



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

**Actividad biológica de cinco extractos vegetales sobre
algunos fitopatógenos, poblaciones totales fúngicas y
bacterianas del suelo**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGA

PRESENTA:

LÓPEZ GARCÍA NATALIE

Directora de Tesis: M. en C. María de Jesús Sánchez Colín



México D.F

Noviembre 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

Agradezco a Dios por darme la vida, la fuerza y el discernimiento para poder llegar hasta este día.

A mi mamá por estar conmigo en todos los momentos de este camino, a mi papá por que sin él, esta meta no la habría logrado.

A Eri y Nancy por estar conmigo a lo largo de este proyecto, a Mos, por toda su ayuda para terminar la carrera pero sobre todo gracias por la paciencia.

A Carmen, Adolfo, Lilia, Jorge y Olivia por ayudarme a aterrizar los proyectos de vida, y hacerme ver las cosas verdaderamente importantes, pero sobre todo, gracias por hacerme ver el amor.

A la maestra María de Jesús por enseñarme a respetar, amar y a luchar por la vida desde el primer momento que entré a la carrera.

A la maestra Elvia por compartir sus conocimientos, pero sobre todo por su apoyo incondicional a lo largo de estos años.

A la maestra Paty, por la confianza brindada, el apoyo, la dedicación y por compartir conmigo sus conocimientos.

Al Doctor Carlos Castillejos, por todos los comentarios y aportaciones hechas al trabajo, por la paciencia y por el tiempo que me brindó.

A la Doctora Alejandrina por los conocimientos compartidos.

Al maestro Jorge Gutiérrez, por ser un excelente maestro, por ser la paciencia hecha persona, pero sobre todo por ser un amigo excepcional.

Al maestro Armando Cervantes por ayudarme en los análisis, y por demostrarme que la vida es un continuo aprendizaje, gracias por creer en mí.

Al Doctor Vicente Espinosa y a Araceli, por enseñarme que la integridad nunca se debe perder, y que la honestidad es el regalo más valioso de la vida, gracias por haberme permitido realizar el Servicio Social con ustedes.

A mi hermana Fernanda, por caminar conmigo un largo trecho, por ser la fuerza y el coraje en los momentos de debilidad, por ser la mejor consejera del

mundo, pero sobre todo gracias por disfrutar conmigo cada uno de los éxitos logrados aun en la distancia.

A Marielena por ser mi amiga y un gran apoyo en mi vida, gracias por estar en los momentos más importantes.

A mis amigos Berni y Rodolfo, por hacer especial cada uno de los minutos en esta escuela, y por regalarme las mejores aventuras.

A mis amigas Bere, Mari, Merari y Karina, por que sin su apoyo esta meta no se hubiera logrado, gracias por reír y llorar conmigo, y enseñarme que para la Verdadera amistad no hay obstáculos.

A mis compañeras y amigas Rosario, Ana, Carolina, Violeta, Ángeles, Lucero, Claudia y Paulina, por haberme ayudado a desarrollarme en el ámbito académico y compartir conmigo muchos sucesos.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
JUSTIFICACIÓN	3
OBJETIVO GENERAL	4
OBJETIVOS PARTICULARES	4
HIPÓTESIS	4
CAPÍTULO 1	
PLANTAS MEDICINALES	
1.1 Las plantas en el control de las enfermedades	5
1.2 Metabolitos secundarios presentes en las plantas	6
CAPÍTULO 2	
ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS	
2.1 Enfermedades de las plantas	8
2.2 Control de las enfermedades de las plantas	10
2.3 Importancia del control de las enfermedades	10
CAPÍTULO 3	
PESTICIDAS	
3.1 Efecto de los Pesticidas	11
3.2 Efectos secundarios de los pesticidas	11
3.3 Características de fungicidas y bactericidas comerciales	12
3.4 Principales grupos de microorganismos del suelo	13
3.5 Efecto de los pesticidas en las poblaciones microbianas del suelo	13
3.6 Descripción de los pesticidas utilizados	14

CAPÍTULO 4

MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES	15
MÉTODO	
Fase de campo	17
Descripción del área de recolecta	17
Recolecta del material vegetal	20
Muestreo del suelo	20
Fase de laboratorio	20
Desinfección y secado de las plantas	20
Obtención del extracto en peso seco	20
Preparación de las concentraciones	21
Preparación de los sensidiscos	21
Obtención de los microorganismos fitopatógenos	21
Descripción de los patógenos de estudio	21
Preparación del inóculo	23
Dilución de suelo serial para la obtención de microorganismos del suelo	24
Fase de Gabinete	24
Análisis de datos y estadísticos	24
RESULTADOS	
Descripción de las plantas de estudio	25
Rendimiento de los extractos vegetales	30
Pruebas de sensibilidad	31
Efecto de los extractos vegetales frente a los fitopatógenos probados	33
Efecto de las mezclas de extractos vegetales a partir de la concentración mínima inhibitoria frente a microorganismos fitopatógenos	63

Efecto de los cinco extractos vegetales y pesticidas comerciales sobre las poblaciones totales de microorganismos del suelo	73
CONCLUSIONES	84
BIBLIOGRAFÍA	85
APENDICES	96
Apéndice 1. Prueba de Tukey para cada uno de los extractos frente a los microorganismos fitopatógenos	96
Apéndice 2. Mezclas evaluadas a partir de la concentración mínima inhibitoria para fitopatógenos	107
Apéndice 3. Comparación en el tiempo para las poblaciones totales de bacterias y hongos	117

 ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Pág.
Gráfica 1: Tamaño promedio de los halos de inhibición (mm) para <i>Erwinia carotovora</i> con el extracto de <i>Euphorbia hirta</i> a diferentes concentraciones	34
Gráfica 2: Tamaño promedio del halo de inhibición para <i>Erwinia carotovora</i> con el extracto de <i>Lantana camara</i> a la concentración de 250 mg mL ⁻¹ .	35
Gráfica 3: Tamaño promedio de los halos de inhibición para <i>Erwinia carotovora</i> con el extracto de <i>Phytolacca icosandra</i> a diferentes concentraciones.	36
Gráfica 4: Tamaño promedio de los halos de inhibición para <i>Erwinia carotovora</i> con el extracto de <i>Quercus obtusata</i> a diferentes concentraciones	37
Gráfica 5: Tamaño promedio de los halos de inhibición para <i>Erwinia carotovora</i> con el extracto de <i>Tagetes lucida</i> a diferentes concentraciones	38
Gráfica 6: Tamaño promedio del halo de inhibición para <i>Erwinia carotovora</i> con el bactericida comercial (Fungymicin agrícola).	39
Gráfica 7: Tamaño promedio de los halos de inhibición de <i>Erwinia carotovora</i> frente a todos los extractos vegetales probados y el bactericida comercial	40
Gráfica 8: Tamaño promedio de los halos de inhibición para <i>Pseudomonas marginalis</i> (1) con el extracto de <i>Phytolacca icosandra</i> a diferentes concentraciones	41
Gráfica 9: Tamaño promedio de los halos de inhibición para <i>Pseudomonas marginalis</i> (1) con el extracto de <i>Quercus obtusata</i> a diferentes concentraciones.	42
Gráfica 10: Tamaño promedio de los halos de inhibición para <i>Pseudomonas marginalis</i> (1) con el extracto de <i>Tagetes lucida</i> a diferentes concentraciones.	43
Gráfica 11: Tamaño promedio de los halos de <i>Pseudomonas marginalis</i> (1) ante los extractos vegetales.	44
Gráfica 12: Tamaño promedio de los halos de inhibición para <i>Pseudomonas marginalis</i> (2) con el extracto de <i>Phytolacca icosandra</i> a diferentes concentraciones	45
Gráfica 13: Tamaño promedio del halo de inhibición para <i>Pseudomonas marginalis</i> (2) con el extracto de <i>Quercus obtusata</i> a diferentes concentraciones.	47
Gráfica 14: Tamaño promedio del halo de inhibición para <i>Pseudomonas marginalis</i> (2) con el extracto de <i>Tagetes lucida</i> a diferentes concentraciones.	48

Gráfica 15:	Tamaño promedio de los halos de iinhibición para <i>Pseudomona marginalis</i> (2) frente a los extractos vegetales	49
Gráfica 16:	Tamaño promedio de los halos de iinhibición para <i>Penicillum sp.</i> frente al extracto de <i>Tagetes lucida</i>	50
Gráfica 17:	Tamaño de los halos de inhibición de <i>Sclerotinia sp.</i> frente al extracto de <i>Tagetes lucida</i>	51
Gráfica 18:	Tamaño promedio de los halos de inhibición de <i>Sclerotinia sp.</i> frente al fungicida comercial	52
Gráfica 19:	Tamaño de los halos de inhibición de <i>Sclerotinia sp.</i> frente a los tratamientos probados	54
Gráfica 20:	Tamaño de los halos de inhibición de <i>Sclerotium cepivorum</i> frente al extracto de <i>Tagetes lucida</i> a diferentes concentraciones	55
Gráfica 21:	Tamaño de los halos de inhibición de <i>Sclerotium cepivorum</i> frente al fungicida comercial	56
Gráfica 22:	Tamaño de los halos de inhibición de <i>Sclerotium cepivorum</i> frente a los tratamientos probados.	57
Gráfica 23:	Tamaño promedio de los halos de inhibición registrados para los microorganismos probados con el extracto de <i>Tagetes lucida</i>	59
Gráfica 24:	Tamaño promedio de los halos de inhibición registrados para los microorganismos probados con el extracto de <i>Quercus obtusata</i>	60
Gráfica 25:	Tamaño promedio de los halos de inhibición registrados para los microorganismos probados con el extracto de <i>Phytolacca icosandra</i>	61
Gráfica 26:	Tamaño promedio delos halos de inhibición de <i>Erwinia carotovora</i> frente a las mezclas probadas	66
Gráfica 27:	Tamaño promedio de los halos de inhibición de <i>Pseudomona marginalis</i> (1) ante todas las mezclas probadas	67
Gráfica 28:	Tamaño promedio de los halos de inhibición de <i>Pseudomona marginalis</i> (2) ante todas las mezclas probadas	69
Gráfica 29:	Tamaño de los halos de inhibición de <i>Penicillum sp.</i> frente al extracto de <i>Tagetes lucida</i>	70
Gráfica30:	Tamaño promedio de los halos de inhibición de <i>Sclerotinia sp.</i> frente a las	71

mezclas probadas

Gráfica 31:	Tamaño promedio de los halos de inhibición de <i>Sclerotium cepivorum</i> frente a las mezclas probadas	72
Gráfica 32:	Número de colonias totales de bacterias en dilución de suelo de Bosque de <i>Abies</i> 24 y 48 horas frente a los extractos vegetales, y el bactericida	74
Gráfica 33:	Número de colonias totales de bacterias en dilución de suelo cultivo a las 24 y 48 horas frente a los extractos vegetales y el bactericida.	75
Gráfica 34:	Número de colonias totales de bacterias en suelo de Bosque de <i>Abies</i> a las 24 y 48 horas frente a los extractos vegetales y el bactericida	77
Gráfica 35:	Número de colonias totales de bacterias en suelo de cultivo a las 24 y 48 horas frente a los extractos vegetales y el bactericida	78
Gráfica 36:	Número de colonias totales de hongos totales en suelo de Bosque de <i>Abies</i> a las 24 y 48 horas frente a los extractos vegetales y el bactericida	80
Gráfica 37:	Número de colonias totales de hongos en suelo de cultivo a las 24 y 48 horas frente a los extractos vegetales y el bactericida	81

