barrios, E. Ed. *Agro-ecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear*. International Technical Cooperation Network on Cactus Pear. FAO publications. Rome, Italy. 58-61.

102. Praskash A., Varma R. K., Ghosal S. 1981. Alkaloids constituents of *Sida acuta*, *S. humilis*, *S. rhombifolia* and *S. spinosa*. Pharmaceutical Chemistry Research Laboratory, Department of Pharmaceutics, Banaras Hindu University, Varanasi, India. *Plant Med.* 43(12):38-48.
103. Prusky, D., McEvoy, J., Leverentz, R., and Conway, W. 2001. Local modulation of host pH by *Colletotrichum* species as a mechanism to increase virulence. *Phytopathology* 9:1105-1113.
104. Ramírez H. B. C., Pimienta B. y L. Méndez M. 1995. Efecto de la ingestión del fruto de *Opuntia joconostle* Web sobre la glucemia y lípidos séricos. En: E. Pimienta B., D. Neri L. A. Muñoz U. y F. M. Huerta M. eds. *Memorias del VI Congreso Nacional y VI Internacional sobre el conocimiento y aprovechamiento del Nopal*. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Red Internacional de Cooperación Técnica en Nopal, FAO-ONU. Guadalajara, Jal. México. 293-300 pp.
105. Ramos, R.R. 2002. Curso Internacional de Papaya. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. Guatemala, Guatemala. 52 p.
106. Regnault-Roger C.; Philogene, B. J.; Vincent, C. 2004. *Biopesticidas de Origen Vegetal*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 337 p.
107. Reyes, A.J.C. 1996. Aplicación de productos alternativos para el control de *Colletotrichum gloeosporioides* en frutos de aguacate "Rincoatl". Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX. México. 37-41.
108. Reyes-Agüero, J. A., J. R. Aguirre R., and J. L. Flores F. 2005. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la altiplanicie meridional de México. *Interciencia* 30(8):476-484.
109. Rivera, G. 1991. Descripción y combate de las principales enfermedades de papaya. In: *Fruticultura especial fascículo 3 piña y papaya*. San José, Costa Rica. 128 p.
110. Rondón O., Sanabria A. y Rondón A. 2006. Respuesta in vitro a la acción de fungicidas para el control de Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en frutos de Mango. *Agronomía Tropical*. 56(8):219-235.
111. Rzedowski G.C., Rzedowski J. 2001. *Flora fanerogámica del Valle de México*. 2ª. Ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán, México. 465 p.
112. Sánchez V. G. y Ortega D. M. L. 1996. Componentes químicos durante la maduración del fruto de *Opuntia joconostle* Weber forma cuaresmero. *Agrociencia*. 30:541-548.
113. SARH.1994. *Frutales caducifolios*. Folleto SARH. 4: 55-56.
114. Scheinvar, L. 1995. Taxonomy of utilized opuntias. En: G. Barbera, P. Inglese t E. Pimienta B., Eds. *Agroecology, cultivation and uses of cactu pear*. FAO Plant production and Protection Paper 132. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma. 20-27.
115. Sebti, I.; Martial-Gros, A.; Carnet-Pantiez, A.; Grelier, S.; Coma, V. 2005. Chitosan Polymer as Bioactive Coating and Film against *Aspergillus niger* Contamination. *Journal of Food Science*. 70(2): 100-105.
116. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. SAGARPA.2004. *Plan Rector Sistema Producto Nacional Nopal, Segunda Fase: Base conceptual de referencia base de referencia estructura estratégica*.37 p.