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Mapa de la zona de muestreo Planta de <i>Euphorbia hirta</i> L.	19
Figura 2: Planta de <i>Euphorbia hirta</i> L.	25
Figura 3: Planta de <i>Lantana camara</i> L.	26
Figura 4: Planta de <i>Phytolacca icosandra</i> L.	27
Figura 5: Tronco y hojas de <i>Quercus obtusata</i> Humb. & Bonpl.	28
Figura 6: Planta de <i>Tagetes lucida</i> Cav.	29
Figura 7: Halos de inhibición del extracto de <i>Euphorbia hirta</i> frente a <i>Erwinia carotovora</i>	34
Figura 8: Halo de inhibición del extracto de <i>Lantana camara</i> L. frente a <i>Erwinia carotovora</i>	35
Figura 9: Halos de inhibición del extracto de <i>Phytolacca icosandra</i> frente al cultivo de <i>Erwinia carotovora</i> .	36
Figura 10: Halos de inhibición del extracto de <i>Quercus obtusata</i> frente al cultivo de <i>Erwinia carotovora</i> .	37
Figura 11: Halos de inhibición del extracto de <i>Tagetes lucida</i> frente al cultivo de <i>Erwinia carotovora</i> .	38
Figura 12: Halo de inhibición de Fungymicin agrícola frente al cultivo de <i>Erwinia carotovora</i>	39
Figura 13: Halos de inhibición del extracto de <i>Phytolacca icosandra</i> frente al cultivo de <i>Pseudomona marginalis</i> (1)	42
Figura 14: Halos de inhibición del extracto de <i>Quercus obtusata</i> frente al cultivo de <i>Pseudomona marginalis</i> (1)	43
Figura 15: Halos de inhibición del extracto de <i>Tagetes lucida</i> frente al de <i>Pseudomona marginalis</i> (1)	44
Figura 16: Halos de inhibición del extracto de <i>Phytolacca icosandra</i> frente al cultivo de <i>Pseudomona marginalis</i> (2)	46
Figura 17: Halos de inhibición del extracto de <i>Quercus obtusata</i> frente al cultivo de <i>Pseudomona marginalis</i> . (2)	47
Figura 18: Halos de inhibición del extracto de <i>Tagetes lucida</i> frente al cultivo de <i>Pseudomona marginalis</i> (2)	48
Figura 19: Halos de inhibición del extracto de <i>Tagetes lucida</i> frente al cultivo de <i>Penicillum sp.</i>	51
Figura 20: Halo de inhibición del extracto de <i>Tagetes lucida</i> frente al cultivo de <i>Sclerotinia sp.</i>	52
Figura 21: Halo de inhibición del fungicida comercial sobre el cultivo de <i>Sclerotinia sp.</i>	53
Figura 22: Halo de inhibición del extracto de <i>Tagetes lucida</i> frente al cultivo de <i>Sclerotium cepivorum</i>	55
Figura 23: Halo de inhibición del fungicida sobre el cultivo de <i>Sclerotium cepivorum</i>	56
Figura 24: Halos de inhibición para <i>Erwinia carotovora</i> frente a diferentes mezclas	66
Figura 25: Halos de inhibición de <i>Pseudomona marginalis</i> (1) con diferentes mezclas	68
Figura 26: Halos de inhibición frente a la mezcla de <i>Tagetes lucida</i> con <i>Euphorbia hirta</i> (90 y 90 mgmL ⁻¹)	69
Figura 27: Halos de inhibición frente a la mezcla de <i>Tagetes lucida</i> con <i>Quercus</i>	69

Figura 28:	<i>obtusata</i> a 250 Halo de la mezcla de <i>Tagetes lucida</i> 120 con <i>Euphorbia hirta</i> a 120 sobre el cultivo de <i>Sclerotium cepivorum</i>	72
Figura 29:	Colonias reportadas en la zona de cultivo <i>in vitro</i> con diferentes tratamientos	75
Figura 30:	Colonias bacterianas en el suelo de cultivo con diferentes tratamientos	78
Figura 31:	Colonias de hongos en suelo de cultivo a las 72 horas con diferentes tratamientos	82

ÍNDICE DE CUADROS

		Pág.
Cuadro 1	Escala de Mc Farland	23
Cuadro 2:	Rendimiento del peso seco de los extractos obtenidos de <i>Euphorbia hirta</i> , <i>Lantana camara</i> , <i>Phytolacca icosandra</i> , <i>Quercus Obtusata</i> y <i>Tagetes lucida</i>	30
Cuadro 3:	Efecto inhibitorio de los cinco extractos vegetales en las concentraciones de 30, 60, 90 y 120 mg mL ⁻¹ frente a las bacterias y hongos probados.	31
Cuadro 4:	Efecto inhibitorio de los pesticidas comerciales a la concentración de 25 mg mL ⁻¹ y 40 mg mL ⁻¹ para fungicida y bactericida respectivamente	32
Cuadro 5:	Mezclas realizadas a partir de la concentración mínima de cada uno de los extractos	64

RESUMEN

El uso de pesticidas químicos de manera indiscriminada ha causado daños en el ambiente, como la contaminación de suelo y agua, además que ha generado la aparición de nuevas cepas de microorganismos resistentes a estos productos, por lo tanto se han buscado alternativas para poder controlar las enfermedades de las plantas con métodos que no presentan un efecto negativo en el ambiente; en este sentido una alternativa que se está considerando es el uso de extractos vegetales quienes tienen una permanencia en el suelo menor, así como un impacto menor al ambiente. Sin embargo el estudio de extractos con propiedades antimicrobianas es reducido, por lo que el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto inhibitorio de cinco extractos vegetales provenientes de las hojas de *Euphorbia hirta*, *Lantana camara*, *Phytolacca icosandra*, *Quercus obtusata* y *Tagetes lucida* a las concentraciones de 30, 60, 90 y 120 mg mL⁻¹, además de 38 mezclas realizadas a partir de la concentración mínima inhibitoria de cada uno de los extractos sobre los microorganismos fitopatógenos: *Penicillium sp.*, *Sclerotinia sp.*, *Sclerotium cepivorum*, *Erwinia carotovora* y *Pseudomonas marginalis*. Los antibiogramas fueron realizados en medio de cultivo de Agar Mueller- Hinton para bacterias y Agar Papa Dextrosa para hongos y se compararon con un bactericida y fungicida comercial. Además se evaluó el efecto inhibitorio de los extractos vegetales, del bactericida y el fungicida comercial así como de tres mezclas en las poblaciones totales de bacterias y hongos del suelo. Se encontró que los cinco extractos probados presentan un efecto inhibitorio en los microorganismos fitopatógenos utilizados, con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 30 mg mL⁻¹ para los extractos de *Euphorbia hirta*, *Phytolacca icosandra* y *Tagetes lucida*, mientras que para *Quercus obtusata* la CMI fue de 60 mg mL⁻¹ y para *Lantana camara* CMI de 250 mg mL⁻¹. Los extractos presentaron un efecto inhibitorio igual al de los pesticidas comerciales probados, las mezclas que potencializaron su efecto son las que presentaban los extractos de *Euphorbia hirta* y *Lantana camara*. En las poblaciones totales de bacterias y hongos se observa que los cinco extractos vegetales al igual que las mezclas de *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata*, *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta* y *Quercus obtusata* con *Euphorbia hirta*, presentaron un efecto inhibitorio, y el fungicida presenta un efecto promotor. El objetivo se cumplió, y demostró que los extractos evaluados pueden ser una alternativa para el control de microorganismos patógenos.

Palabras clave: Fitopatógenos, Extractos vegetales, Efecto inhibitorio

INTRODUCCIÓN

El uso de pesticidas como fungicidas y bactericidas ha causado daños al ambiente en varios niveles, entre ellos contaminación de agua, suelo y aire, así como resistencia de patógenos, estos problemas se deben a los compuestos químicos, generalmente a base de fosfatos, los cuales tienen una permanencia en el suelo de hasta 150 días (Perruzo *et al.*, 2003). También se pueden encontrar aquellos que repercuten en niveles altos de la cadena trófica, como en el caso del ganado, donde afectan su sistema nervioso y digestivo principalmente. En los seres humanos provoca intoxicaciones que varían de acuerdo a las diferentes vías de adquisición como es la oral y dérmica (Cabero *et al.*, 1994). Ante esta situación se busca que el combate de los agentes patógenos se haga con nuevas alternativas encaminadas a la protección del ambiente y el incremento en la producción de las cosechas. En este sentido la utilización de sustancias de origen natural, que las mismas plantas han desarrollado a través de la evolución ha tenido mucho auge. Lo anterior se justifica en el hecho de que los compuestos obtenidos de la planta son de rápida biodegradabilidad en aire, suelo y agua (Tanaka y Andomuro, 1993).

Para reducir la incidencia y severidad de las enfermedades en las plantas, se han utilizado estrategias de control, como el uso de germoplasma resistente, el control biológico y prácticas culturales. Una alternativa de control biológico es el uso de extractos vegetales, que revelan un efecto positivo sobre el control de hongos y bacterias fitopatógenos (Drenth y Guest, 2004). El uso de extractos vegetales es cada vez más aceptado debido a la necesidad de emplear compuestos eficaces que no provoquen efectos nocivos para la salud y el ambiente. Basándose en los usos populares de las plantas medicinales de las diferentes regiones del país, se pueden identificar recursos botánicos con potencial (Ribeiro y Bendendo, 1999; Amorim *et al.*, 2004; Ku, 2008).

Actualmente se han hecho investigaciones para identificar plantas que puedan tener un efecto inhibitorio en los fitopatógenos, sin embargo los trabajos en este tema aun son pocos, tomando en consideración la cantidad de plantas reportadas con uso medicinal, por lo tanto se necesita obtener más extractos con utilidad en la fitopatología.