117. Serrano, M., Martinez-Romero, D., Castillo, S., Guillen, F. and Valero, D. 2005. The use of the natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 6: 115–123.
118. Serrano R. C. S. 2007. Efecto del extracto de la cáscara de tuna (*Opuntia* sp.) sobre el crecimiento de *E. coli*. y *Salmonella typhi*. Tesis profesional. Ingeniero industrial. Departamento de ingeniería agroindustrial. Chapingo, Texcoco. 64 p.
119. SINITOX. (2004). Sistema Nacional de Informacoes Toxico-Farmacologicas. Recuperado el 2013 de marzo de 08, de Estadística Anual de casos de intoxicaçao e envenenamento: [<http://www.fiocruz.br/sinitox>].
120. Singh, H. B., Singh, A., and Srivastava, S. 2007. Effect of substrates on growth and shelflife of *Trichoderma harzianum* and its use in biocontrol of diseases. *Bio-re. Tec* 98: 470-473.
121. Singh, S.P. 1980. Biological control of insect pests of citrus. *Biological Control Insect Pests Weeds*. 237.
122. Sivakumar, D.; Wilson-Wijeratnam, R.S.; Wijesunderab, R.L.C. and Abeyesekerea, M. 2002. Control of postharvest diseases of rambutan using cinnamaldehyde. *Crop Protection* 21(9):847-852.
123. Sparg S. G., Light M.E. y van Staden J. 2004. Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology* 94: 219–243.
124. Spatz C., Beismann H., Bru Chert F., Emanns A. and Speck T. 1997. Biomechanics of the giant rees *Arundo donax*, Institute for Biolog. German. Botanical Garden, The Royal Society. *Phill. Trans. R, Soc. Lond. Great Britanic*. 2731-2742.
125. Stintzing, F.C., A. Schieber y R. Carle. 2001. Phytochemical and nutritional significance of cactus pear, *European Food Research and Technology*: 212: 396-407.
126. Sutton, B C. *The Coelomycetes: Fungi imperfecti with Picnidia, Acervuli and Stromata*. 1992. Commonwealth Mycological Institute. New York. 696.
127. Tesoriere, L., D. Butera, M. Allegra, M. Fazzari y M.A. Livrea. 2005. Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: 53, 1266-1270.
128. Tilahun T. and Mirutse G. 2007. Ethnobotanstitute of Pathobiology, Addis Ababa. *Ethiopia Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 3:3-12.
129. Tilman, D., Cassman, K. G., Matson, P. A., Naylor, R., and Polasky, S. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418: 671–677.
130. Treyvaud V, Marston A, Dyatmiko W, Hostettmann K. 2000. Molluscicidal saponins from *Phytolacca icosandra*. Institut de Pharmacognosie et Phytochimie, Université de Lausanne, Switzerland. *Phytochemistry* 55(6):603-9.
131. Turner N. J., Szczawinski A. F. 1999. Common poisonous plants and mushrooms of North America. Portland, Oregon, U.S.A. 324 p.
132. Verhoeff, K. 1974. Latent infection by fungi. *Annual Review of Phytopathology* 12:99-100.
133. Villarreal, L., Arias, C., Vega, J., Feria-Velazco A., Ramírez, O. and Quintero, R. 1998. Production of a new antimycotic agent by plant cell culture. En *Advances in Bioprocess Engineering II*. Galindo, E. and Ramírez, O. T. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands. 83-95 pp.

134. Villaseñor R. J.L. y Espinoza F. J. 2004. Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. México , D.F. 448 p.
135. Wagner, H.; Blatt, S. 1996. Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas. 2d. Ed. Springer Verlag. New York. 384 p.
136. Wang, C.H., Wen, H.K. 1997. A simple method for obtaining single-spore isolates of fungi. Bot. Bull. Acad. Sin. (38): 41-44.
137. Wang, C. J., Liu, Z. Q. 2007. Foliar uptake of pesticides. Present status and future challenge. Pesticide Biochemistry and Physiology 87: 1-8.
138. Wijesinghe, C. J., Wilson-Wijeratnam, R. S., Samarasekara, J. K., and Wijesundera, R. L. 2011. Development of a formulation of *Trichoderma asperellum* to control black rot disease on pineapple caused by (*Thielaviopsis paradoxa*). Crop Protection 30: 300-306.
139. Yakoby, N., Kobiler, I., Dinoor, A., and Prusky, D. 2000. pH regulation of pectate lyase secretion modulates the attack of *Colletotrichum gloeosporioides* on avocado fruits. Applied and Environmental Microbiology 66:1026-1030.
140. Yang, V.W., and Clausen, C.A., 2007. Antifungal effect of essential oils on southern yellow pine. Int. Biodeter. Biodegrad 59:302–306.
141. Zamilpa, A., J. Tortoriello, V. Navarro, G. Delgado y L. Alvarez, 2002. Five new steroidal saponins from *Solanum chrysotrichum* leaves and their antimycotic activity. J. Nat. Prod. 65:1815-1819.
142. Zhalolov, V. U. Khuzhaev, M. G. Levkovich, and S. F. Aripova. 2000. Alkaloids of *Arundo donax*. VIII. 3-alkylindole derivatives in *A. donax*. Chemistry of Natural Compounds 36 (5): 528-530.