JUSTIFICACIÓN

Algunas enfermedades de las plantas son causadas por bacterias fitopatógenas como las pertenecientes a los géneros *Erwinia*, *Pseudomonas* y otras son causadas por hongos como *Penicillium*, *Sclerotium* y *Sclerotinia* y han sido controladas a lo largo del tiempo por sustancias químicas, las cuales al principio ofrecían ciertas ventajas, pero se ha visto que presentan muchas desventajas entre las que destacan la contaminación en suelo, agua y aire, además de problemas de salud en los humanos (Dinham y Malik, 2003). Así como promueven una resistencia genética a los pesticidas, acabando con los enemigos naturales de las especies plagas, creando a su vez nuevas especies plagas (Tyler, 2007), lo que provoca un uso a un más intensivo de los agroquímicos, lo que repercute en los intereses de los agricultores al reducir sus ganancias (Dao *et al.*, 1987). Por ello tanto se pretende sean reemplazados por compuestos de origen natural como los extractos vegetales, quienes brindarían ventajas al ser compuestos que no afectan la salud humana, de fácil degradación y no contaminantes (Gallegos *et al.*, 2003). Es una alternativa la utilización de plantas que tengan un uso potencial como bactericidas y fungicidas naturales, y este trabajo se centra en la búsqueda de plantas que puedan tener acción antimicrobiana como son *Tagetes lucida* Cav, *Euphorbia hirta* L., *Phytolacca icosandra* L., *Quercus obtusata* Humb. & Bonpl., *Lantana camara* L. sobre fitopatógenos, partiendo del efecto inhibitorio de los extractos documentados para patógenos del hombre (Caceres, 1991; Marie-Claire, 1991; Denna y Thoppil, 1995; Vijayaa 1995; Barre, 97; Treyvaud, 2000; Aquino, 2002; Céspedes, 2006; Garduño 2007; Zambrano, 2008; Ortiz, 2009).

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto inhibitorio de los extractos vegetales de *Euphorbia hirta*, *Lantana camara*, *Phytolacca icosandra*, *Quercus obtusata* y *Tagetes lucida* sobre microorganismos fitopatógenos: *Sclerotium cepivorum*, *Penicillium sp.*, *Sclerotinia sp.*, *Erwinia carotovora* y *Pseumona marginalis*, así como en las poblaciones totales de bacterias y hongos de dos tipos de suelo, cultivo y bosque.

El analizar el efecto inhibitorio, así como el efecto en las poblaciones totales permitirá conocer nuevas especies que puedan ser una alternativa en el control de fitopatógenos.

OBJETIVOS PARTICULARES

Analizar el efecto inhibitorio de los extractos de *Tagetes lucida*, *Euphorbia hirta.*, *Quercus obtusata*, *Lantana camara* y *Phytolacca icosandra*, frente a *Sclerotinia sp.*, *Sclerotium cepivorum*, *Penicillium sp.*, *Erwinia carotovora* y *Pseumona marginalis*, a las concentraciones de 30, 60, 90 y 120 mg mL⁻¹

Establecer la concentración mínima inhibitoria para cada uno de los extractos vegetales frente a los diferentes microorganismos probados.

Evaluar el efecto antimicrobiano de las mezclas de los extractos vegetales considerando la concentración mínima inhibitoria de cada uno de ellos.

Detectar el efecto inhibitorio de los extractos de *Tagetes lucida*, *Euphorbia hirta.*, *Quercus obtusata*, *Lantana camara* y *Phytolacca icosandra*, en las poblaciones totales de bacterias y hongos, en dos tipos de suelo (cultivo y bosque) y comparar con un bactericida y fungicida comercial (Fungimycin agrícola, Carbendex).

HIPÓTESIS

Se ha reportado un efecto antimicótico y antibacteriano para los extractos vegetales de *Euphorbia hirta*, *Lantana camara*, *Phytolacca icosandra*, *Quercus obtusata* y *Tagetes lucida* en patógenos del hombre, por lo tanto esta actividad inhibitoria se debe presentar en patógenos de plantas como *Sclerotium cepivorum*, *Penicillium sp.*, *Sclerotinia sp.*, *Erwinia carotovora* y *Pseumona marginalis*.

CAPÍTULO 1

PLANTAS MEDICINALES

1.1 Las plantas en el control de enfermedades

Se calcula que en el mundo existen entre 250 mil especies de plantas superiores (Wilson y Peter, 1988) y en México la diversidad se estima entre 23 mil y 30 mil especies dentro de ellas 3103 se reportan como medicinales (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009). Y se define como planta medicinal a cualquier vegetal que contenga, en cualquiera de sus órganos, alguna sustancia con actividad farmacológica que se pueda utilizar con fines terapéuticos esta actividad se debe a la presencia de ciertas sustancias conocidas como principios activos (Kuklinski, 2000)

Dentro de los grupos más estudiados de metabolitos secundarios están los terpenoides y los alcaloides (Verpoorte, 2000). A pesar de que el conocimiento de la diversidad química es limitado, se ha demostrado un contribución importante para la resolución de problemas de salud ya que una alta proporción de los medicamentos que se utilizan son derivados de plantas (Bourgaud *et al.*, 2001). En cuanto a la agricultura los primeros agroquímicos que se aplicaron fueron polvos o extractos de plantas, que se utilizaron antes del surgimiento de los compuestos orgánicos sintéticos en la primera mitad del siglo XX. Entre estos extractos se encuentran los del tabaco, el crisantemo y la rotenona que fueron usadas contra distintas plagas de insectos (Rodríguez y Lagunes, 1992).

El estudio del uso de las plantas para el control de fitopatógenos aunque es antiguo no es muy amplio como el que se ha desarrollado para patógenos del hombre, donde existen plantas para curar o dar tratamiento a diferentes padecimientos como: enfermedades gastrointestinales, respiratorias, dérmicas, del sistema urinario y ginecobstétricas principalmente.

1.2 Metabolitos Secundarios presentes en las plantas

Las plantas como parte de su metabolismo, producen una diversidad de compuestos orgánicos, de los cuales la mayoría no parece tener participación directa en su crecimiento y desarrollo. A estos componentes se les conoce como metabolitos secundarios (Croteau *et al.*, 2000). La diversidad bioquímica de estos compuestos es el resultado de la coevolución entre plantas y otros organismos, como bacterias, hongos, virus, nemátodos, insectos y mamíferos (Ehrlich y Raven, 1964; Duke, 1990; Rausher, 2001; Theis y Lerda, 2003). Los metabolitos secundarios generalmente están presentes como mezclas de compuestos que pueden afectar a patógenos diferencialmente dependiendo de las concentraciones y proporciones (Espinosa-García, 2001).

De acuerdo a Grayer y Harborne (1994), los compuestos antimicrobianos pertenecen a todas las principales clases de compuestos secundarios, que se pueden agrupar en tres grupos químicamente diferentes: terpenos, fenoles y compuestos que contienen nitrógeno.

a) Terpenos o terpenoides constituyen el mayor grupo de productos secundarios con cerca de 25,000 compuestos, son en su mayoría compuestos insolubles en agua, son biosintetizados a partir de la ruta Acetil CoA o de intermediarios glicolíticos, todos los terpenos derivan de la unión de cinco carbonos que tienen el esqueleto carbonado ramificado del isopentano.

Los terpenos son toxinas y repelentes de muchos animales herbívoros, de forma que parece que desempeñan un papel defensivo importante en el reino vegetal (Marcano y Hasegawa, 2002), en este grupo se encuentran los esteres de monoterpenos, aceites esenciales, cardinólidos y las saponinas

b) Fenoles: Son un grupo químicamente heterogéneo de unos 10,000 compuestos, algunos son solubles sólo en compuestos orgánicos, otros son ácidos carboxílicos y glicosídeos solubles en agua, mientras otros son grandes polímeros, son biosintetizados a partir de diferentes rutas, la primera es la del ácido sísquimico y la del ácido malónico poco común en las plantas, en este grupo se encuentran las furanocumarinas, los flavonoides y los isoflavonoides

c) Taninos: Compuestos que contienen nitrógeno: Son un grupo que comprende cerca de 15,000 compuestos, en estas sustancias el átomo de nitrógeno esta formando parte de un anillo heterocíclico, son biosintetizados

a partir de algunos aminoácidos, este grupo esté integrado por alcaloides, glicósidos cianogénicos, glucosinolatos y aminoácidos no proteícos.

CAPÍTULO 2

ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS

2.1 Enfermedades de las plantas

Se dice que una planta está enferma cuando una o varias de sus funciones vitales (fotosíntesis, división celular, absorción de agua y nutrición) son alteradas por los microorganismos patógenos o por determinadas condiciones del medio, como la temperatura, luz y humedad (Agrios, 1995).

Las enfermedades de las plantas se pueden clasificar en varios tipos de acuerdo a los síntomas que ocasionan y al órgano de la planta que afectan, sin embargo el criterio más útil es de acuerdo al agente patógeno, esta clasificación representa una ventaja ya que indica la causa de la enfermedad, lo cual es útil para su tratamiento (Agrios, 1995).

Los agentes causales de las enfermedades son los siguientes:

a) Hongos: Son microorganismos complejos se pueden reproducir sexual o asexualmente, algunos de los hongos fitopatógenos habitan en el suelo mientras que otros habitan restos vegetales, la mayoría se ven favorecidos por condiciones de humedad y frío pero existen algunas especies que se desarrollan bajo condiciones de calor y sequía, penetran a la planta por heridas, aberturas naturales o directamente por la epidermis, los hongos son fácilmente diseminados por agua de riego, lluvia, viento o por algunos insectos (Arce, 2002).

b) Procariontes (bacterias y micoplasmas): Las bacterias son organismos unicelulares microscópicos, que se reproducen por fisión o división celular, normalmente el desarrollo de bacterias fitopatógenas se ve favorecido por condiciones de calor y humedad suelen entrar a la planta por heridas o aberturas naturales como las lenticelas, dentro de los problemas más graves que causan son marchitez y podredumbre de tubérculos y raíces (Agrios, 1995; Arce, 2002).

c) Plantas superiores parásitas: Las plantas superiores de manera general son autótrofas aunque algunas de ellas se vuelven parásitas ya que al convivir con algunos cultivos los dañan de manera importante, se dividen en dos categorías hemiparásitas que son aquellas que procesan ellas solas sus glúcidos y extraen los

minerales de la planta huésped, mientras que las parásitas no poseen clorofila por lo tanto no procesan sus glúcidos y todas sus funciones las hacen a expensas del huésped (Agrios, 1995; Planes y Carrero, 2008).

d) Virus y viroides: Los virus son seres submicroscópicos que solamente se multiplican en seres vivos, la mayoría de los virus fitopatógenos contienen solo ARN, la forma en la que penetran a la planta es por medio de vectores como son insectos o nematodos, o bien penetran por heridas (Weber, 1997).

e) Nemátodos: Los nemátodos son gusanos microscópicos con cuerpos alargados y delgados semihialinos que habitan en el suelo o en el agua, son causantes de pérdidas importantes en la agricultura ya que causan enfermedades de manera directa y son vectores de algunos virus, invaden los tejidos vegetales y causan daños en las raíces para poder alimentarse, la humedad es un factor que favorece la existencia de nemátodos (Agrios, 1995; Weber, 1997).

f) Protozoarios: Los protozoarios son organismos unicelulares aclorófilos, los protozoarios fitopatógenos se limitan al látex, al floema o a los frutos, la forma por la que generalmente penetran en la planta es por medio de insectos (Agrios, 1995; Arauz, 1998).

Dentro de los agentes patógenos más importantes se encuentran algunas bacterias y hongos, causantes de pérdidas en la agricultura mundial, ya que muchos de ellos producen enfermedades devastadoras, cuando se presentan las condiciones ambientales adecuadas. Los géneros de bacterias patógenas con importancia agrícola son *Erwinia*, causante de manchas foliares, pudriciones blandas de frutos y raíces. Las *Pseudomonas* son agentes causales de agallas, marchitez y quemaduras. *Agrobacterium* causante de tumores en muchas leguminosas. Las *xanthomonas* promotoras de la aparición de manchas foliares y de sarna. Así como los hongos de los géneros *Sclerotium*, quien provoca pudrición de raíz y tallo. *Pythium* agente del ahogamiento de muchas plantas, *Sclerotinia* promotora de manchas foliares, necrosis, cancro, muerte descendente, pudrición, sarna y decaimiento. *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, causantes de deterioros en semillas y de pudriciones blandas de frutos y hortalizas. *Rizoctonia* y *Thielaviopsis* pueden causar pérdidas importantes en la producción de hortalizas (Hoocker, 1980).

2.2 Control de las enfermedades de las plantas

El control de las enfermedades de las plantas se hace de diferentes formas, puede ser curativo o preventivo, dentro de las medidas preventivas se encuentran: empleo de variedades resistentes, rotación y manejo adecuado de cultivos; y en los curativos se encuentran: control físico, químico y en reciente aparición el control biológico.

Para muchos cultivos las medidas preventivas no son suficientes, por lo que la única opción son las medidas curativas, como el control físico: consiste en una esterilización del suelo mediante altas temperaturas y es en ocasiones insuficiente pues no acaba con algunas estructuras de resistencia como son las esporas de los hongos, además de que en ocasiones acaba con poblaciones que son benéficas para los cultivos, por lo tanto se recurre al control químico.

El control químico se hace por medio de pesticidas¹, su uso ha representado una ventaja en los últimos 60 años, al incrementar la producción agrícola (Carrero, 1996; Planes y Carrero 2005). Esta ventaja se ha aminorado al olvidar las prácticas culturales que permitían el equilibrio ecológico que existe de manera natural, debido a esto los pesticidas han generado efectos secundarios.

2.3 Importancia del control de las enfermedades

Se ha detectado una disminución en la producción de cultivos a causa de las enfermedades, dentro de los cultivos afectados destaca el de ajo, el cual registró una reducción del rendimiento del 25 al 50% en la región del Bajío (Pérez *et al.*, 2007; Pérez y Rico, 2004; Ramírez–Malagón *et al.*, 2006). Así también se han notado plantas enanas y con un menor número de hojas en las plantas de ajo enfermas (Cafrune *et al.*, 2005).

¹ Pesticida: Se refiere a todo producto químico destinado a luchar contra los parásitos animales o vegetales que atacan a los cultivos, dentro de estos se encuentran los insecticidas, acaricidas, nematocidas, fungicidas y bactericidas

CAPÍTULO 3

PESTICIDAS

3.1 Efecto de los Pesticidas

Los pesticidas causan una disminución del número de los microorganismos que habitan en el suelo, al transcurrir el tiempo se presenta un rápido aumento del número de organismos principalmente bacterias, quienes se recuperan más rápido (Wild, 1992). Aunque se sabe que en algunos casos el restablecimiento de los microorganismos no es por una recuperación, sino por un remplazo de especies (Van Beelen y Doelman 1997). Lo que provoca este reemplazo es que al acabar con algunas especies, la competencia se reduzca y se reproduzcan más individuos.

3.2 Efectos secundarios de los pesticidas

Los pesticidas han sido utilizados desde hace mucho tiempo, para generar un control en las enfermedades de los cultivos de manera fácil, pero el uso de estos agentes ha traído consigo una serie de desventajas, entre las que destacan:

Resistencia: La OMS define este término como el desarrollo de una estirpe de patógenos que tienen la capacidad de tolerar dosis de tóxicos, que se comprueba son letales a la mayor parte de los individuos en la población normal de la misma especie, y esta resistencia es muchas veces resultado de la extensión y repetición de tratamientos, provocando un aumento en la dosis de plaguicida empleado (Barberá, 1991).

Brotos de plagas secundarias: La lucha química altera profundamente el equilibrio biológico del ecosistema, pudiendo favorecer en algunos casos a una o varias poblaciones hasta entonces indiferente, con el consiguiente peligro de convertirse en nocivas, gracias a que muchos patógenos son capaces de recolonizar fácilmente (Evans, 1973; Planes y Carrero, 1995).

Recurrencia de plagas: Debido a la utilización de pesticidas se ha descompensado el potencial biótico que anteriormente era regulado por factores climáticos y bióticos, lo que ha permitido un desequilibrio ecológico favoreciendo la multiplicación de plagas por la falta de depredadores naturales.

Contaminación de alimentos: Al no respetar los tiempos entre aplicación y cosecha se ha visto un aumento en el número de alimentos contaminados por pesticidas, y se estima que gracias a esto en todo el mundo mueren tres millones de personas cada año y que millones enferman de infecciones digestivas (FAO, 2011). La contaminación de alimentos no solo se ve por esa vía sino también al contaminar el agua, se estima que cerca del 50% del producto es drenado por el agua freática y conducido a corrientes subterráneas, contaminando a cultivos lejanos y cuerpos de agua donde habitan peces que son alimento de los seres humanos causando así que se sufran efectos perjudiciales para la salud (Carrero, 1996).

Vida residual: Es un problema grave, ya que los pesticidas tienen una persistencia tanto en el suelo como en la planta que afecta a la población en general.

3.3 Características de fungicidas y bactericidas comerciales

Fungicidas

Existen dos tipos principales de fungicidas aquellos preventivos de contacto que son insolubles e impiden la germinación de las esporas y los fungicidas de acción curativa y sistémica que son solubles y atacan a los hongos que han penetrado el tejido de las planta y generan resistencia más rápido que los preventivos, ya que están diseñados para géneros específicos. En el mercado existe una gran variedad de ambos tipos, los principales compuestos tienen cobre, estaño, azufre coloidal, compuestos orgánicos y aceites minerales, llamados fungicidas preventivos de contactos, y existen los llamados fungicidas de acción curativa y sistémicos dentro de estos se encuentran: Benomyles, Pirimidines y los Oxatrinés que son los más comunes y se utilizan para la desinfección de semillas (Orozco y Glass, 1999).

Bactericidas

Entre los principales está el Bronopol que es utilizado para los géneros *Xanthomona* y *Erwinia*, además de antibióticos como la oxitetraciclina, estreptomina, terramicina y validamicina útiles para el ataque de *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium* y *Erwinia*, y la mayoría son compuestos de cobre (Orozco y Glass, 1999; Barberá, 1991).

3.4 Principales grupos de microorganismos del suelo

Los estudios sobre microorganismos del suelo son abundantes, pero no se han realizado trabajos que determinen completamente la biodiversidad de microorganismos de un suelo y cual es la función óptima. Sólo se han identificado la funcionalidad de algunos grupos particulares como los microorganismos que participan en la fijación de nitrógeno, degradación de celulosa, incorporación de fósforo a la planta, y algunas interacciones con otros microorganismos y control biológico principalmente.

Se sabe que el suelo es un ecosistema de enorme riqueza microbiana, donde se encuentran organismos como las bacterias, (10^6 o 10^7 bacterias g^{-1} de suelo), los hongos (10^4 propágulos g^{-1} de suelo) dado su mayor tamaño aunque menor abundancia tienen la biomasa más significativa (Alexander, 1980). Los actinomicetos son otro grupo de microorganismos del suelo, dentro de este grupo se encuentran patógenos y algunos otros producen antibióticos como la estreptomicina (Lynch y Hobie, 1988; Killham, 1994); también encontramos poblaciones de algas (las menos abundante), (Lynch y Hobie, 1988; Bautista *et al.*, 2004), otro grupo importante son los protozoarios, los cuales se restringen a los primeros 15 centímetros del perfil del suelo, así como los virus (Alexander 1980; Killham, 1994).

3.5 Efecto de los pesticidas en las poblaciones microbianas del suelo

El efecto que tiene cada uno de los pesticidas varía en cada sitio, dependiendo de las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo, de manera particular los estudios se han enfocado al efecto de los fungicidas en las poblaciones del suelo. Las relaciones entre los pesticidas principalmente bactericidas y fungicidas con los microorganismos del suelo pueden analizarse desde dos puntos de vista, el primero es que los pesticidas suprimen poblaciones o funciones de la comunidad autóctona, o de la población en general, al afectarlos en alguna fase de su ciclo de vida (Alexander, 1980), teniendo efectos colaterales en las especies no objetivo (Ferrera – Cerrato y Alarcón, 2007) y en segundo lugar debido a que algunos microorganismos metabolizan los compuestos químicos y se produce un cambio en la actividad o permanencia en el suelo de estos y puede ser mayor que la inicial. Ya que algunos fungicidas puede provocar efectos más severo, en lugar de disminuir la incidencia de enfermedades vegetales, se puede dar un aumento anormal del daño causado por un hongo patógeno que no es atribuido a una estimulación de las especies dañinas, sino a una probable inhibición de las especies que compiten (Alexander, 1980).

Gallori *et al.* (1991) observaron que los fungicidas tienen una incidencia en las bacterias sobre todo el género *Azospirillum*, donde se observó una inhibición en el crecimiento celular como en la fijación de

nitrógeno. También en las leguminosas la nodulación se ve disminuida con el uso de pesticidas (Alexander, 1980).

3.6 Descripción de los pesticidas utilizados

Fungymicin agrícola: Es un bactericida con propiedades sistémicas que contienen clorhidrato de oxitetraciclina (5%) formulado como polvo humectable para la prevención y control de las enfermedades bacterianas causadas por el género *Erwinia*, no es fitotóxico, pero su uso es estrictamente agrícola ya que es tóxico para humanos y animales.

Carbendex: Es un fungicida sistémico y curativo, que contiene Carbendazim (Metil benzimidazol-2-il-carbamato 50%), es absorbido por la planta y transportado mediante el flujo de la savia, su aplicación es más efectiva en estadios tempranos de la infección. Controla enfermedades, especialmente ascomicetos, hongos imperfectos y basidiomicetos, no se debe pastorear en lugares tratados con este producto por que es ligeramente tóxico.

CAPÍTULO 4

MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES

Existen diferentes formas de extraer y conservar los compuestos químicos presentes en las plantas, muchas de ellas dependen de la naturaleza química del compuesto y de sus propiedades físicas, como la miscibilidad, polaridad, puntos de ebullición y fusión, entre otros. Dentro de las técnicas más importantes se tienen:

Extracción mecánica: Técnica que permite obtener los extractos con sus principios activos directamente en los fluidos de la propia planta, se puede realizar por expresión (presión sobre la planta), con calor o mediante incisiones (Kuklinski, 2000).

Destilación: Procedimiento por el cual se separan los componentes de una mezcla líquida por vaporización de la misma. Con el calentamiento se desprenden primero los componentes más volátiles y luego va quedando un residuo líquido constituido por las sustancias de punto de ebullición más alto (Umland, 2000; Jorge, 2004).

Extracción con disolventes: Consiste en poner en contacto la planta con un disolvente capaz de solubilizar, obteniendo una disolución, para después concentrarlo eliminando el disolvente, se debe considerar la característica de la planta, la naturaleza del disolvente como la inmiscibilidad (Seoánez, 2000).