Anexo 1

MEDIOS DE CULTIVO

MEDIO SÓLIDO PDA (Potato Dextrosa Agar)

Para la elaboración del medio PDA, el procedimiento es mucho más sencillo puesto que ya está comercializado en polvo y sólo es necesario disolverlo en agua destilada (en las proporciones adecuadas) y agitar.

Para utilizar el PDA ya elaborado, solo se suspendió 39 g del medio en un litro de agua purificada. Calentó con agitación suave hasta su completa disolución. Y se dejó hervir durante un minuto, para posteriormente esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos para después poner a enfriar a una temperatura entre 45-50 °C y vaciar en placas de Petri estériles.

Simultáneamente podemos esterilizar papeles de filtro del diámetro de una placa Petri (que pueden ser empleados para realizar una posterior inoculación vegetativa) y los introducimos dentro de una placa de vidrio (que resiste la T^a del autoclave) para su esterilización junto con el medio.

Una vez preparadas las disoluciones y antes de proceder a su utilización, es necesario esterilizarlas en autoclave (15-20 minutos a 121° C).

La esterilización se realiza para asegurar que el medio preparado no contenga microorganismos ni otros contaminantes. Podemos esterilizar el medio directamente en el Erlenmeyer colocándole un algodón hidrófobo y papel de aluminio para taparlo.

Los medios esterilizados hay que mantenerlos en un baño a 50-60 °C durante unos 30 minutos para bajar la temperatura (French y Hebert, 1982).

Anexo 2

CONTEO EN LA CÁMARA DE NEUBAUER

Portaobjetos que tiene dos zonas ligeramente deprimidas y que en el fondo tiene una cuadrícula de dimensiones conocidas.

Partículas por $\mu\text{l} = (\text{partículas contadas}) / (\text{superficie contada (mm}^2) \cdot \text{profundidad de la cámara (mm)} \cdot \text{dilución})$

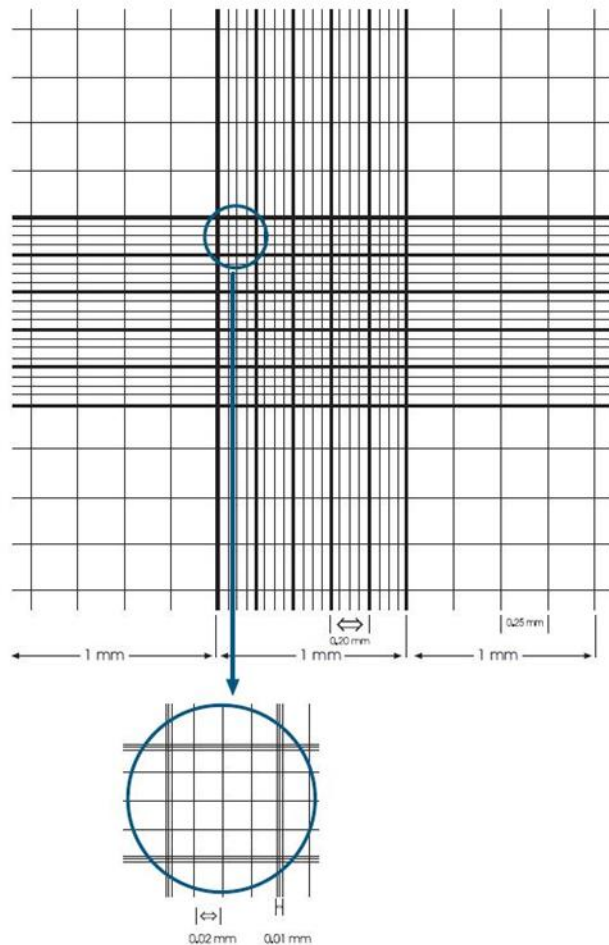


Figura 10: Recuento de los 5 cuadros grandes de la cámara de Neubauer

Cálculo de la concentración.