Extracción discontinúa o simultánea: Consiste en sumergir la planta en el disolvente en su totalidad y la difusión de los principios activos se producirá en todas las direcciones hasta alcanzar el equilibrio (Kuklinski, 2000).

Extracción continúa o progresiva: En ella el disolvente utilizado para la extracción se va renovando y actúa en una sola dirección, la planta está en contacto con el disolvente adecuado en todo momento el desequilibrio entre la concentración del principio activo de esta y en el disolvente para que se produzca la difusión celular (Kuklinski, 2000).

Existen otros métodos más simples de aplicar como son:

Tinturas: Son preparaciones líquidas obtenidas generalmente a partir de materias primas vegetales o animales desecadas. Las tinturas se obtienen por maceración o percolación utilizando alcohol de graduación adecuada (Castillo y Martínez, 2007).

Infusión: Acción de extraer de las sustancias orgánicas las partes solubles en agua, a una temperatura mayor que la del ambiente y menor que la del agua hirviendo (Alesón, 2004).

Decocción: Es un proceso en el cual la planta se hierva en agua durante un periodo de tiempo determinado. Se usa este procedimiento con las partes más duras, como corteza, hojas coriáceas, raíces y tallos (Alesón, 2004).

MÉTODO

El método consiste en tres fases:

Fase de campo

Descripción del área de recolecta

Se realizó la recolecta de las plantas y suelo en el Parque Nacional Izta-Popo y zona de influencia. El Parque Nacional Izta-Popo, Zoquiapan se encuentra en la parte centro-oriental del Eje Volcánico Transversal. Ocupa parte de la Sierra Nevada en su porción sur y de la Sierra de Río Frío en su porción norte. Se localiza entre las siguientes coordenadas geográficas: límite extremo norte 98° 40' 18" y 19° 28' 2"; límite extremo oeste 98° 46' 40" y 19° 20' 29"; límite extremo este 98° 37' 28" y 19° 16' 16"; límite extremo sur 98° 40' 27" y 19° 14' 36". Abarca una superficie de 40,008 hectáreas dividida entre los estados de México, con 28,461 hectáreas (71.14%); Puebla con 11,047 hectáreas (27.61%); y Morelos con 499 hectáreas (1.25%). Sus geoformas (sierra, conos volcánicos y laderas) son de origen volcánico, predominando rocas basálticas y andesititas. (CONANP, 2009). En la figura 6 se muestra un mapa en donde se localizan las zonas donde se colectaron las plantas y el suelo.

Vegetación: Dentro del Parque se encuentran bosques de Pino, de Encino, de Abies y en algunas partes se encuentran zonas de zacatonal, dentro de los géneros que se hallan en ese lugar destacan *Quercus*, *Abies*, *Arbutus*, *Alnus*, *Salix* y *Buddleia*, los bosques de pino están dominados por las especies *Pinus hartweggi* y *P. montezumae* y algunas especies de plantas medicinales como *Lupinus*, gordolobo, cardo santo y la jarilla.

Hidrología : Los recursos hídricos son originados principalmente por los deshielos. La precipitación promedio es de 1000 mm, produciendo una infiltración que alimenta las corrientes subterráneas y los mantos freáticos que abastecen el área metropolitana (CONANP, 2009).

Clima: Es templado subhúmedo con lluvias en verano, registra una temperatura media anual 14°C a los 17°C, dependiendo de los municipios. En enero se presentan las temperaturas más bajas, alrededor de 10°C, la precipitación anual varía de 928mm hasta 1885 mm (CONANP, 2009).

Suelos: De acuerdo con la clasificación de la FAO, las unidades de suelo presentes en el área del parque son:

Litosoles. Caracterizados por tener un horizonte A mólico, situado sobre un horizonte cámbico, presentan 60% o más de ceniza volcánica, con salinidad baja (Fitzpatrick, 1984).

Regosoles. Se forman a partir de material suelto como arena, grava o piedra; en el parque se localizan a altitudes por debajo de los 3,900 metros y normalmente son pobres en contenido de materia orgánica y nutrimentos, presentan un horizonte A ócrico (Buol y Hole, 1981).

Andosoles. Se derivan de cenizas volcánicas recientes, por lo que son suelos ligeros con alta retención de humedad y buen contenido de nutrimentos, así como con un alto contenido de materia orgánica y presentan vidrios volcánicos (SEMARNAP, 1996).

Cambisoles. Suelos que tienen un horizonte B cámbico, presentan un horizonte cálcico, carentes de salinidad elevada y de un régimen de húmeda árido (Fitzpatrick, 1984).

Fluvisoles. Son suelos formados en cañadas, escurrimientos y zonas de depósitos de material reciente; de textura gruesa, su fertilidad es baja debido al escaso contenido de nutrientes y presentan un horizonte Ap superficial (Buol y Hole, 1981).

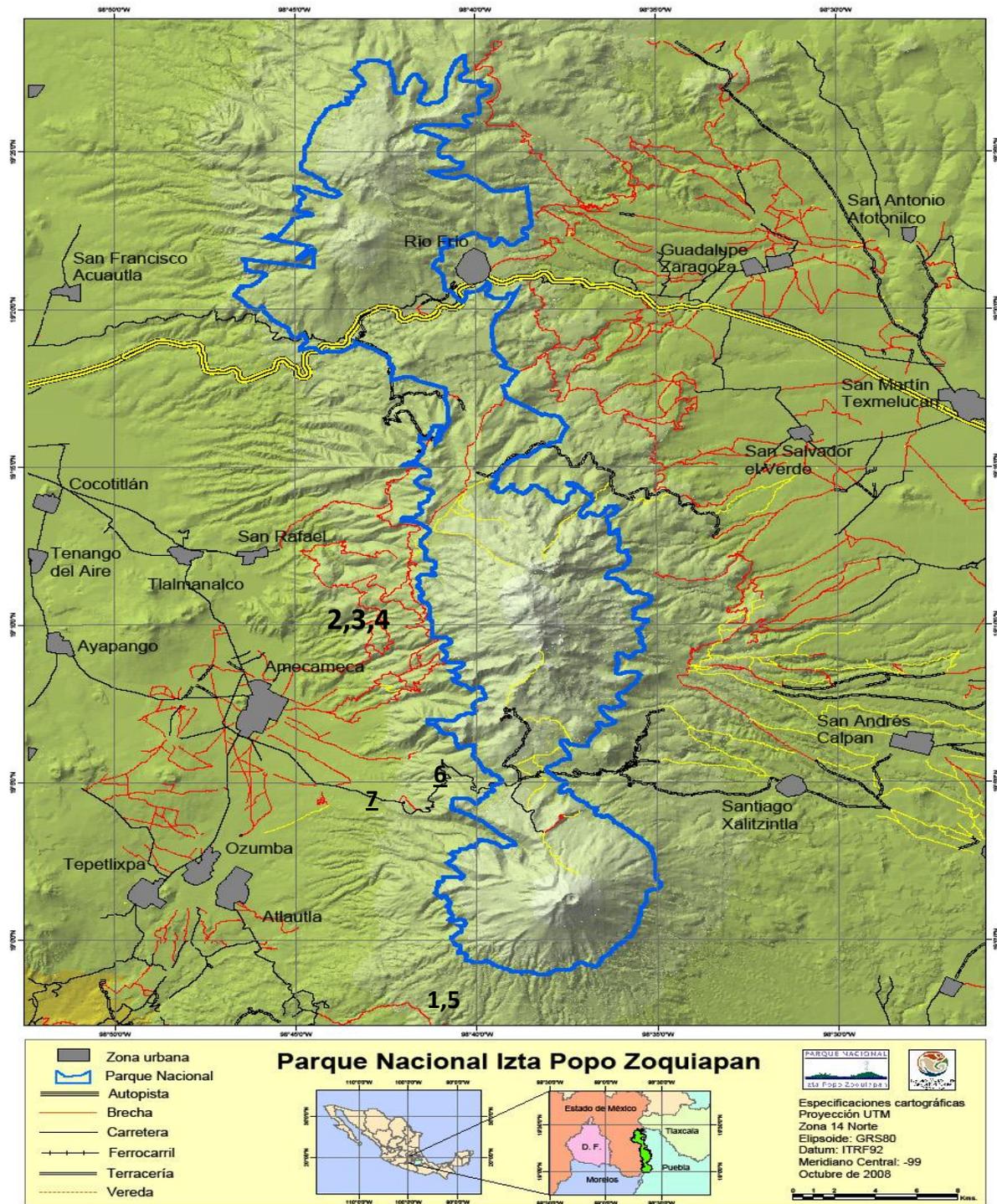


Figura 1. Mapa de la zona de recolecta

* Donde los números indican la zona de muestreo de cada una de las plantas y el suelo. 1=*Euphorbia hirta*, 2=*Lantana camara*, 3=*Phytolacca icosandra*, 4=*Quercus obtusata*, 5=*Tagetes lucida*; 6= zona de Bosque de Abies, 7: Zona de cultivo

Recolecta del material vegetal

Las plantas de *Tagetes lucida*, *Euphorbia hirta* y *Lantana camara* fueron colectadas en el municipio de Tetela del Volcán, Estado de Morelos, ubicado a 2099 m de altitud. Para el caso de *Phytolacca Icosandra* y *Quercus obtusata* fueron colectadas en el Estado de México, municipio de Amecameca de Juárez, en el poblado San Antonio Tlaltecahuacan. De *Quercus obtusata* se utilizó la corteza, mientras que de las demás plantas se ocupó la parte área (tallo, hoja y flor), además se prensó un ejemplar de cada planta, para su determinación taxonómica en el Herbario de la FES Zaragoza por un especialista.

Muestreo del suelo.

Se tomaron muestras compuestas una de cada tipo de suelo (cultivo de maíz y de un bosque de *Abies religiosa*), a una profundidad de 0 a 15 cm. Se guardaron en bolsas de plástico a temperatura de 4°C, para evitar el crecimiento de los microorganismos, para las pruebas de inhibición de las poblaciones totales de bacterias y hongos.

Fase de laboratorio

Desinfección y secado de las plantas

Se desinfectaron las plantas con hipoclorito de sodio al 10%, por 5 minutos, después se enjuagaron de 4 a 6 veces para eliminar el exceso de hipoclorito de sodio, después de este proceso, se pusieron a secar a temperatura ambiente por 15 días (el lugar permaneció sombreado y fresco). Las plantas se pesaron en una balanza granataria, posteriormente se maceraron, para lo cual se colocaron en frascos ámbar, con alcohol etílico al 96°, se taparon y etiquetaron con los siguientes datos: nombre científico y fecha de elaboración, se guardaron en un lugar oscuro, a temperatura ambiente, agitando al menos una vez al día (Alfaro *et al.*, 2000). Al pasar los 15 días se filtró el líquido con papel Whatman # 4, guardándose nuevamente en un frasco color ámbar. Así se obtuvo la tintura que posteriormente se destiló (Villar, 1999).

Obtención del extracto en peso seco

Una vez obtenidas las tinturas de cada una de las plantas, se destiló en un rota vapor con baño María a 60°C y una presión de vacío de 10^{-4} bares, donde los extractos secos obtenidos se conservaron en cajas Petri

estériles, se dejaron secar a temperatura ambiente y finalmente se volvieron a pesar para obtener el peso seco de cada uno de los extractos vegetales.

Preparación de las concentraciones

Se prepararon una serie de cuatro diluciones con alcohol etílico de 96° para cada uno de los extractos secos, las concentraciones fueron de 30, 60, 90 y 120 mg mL⁻¹ para todas las plantas y para *Lantana camara*, se preparó una concentración más, una de 250 mg mL⁻¹ y se guardaron en frascos ámbar.

La concentración para el bactericida comercial fue de 40 mg mL⁻¹, mientras que para el fungicida fue de 25 mg mL⁻¹, estas concentraciones son las recomendadas en los empaques de cada uno de los productos.

Preparación de los sensidiscos

Se elaboraron sensidiscos de papel Whatman No. 41 con un diámetro de 6 mm, los cuales fueron esterilizados en autoclave a 120 lb/plg durante 20 minutos. Posteriormente se impregnaron con cada una de las diluciones y mezclas preparadas, además del testigo preparado con etanol de 96°, se dejaron secar por 24 horas antes de utilizarse (Koneman y Allen, 1997).

Obtención de los microorganismos fitopatógenos

Las cepas utilizadas fueron donadas por el Doctor Ronald Ferrera- Cerrato del banco de cepas del laboratorio experimental de microbiología del Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo.

Descripción de los patógenos de estudio

Los microorganismos se seleccionaron debido a su presencia en diversos cultivos de hortalizas como lechuga y ajo, ya que son patógenos resistentes que han causado pérdidas económicas importantes en la agricultura.

***Erwinia carotovora* (Jones) Bergey**

Este patógeno ataca los tejidos blandos de casi cualquier planta si las condiciones son favorables, la forma en la que penetra en el huésped es por medio del agua, por heridas o en ocasiones por lenticelas (Arauz, 1998), ataca la laminilla media de las células, logrando también la reducción en el potencial de oxígeno del tejido,

provocando una susceptibilidad a la pudrición. Un factor determinante en la diseminación de este patógeno es la cantidad de agua, ya que al volverse más turgentes los tejidos, se hacen también más vulnerables (Smith *et al.*, 1998).

Pseudomonas marginalis (Brown) Stevens

Es el agente causal de podredumbres blandas de tejidos de reserva, produce el ojo rosado de la papa, se presenta como lesiones blandas, con cambio de coloración, en algunas ocasiones que se extienden a partir de las lesiones iniciales en los márgenes o en los espacios intervenales, ocasionando manchas cloróticas en las hojas (Agrios, 1995).

Penicillium sp.

Es un patógeno causante de enfermedades de postcosecha y de algunos cítricos, produce mohos azules y verdes promotores de la descomposición de frutos durante su transporte y almacenamiento, además de que muchos de ellos son saprobios por lo que ocasionan pudriciones en raíces y tallos (Agrios, 1995).

Sclerotinia sp.

Este hongo, produce la pudrición blanda acuosa de las hortalizas, la infección inicia con lesiones de apariencia húmeda, luego aparece un crecimiento algodonoso que cubre las partes afectadas, al secarse lo algodonoso se torna de un color similar al blanco. Genera esclerocios de 1 a 10 milímetros de diámetro se forman en la parte lesionada pocos días después de los primeros signos, generalmente la infección ocurre en partes cercanas al suelo (Howart y Schwartz, 1992).

Sclerotium cepivorum Berk

Es un hongo específico del género *Allium* (Luna *et al.* b., 2003; Granados y Wang, 2005), es causante de la pudrición de raíces y partes externas de los bulbos, la infección comienza con la aparición de un micelio algodonoso con puntos negros (esclerocios), seguido de una clorosis en las hojas hasta causar necrosis y muerte del tejido afectando a la planta en cualquier etapa del desarrollo (Moreno y Acevedo, 2002; Planes y Carrero, 2008).

Preparación del inóculo

Para poder obtener el inóculo primero se activaron las cepas de *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotina sp.*, *Penicillium sp.*, *Pseudomona marginalis* y *Erwinia carotovora*. Este proceso se llevó a cabo por una inoculación primaria (Sánchez- Colín, 2004). El medio de cultivo para bacterias es Agar Mueller-Hinton y para los hongos es Agar Papa Dextrosa. Ambos inóculos se conservaron a $27^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$.

Para la estandarización del inoculo se realizó utilizando la Escala Turbidimétrica de McFarland (cuadro 3). En un tubo de ensaye se colocó 1 mililitro de solución salina (Na Cl al 0.1%) con la cantidad suficiente del microorganismo a probar, llegando a la turbidez deseada tomando como referencia el tubo 1 de la escala antes mencionada (Celeste y Marcelo, 2008).

Cuadro 1. Escala de McFarland

N. de tubo	BaCl 1% mL	H ₂ SO ₄ 1% mL	N. aproximado UFC representadas 10^6 mL^{-1}
1	0.1	9.9	300
2	0.2	9.8	600
3	0.3	9.7	900
4	0.4	9.6	1200
5	0.5	9.5	1500
6	0.6	9.4	1800
7	0.7	9.3	2100
8	0.8	9.2	2400
9	0.9	9.1	2700
10	1.0	9.0	3000

(Koneman y Allen, 1997)

La siembra del inóculo se realizó según la Técnica de Barry, para ello se prepararon los medios de cultivo ya indicados, los cuales se esterilizaron en la autoclave por 20 minutos, una vez esterilizados se vertieron aproximadamente 15 mL en cajas Petri estériles, se dejaron enfriar y se inoculó con cada uno de los microorganismos. Se colocaron los sensidiscos impregnados con las soluciones de 30, 60, 90 y 120 mg mL^{-1} , los pesticidas comerciales, se incubaron a 29°C , y se realizó la lectura a las 24 hrs para bacterias y a las 48 horas para hongos. Transcurrido el tiempo de incubación, se midió el diámetro de cada uno de los halos de inhibición con un vernier, observando así la sensibilidad del microorganismo a cada uno de los tratamientos.

Dilución de suelo serial para la obtención de los microorganismos del suelo

Para la obtención de los microorganismos del suelo se colocaron 10 gramos de suelo en 90 mL de agua destilada se agitaron por 10 minutos (sol. Patrón 1: 10), se tomó 1 mL de esta solución adicionándole 9 mL de agua destilada se repitió este proceso hasta llegar a la dilución 10^{-4} , la cual se inoculó en una caja Petri con agar nutritivo para bacterias y Papa Dextrosa para hongos, se incubo esperando el desarrollo de colonias para su posterior cuantificación del número más probable (Sánchez -Colin, 2004). Antes de adicionar el inóculo al agar se le adicionó 1 mL de cada uno de los extractos vegetales y los pesticidas comerciales (Fungimycin agrícola, Carbendex), se efectuaron 3 repeticiones.

Se realizó un ensayo en el que se colocaron 100 g. de suelo en contacto con cada uno de los extractos a la CMI, las mezclas seleccionadas y los pesticidas comerciales pero llevadas a 10 mL, se dejaron reposar a temperatura ambiente, tapados con papel aluminio durante tres días para una posterior dilución de suelo serial para poder contar el número más probable de colonias.

Se contaron las colonias reportadas a las 24 y a las 48 horas para el caso de las bacterias, mientras que en los hongos fueron 48 y 72 horas, con el fin de evaluar el efecto de los extractos y los productos comerciales sobre las poblaciones totales, para poder evaluar como influye el tiempo en las colonias, teniendo como referencia un testigo al que no se le aplico tratamiento para decir si existió inhibición.

Fase de gabinete

Análisis de datos y estadísticos

Para el análisis de los datos del tamaño del halo de inhibición, se aplicó un análisis estadístico, utilizando un ANOVA (Análisis de varianza) y la prueba de rangos múltiples de Tukey con un nivel de significancia de 0.05, este análisis compara si existe diferencia estadística entre medias, para ello se utilizó el Programa Estadístico Statgraphic plus Versión 5.0 (Reyes, 1982; Cervantes *et al*, 2006).

Para evaluar el efecto y comportamiento de los extractos con respecto al tiempo, frente a las poblaciones totales de bacterias y hongos, se utilizó el Programa Estadístico SPSS Versión 10.5, donde se realizó un ANOVA de mediciones repetidas.

En este análisis se comparó si existía diferencia estadística entre los tratamientos por medio de una prueba de Tukey, así como se comparó la variación en los dos tiempos (24 y 48 horas) dentro de cada tratamiento.

RESULTADOS

Descripción de las plantas de estudio

Las especies utilizadas para este trabajo, fueron escogidas, de acuerdo a su actividad inhibitoria registrada en la literatura especializada para patógenos del hombre (Caceres, 1991; Marie-Claire, 1991; Deena y Thoppil, 1995; Vijayaa 1995; Barre, 1997; Treyvaud, 2000; Aquino, 2002; Céspedes, 2006, Garduño 2007; Zambrano, 2008; Ortiz, 2009; Cruz 2010).

Euphorbia hirta L.



Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Malpigiales
Familia: Euphorbiaceae
Género: *Euphorbia*
Especie: *Euphorbia hirta* L.

Figura 2. Planta de *Euphorbia hirta* L.

Descripción botánica: Planta herbácea, erecta, decumbente, o bien rasante y extendiéndose radialmente, mide hasta de 50 cm de largo se ramifica en forma dicotómica, sus hojas son opuestas, haz poco pubescente, con frecuencia con una mancha de color rojo oscuro en el centro, envés bastante pubescente, la diferencia entre ambas caras suele ser marcadamente manifiesta, presenta inflorescencias en ciatos densamente aglomerados en cimas en forma de umbela o de cabezuela, con pubescencia densa de pelos cortos (Rzedowski y de Rzedowski, 2001).

Nombre común: Hierba de la golondrina (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009).

Distribución geográfica: Se encuentra presente en climas cálido, semicálido y templado, entre los 8 y los 1550msnm, se encuentra asociada a vegetación perturbada de dunas costeras, bosques tropicales caducifolio, subcaducifolio, perennifolio, matorral xerófilo y bosque de encino.

Usos: Es usada comúnmente para infecciones respiratorias, como expectorante, conjuntivitis, amibiasis y úlceras.

Metabolitos secundarios con actividad biológica documentada: Diterpenoides, triterpenoides, esteroides, taninos, flavonoides y alcaloides (CONABIO, 2004).

Lantana camara L.



Reino: Plantae
 División: Magnoliophyta
 Clase: Magnoliopsida
 Orden: Lamiales
 Familia: Verbenaceae
 Género: *Lantana*
 Especie: *Lantana camara* L.

Figura 3. Planta de *Lantana camara*

Descripción botánica: Es un arbusto de 1 a 3m de alto, usualmente con espinas, con o sin pelos, con o sin glándulas en la punta de los pelos, sus hojas son generalmente opuestas, pecíolos de 3 a 12 mm de longitud, con o sin pelos, margen con dientes, con pelos en ambas superficies, envés en ocasiones sin pelos. La inflorescencia es en forma de cabezuela de 0.5 a 3 cm pedúnculos de 2 a 14 cm de longitud, las flores son rojas y amarillas, el fruto es agrupado y esférico de color negro y de 3 mm de diámetro (Rzedowski y de Rzedowski, 2001).