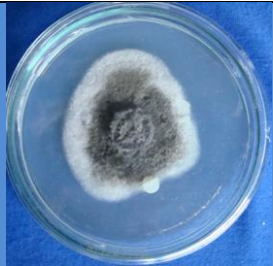
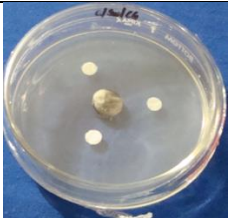
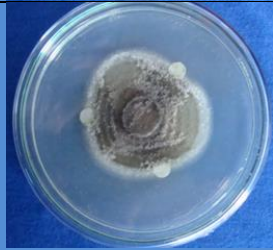
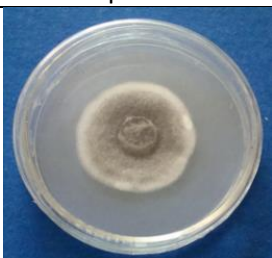
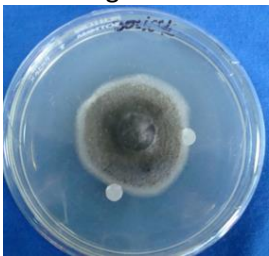
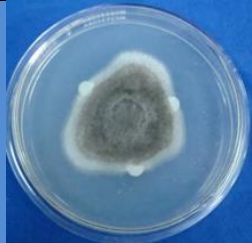
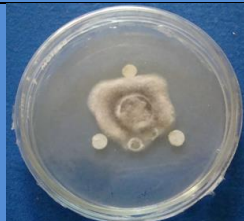
Aplicamos la fórmula del cálculo de concentración celular.

$$\text{Concentración (cel / ml)} = \frac{\text{número de células}}{\text{Volumen (en ml)}}$$

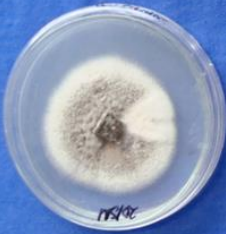
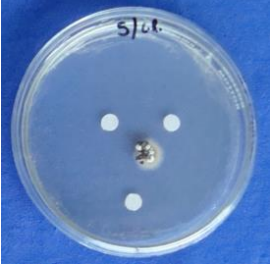
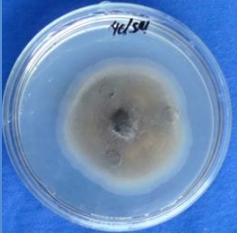
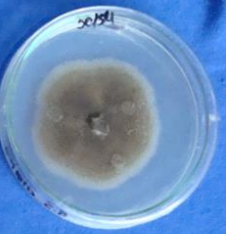
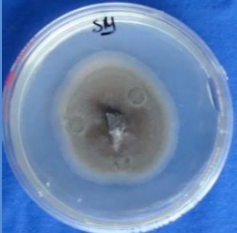
El número de células es la suma de todas las células contadas en todos los cuadros. El volumen es el volumen total de todos los cuadros donde hemos hecho el recuento. Como el volumen de 1 cuadro grande es : $0,1 \text{ cm} \times 0,1 \text{ cm} = 0,01 \text{ cm}^2$ de superficie $0,01 \text{ cm}^2 \times 0,1 \text{ mm (profundidad)} = 0,01 \text{ cm}^2 \times 0,01 \text{ cm} = 0,0001 \text{ cm}^3 = 0,0001 \text{ ml}$. La fórmula para recuento con cuadros grandes en cámara de Neubauer.

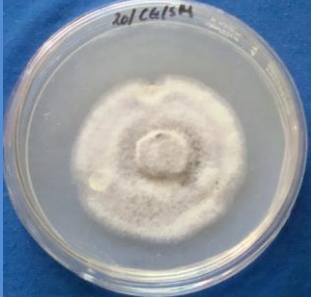
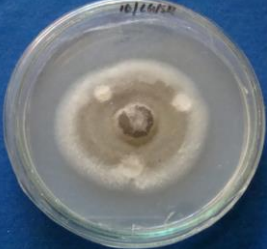
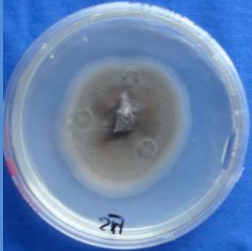
$$\text{Concentración} = \frac{\text{número de células} \times 10.000}{\text{número de cuadros}}$$