Nombre común: Cinco negritos (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009).

Distribución geográfica: Se distribuye en matorral xerófilo, pastizales y selva baja caducifolia por lo tanto la encontramos en Baja California Sur, Campeche, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Colima, Distrito Federal,

Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán.

Usos: Se utiliza contra las amibas, la disentería, diarrea, vómito, también para curar erupciones en la piel.

Metabolitos secundarios con actividad biológica documentada: Triterpenoides y terpenoides (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009).

Phytolacca icosandra L.



Reino: Plantae
 División: Magnoliophyta
 Clase: Magnoliopsida
 Orden: Caryophyllales
 Familia: Phytolaccaceae
 Género: *Phytolacca*
 Especie: *Phytolacca icosandra* L.

Figura 4. Planta de *Phytolacca icosandra* L.

Descripción botánica: Es una hierba anual o perenne de vida corta, con frecuencia robusta, sin pelos o poco pubescente, llega a medir hasta 2 m de alto, su tallo es ramificado, hueco, ángulosos, sus hojas son elípticas de 7 a 20 cm de largo por 2.5 a 9.5 cm de ancho, pecíolos bien manifiestos, de 1 a 6 cm de largo, presenta racimos numerosos axilares y terminales de 8- 15 cm de largo las flores, tépalos verdosos, blancos o rojizos, el fruto es carnoso de color negro cuando es maduro. (Rzedowski y de Rzedowski, 2001).

Nombre común: Congóra, Fitolaca (SEMARNAT, 2010)

Distribución geográfica: Se distribuye en Bosque de Encino, se encuentra 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, Nayarit, Nuevo

León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, San Luís Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz, Yucatán (CONABIO,2004).

Usos: Se usa para problemas de la piel, reumatismo, infecciones intestinales y reumatismo.

Metabolitos secundarios con actividad biológica documentada: Saponinas

Quercus obtusata Humb. & Bonpl.



Figura 5. Planta de *Quercus obtusata* Humb. & Bonpl.

Reino: Plantae
 División: Magnoliophyta
 Clase: Magnoliopsida
 Orden: Fagales
 Familia: Fagaceae
 Género: *Quercus*
 Especie: *Quercus obtusata* Humb. & Bonpl.

Descripción botánica: Árbol hasta de 15 o 20 m de altura; tronco con un diámetro de 50 a 60 cm, ramillas de 1.5 a 3 mm de diámetro, hojas con el pecíolo de 7 a 12 mm de largo, pubescente, ápice obtuso o redondeado, margen algo engrosado y ligeramente revoluto, subentero o sinuado-dentado, haz lustroso, envés pubescente con pelos glandulares, flores femeninas 1 a 5 en un pedúnculo pubescente de 1 a 5 cm de largo; frutos 1 a 3 en el extremo de un pedúnculo hasta de 6cm de largo, bellota ovoide de 17 a 20 mm de largo por 15 a 18 mm de diámetro.

Nombre común: encino blanco o roble

Distribución geográfica: Se distribuye en Distrito Federal, Durango, Guerrero, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, México, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Veracruz y Zacatecas.

Usos: Es utilizado para problemas dentales, dolor de garganta, hepatitis, gastritis, diarrea, quemaduras y llagas (Luna *et al.*, 2003.a, Valencia 1995).

Metabolitos secundarios con actividad biológica documentada: Polifenoles

Tagetes lucida Cav.



Figura 6. Planta de *Tagetes lucida* Cav.

Reino: Plantae
 División: Magnoliophyta
 Clase: Magnoliopsida
 Orden: Asterales
 Familia: Asteraceae
 Género: *Tagetes*
 Especie: *Tagetes lucida* Cav.

Descripción botánica: Hierba perenne erecta, aromática, glabra, de 30 a 100cm de altura, hoja simple, opuesta, verde oscuro, aromática, oblonga, de 2.5 a 10cm. de largo, de 0.7 a 1 cm. de ancho, glabra, punteada glandular, margen firmemente aserrado, sésil, su inflorescencia es una cabezuela en corimbo, flor periférica femenina ligulada, de 2 a 5 por cada cabezuela, la flor del disco hermafrodita, fruto aquenio lineal. (Rzedowski y de Rzedowski, 2001).

Nombre común: Pericón (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009).

Distribución: Crece en climas templados, por lo tanto se encuentra en casi toda la República Mexicana a excepción de Tabasco, la península de Yucatán, Península de Baja California, Sonora, Nayarit y Colima (Linares 1996, Rzedowski y de Rzedowski, 2001).

Usos: Se usa contra la diarrea, disentería, reumatismo, asma, para ahuyentar mosquitos.

Metabolitos secundarios con actividad biológica documentada: Alcaloides y ácido tánico, tiofenos que son derivados sulfurados.

Rendimiento de los extractos vegetales

El rendimiento de un extracto demuestra la cantidad de planta que se necesita para obtener una cierta cantidad de este. También es útil conocer este parámetro por que permite preparar soluciones con las concentraciones mínimas que presenten el efecto farmacológico y evitar toxicidad.

En el cuadro 2 se observa el rendimiento del peso seco para cada una de los extractos trabajados, fue en *Quercus obtusata* en el que se obtuvo el menor rendimiento de 2.89%, mientras que *Euphorbia hirta* registró el mayor rendimiento 7.6%. Conocer el rendimiento de un extracto es útil por que gracias a eso se puede conocer la cantidad necesaria de planta para obtener un efecto inhibitorio y conocer la dosificación exacta a utilizar.

Cuadro 2. Rendimiento del peso seco de los extractos obtenidos de *Euphorbia hirta*, *Lantana camara*, *Phytolacca icosandra*, *Quercus Obtusata* y *Tagetes lucida*.

Especie/ peso	Peso de la planta en seco (g)	Peso seco del extracto (g)	Rendimiento
<i>Euphorbia hirta</i> L.	680	5.1784	7.6%
<i>Lantana camara</i> L.	102	5.44	5.3%
<i>Phytolacca icosandra</i> L.	99.8	5.9409	5.9%
<i>Quercus Obtusata</i> Humb. & Bonpl.	299.5	8.6762	2.89%
<i>Tagetes lucida</i> Cav.	217.56	9.9449	4.5%

Pruebas de sensibilidad

En el cuadro 3 se observan los microorganismos que fueron sensibles a cada uno de los extractos, el más sensible fue *Erwinia carotovora*, quien mostró sensibilidad a los cinco extractos vegetales probados, mientras que el organismo menos sensible fue *Penicillum sp.* quien sólo presentó inhibición con el extracto de *Tagetes lucida* a la concentración de 120 mg mL⁻¹.

Ambas cepas de *Pseudomona marginalis* fueron inhibidas por tres de las cinco plantas, mientras que para el caso de los tres hongos probados todos presentan inhibición únicamente con *Tagetes lucida*.

Cuadro 3. Efecto inhibitorio de los cinco extractos vegetales en las concentraciones de 30, 60, 90 y 120 mg mL⁻¹ frente a las bacterias y hongos probados.

Tratamiento/ microorganismo	<i>Euphorbia hirta</i> L.				<i>Lantana camara</i> L.					<i>Phytolacca</i> <i>icosandra</i> L.				<i>Quercus</i> <i>Obtusata</i> Humb. & Bonpl.				<i>Tagetes lucida</i> Cav.				
	30	60	90	120	30	60	90	120	250	30	60	90	120	30	60	90	120	30	60	90	120	
Concentración (mg mL ⁻¹)																						
<i>Erwinia carotovora</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomona marginalis</i> (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomona marginalis</i> (2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-		+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillum sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Sclerotinia sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Sclerotium cepivorum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

(1) Bacteria aislada de la planta de ajo (*Allium sativum* L.), (2)= es aislada de una planta de lechuga (*Lactuca sativa* L.); (+)= Inhibición; (-) = Sin inhibición

Además de los cinco extractos probados se realizaron pruebas con productos comerciales, en el cuadro 4 se observa el efecto inhibitorio de estos productos, se muestra como el bactericida comercial tuvo efecto sólo en una de las tres cepas probadas, mientras que el fungicida tuvo efecto inhibitorio en dos de las tres cepas probadas

Cuadro 4. Efecto inhibitorio de los pesticidas comerciales a la concentración de 25 mg mL⁻¹ y 40 mg mL⁻¹ para fungicida y bactericida respectivamente

Microorganismo/Tratamiento	Bactericida comercial	Microorganismo/Tratamiento	Fungicida comercial
<i>Erwinia carotovora</i>	+	<i>Penicillium sp.</i>	-
<i>Pseudomona marginalis</i> (1)	-	<i>Sclerotinia sp.</i>	+
<i>Pseudomona marginalis</i> (2)	-	<i>Sclerotium cepivorum</i>	+

(1) bacteria aislada de la planta de ajo (*Allium sativum* L.), (2)= es aislada de una planta de lechuga (*Lactuca sativa* L.); (+)= Inhibición; (-) = Sin inhibición

Efecto de los extractos vegetales frente a los fitopatógenos probados

A continuación se presenta el análisis de la respuesta del microorganismo ante los extractos vegetales probados.

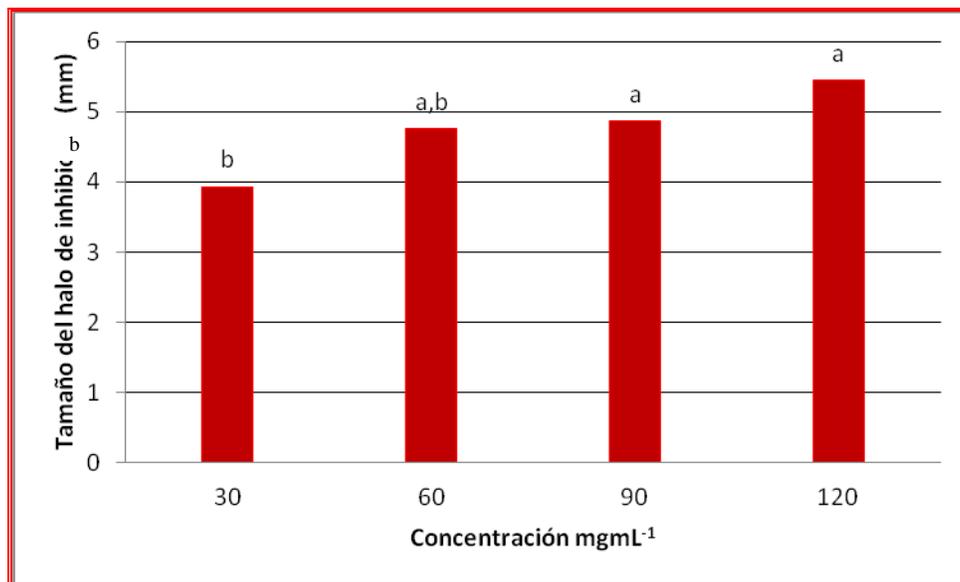
Bacterias

Erwinia carotovora

En la gráfica 1 se muestra el tamaño de los halos de inhibición de *Erwinia carotovora* frente al extracto de *Euphorbia hirta*, que demuestran un incremento en el tamaño conforme se va aumentando la concentración, registrándose valores de 3.93 mm., 4.75 mm., 4.87mm. y 5.45 mm. para 30, 60, 90 y 120 mg mL⁻¹ respectivamente, dividiéndose en dos grupos de acuerdo a las diferencias de las medias, obtenidas en la prueba de Tukey ($p > 0.05$), en el primero se encuentran 30 y 60 mg mL⁻¹ y en el segundo las concentraciones de 90 y 120 mg mL⁻¹ (Apéndice 1.1). Por lo que el efecto terapéutico de *Euphorbia hirta*, se presenta en las cuatro concentraciones, siendo mayor en las concentraciones más altas.