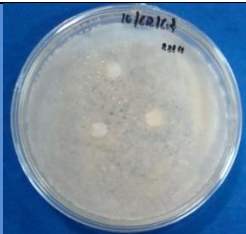
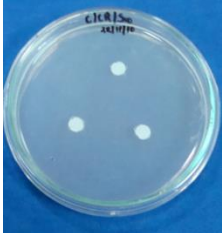
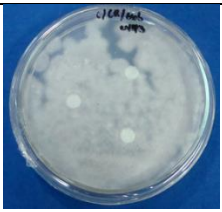
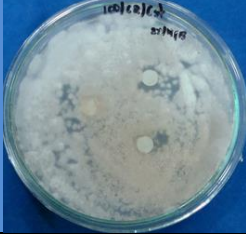
Anexo 3

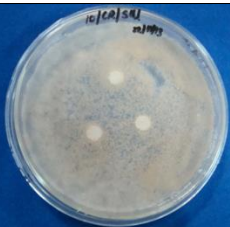
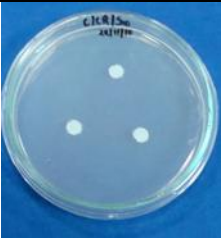
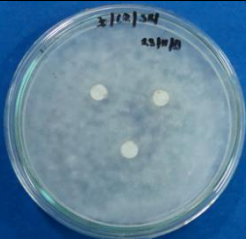
Tipo de inóculo	Concentración %	
Cepa gris Extracto <i>O. ficus-indica</i> Cristalina. Hongo por micelio	10	
 Control químico Switch	20	
 Testigo	30	
 Control gobernadora	40	
	50	
	100	

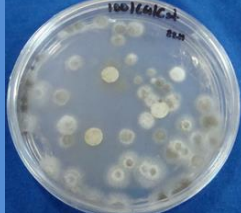
Tipo de inóculo	Concentración %	
Micelio Ceoa rosa Extracato <i>O. ficus-indica</i> Var. Cristalina	10	
	20	
 Control Switch	30	
	40	
	50	
	100	

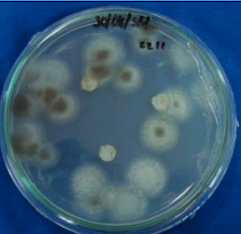
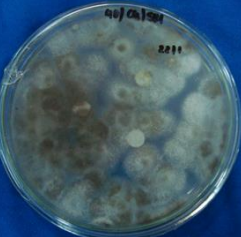
Tipo de inóculo	Concentración %	
Cepa rosa Extrato <i>O. ficus-indica</i> San Martín	10	
 Control Swith	20	
	30	
 Control orgánico Gobernadora	40	
	50	
	100	

Tipo de inóculo	Concentración %	
Cepa gris Extracto <i>O. ficus-indica</i> San Martín	10	
	20	
	30	
	40	
	50	
	100	
Tipo de inóculo	Concentración %	

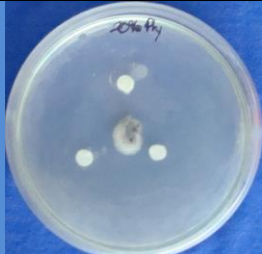
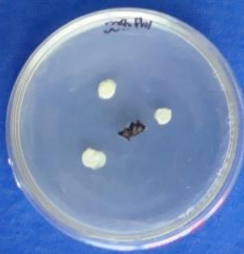
Inóculo 105 Cepa rosa Extracto <i>O. ficus-indica</i> Cristalina	10		
 Control switch	20		
 Control gobernadora	30		
	40		
	50		
	100		

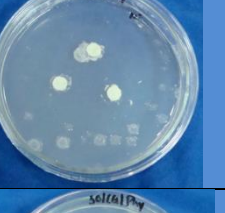
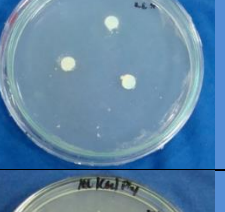
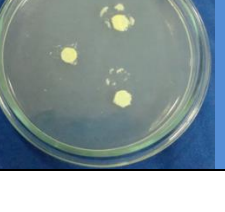
Tipo de inóculo	Concentración %	
Inóculo 10 5 Cepa rosa <i>O. ficus-indica</i> San Martín	10	
 Control Swicth	20	
 Control Gobernadora	30	
	40	
	50	
	100	

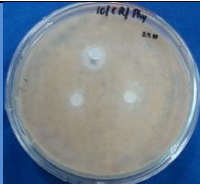
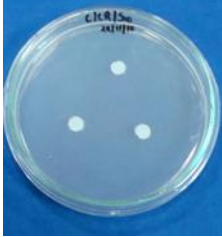
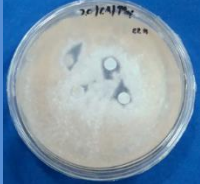
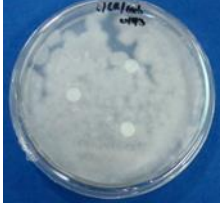
Tipo de inóculo	Concentración %		
Inóculo Cepa gris Extracto <i>O.puntia ficus-indica</i> Var. cristalina	10		
	20		
	30		
	40		
	50		
	100		

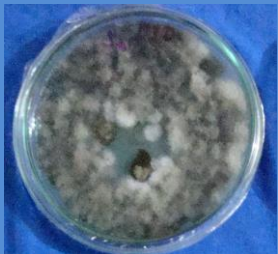
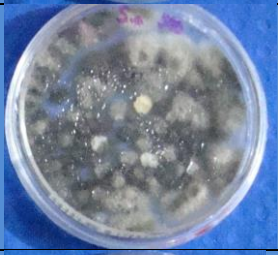
Tipo de inóculo	Concentración %	
Inóculo 10 5 Cepa gris Extracto <i>O. ficus-indica</i> Var. San Martín	10	
	20	
	30	
	40	
	50	
	100	

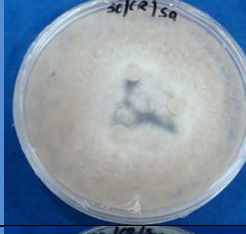
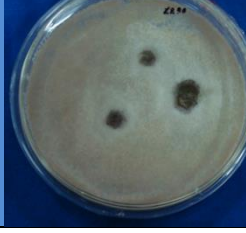
Tipo de inóculo	Concentración %	
Micelio Cepa gris <i>Phytolacca icosandra</i>	10	
	20	
	30	
	40	
	50	
	100	

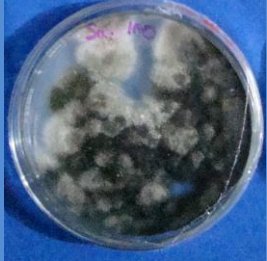
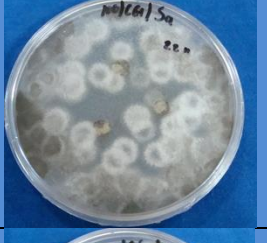
Tipo de inóculo	Concentración %	
Micelio Cepa rosa <i>Phytolacca icosandra</i>	10	
	20	
	30	
	40	
	50	
	100	

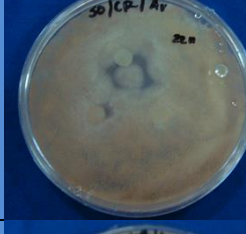
Tipo de inóculo	Concentración %	
Inóculo 10 5 Cepa rosa Extracto <i>Phytolacca icosanda</i>	10	
	20	
	30	
	40	
	50	
	100	

Tipo de inóculo	Concentración %	
Inóculo 10 5 Cepa rosa Extracto <i>Phytolacca icosandra</i>	10	
 Control Switch	20	
 Control Gobernadora	30	
	40	
	50	
	100	

Tipo de inóculo	Concentración %	
Inóculo 10 5 Cepa gris Extracto <i>Sida acuta</i>	10	
	20	
	30	
	40	
	50	
	100	

Tipo de inóculo	Concentración %	
Inóculo 10 5 Cepa rosa Extracto <i>Sida acuta</i>	10	
	20	
	30	
	40	
	50	
	100	

Tipo de inóculo	Concentración %	
Inóculo 10 5 Cepa gris Extracto <i>Arundo donax</i>	10	
	20	
	30	
	40	
	50	
	100	

Tipo de inóculo	Concentración %	
Inóculo 10 5 Cepa rosa Extracto <i>Arundo donax</i>	10	
	20	
	30	
	40	
	50	
	100	