Se obtuvo un efecto inhibitorio a partir de 30 mgmL⁻¹, esta es la concentración mínima inhibitoria, para el caso de *Euphorbia hirta*, en la figura 7 se ven los halos registrados.

Los resultados obtenidos demuestran que el efecto antibacteriano que presentó *Euphorbia hirta* L. es como se había demostrado por Marie-Claire (1991), donde reportó actividades antiinflamatorias y analgésicas al extracto liofilizado de *Euphorbia hirta* L., y Vijayaa (1995), mencionó que los patógenos causantes de la disentería en los humanos se inhiben al usar este extracto.



Grafica 1. Tamaño promedio de los halos de inhibición (mm) para *Erwinia carotovora* con el extracto de *Euphorbia hirta* L. a diferentes concentraciones. a y b= diferencia estadística

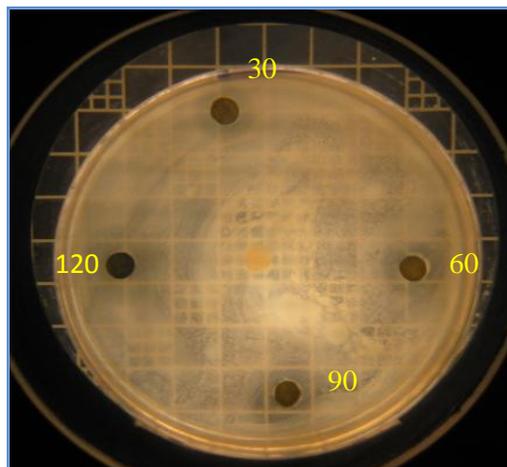
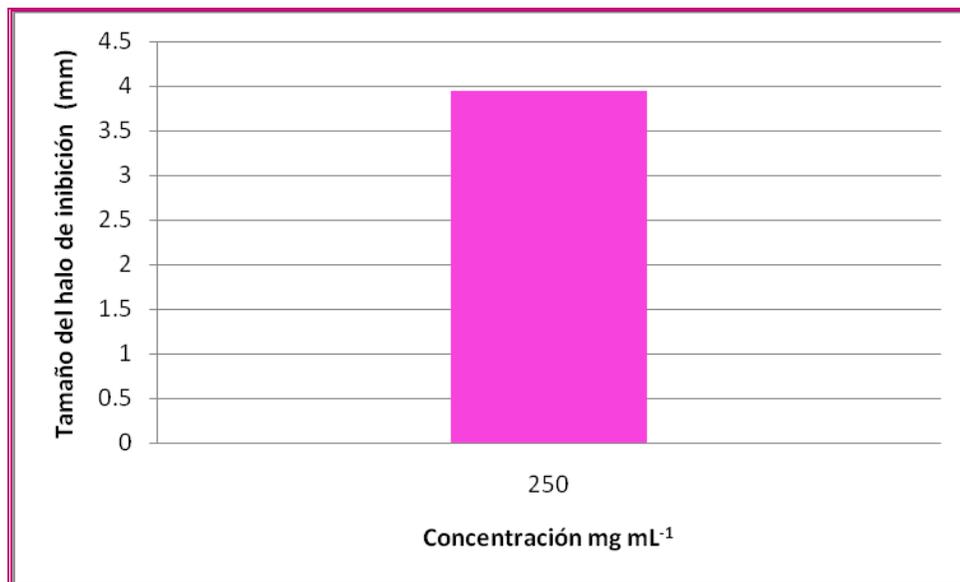


Figura 7. Halos de inhibición del extracto de *Euphorbia hirta* frente a *Erwinia carotovora*. 30,60, 90, 120= concentraciones en mg mL⁻¹.

En la gráfica 2 se observa el tamaño del halo de inhibición con extracto de *Lantana camara*, sin registrar inhibición a las cuatro concentraciones probadas, por lo cual se aumento la concentración a 250 mg mL⁻¹, registrando halos de inhibición de 3.9 mm, siendo esta la concentración mínima inhibitoria, en la figura 8 se observa el halo de inhibición.



Gráfica 2. Tamaño promedio del halo de inhibición para *Erwinia carotovora* frente al extracto de *Lantana camara*.

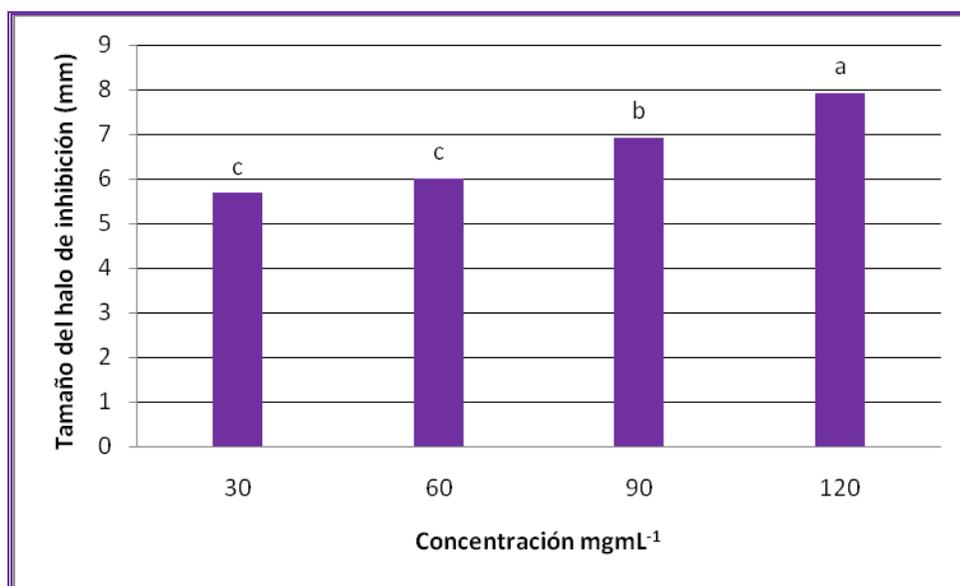


Figura 8. Halo de inhibición del extracto de *Lantana camara* L. frente a *Erwinia carotovora*.

La actividad de *Lantana camara* en fitopatógenos no se ha reportado, pero Barre (1997) y colaboradores encontraron un efecto antimicrobiano a partir de un compuesto extraído de *Lantana camara* frente a bacterias causantes de enfermedades respiratorias y Denna y Thoppil (1995), demostraron una actividad inhibitoria ante 8 patógenos del hombre probados, pero este efecto no se presentó en los hongos fitopatógenos probados.

En la gráfica 3 se observa el tamaño promedio de los halos de inhibición al utilizar extracto de *Phytolacca icosandra*, quien presentó efecto en las cuatro concentraciones probadas 30, 60, 90 y 120 mg mL⁻¹,

registrando halos de 5.68, 6.0, 6.93 y 7.93 mm. respectivamente, por lo cual la concentración mínima inhibitoria es de 30 mg mL⁻¹, quien presenta diferencia estadística al aplicar la prueba de Tukey con las concentraciones más altas. En la figura 9, se visualizan dichos halos, que incrementan de tamaño según la concentración.



Gráfica 3. Tamaño promedio de los halos de inhibición para *Erwinia carotovora* con el extracto de *Phytolacca icosandra* a diferentes concentraciones. a y b = estadísticamente diferentes

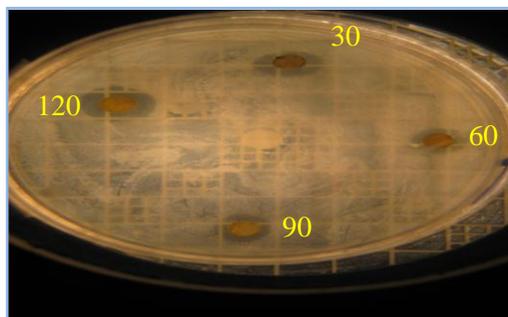
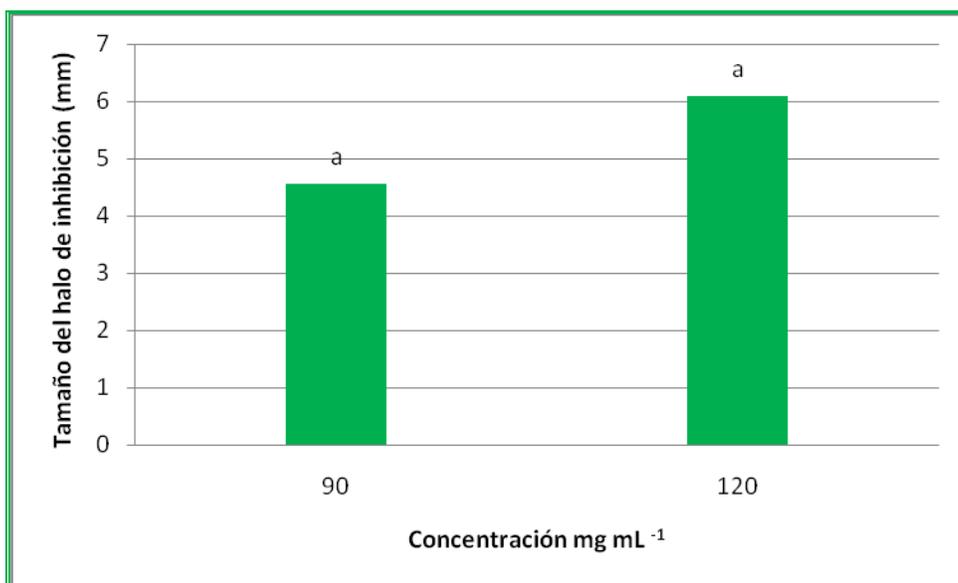


Figura 9. Halos de inhibición del extracto de *Phytolacca icosandra* frente al cultivo de *Erwinia carotovora*. 30, 60, 90 y 120= concentración en mg mL⁻¹.

En la gráfica 4 se observa el tamaño promedio de los halos de inhibición del extracto de *Quercus obtusata* frente a la de cepa de *Erwinia carotovora*, el efecto inhibitorio solo se presentó en dos de las concentraciones probadas,, registrando halos de inhibición de 4.56 y 6.09 mm , donde a mayor concentración incremento en el tamaño del halo, ambas concentraciones son iguales al aplicar la prueba de Tukey ($p < 0.05$) (Apéndice 1.3), con una concentración mínima inhibitoria de 90 mg mL^{-1} , siendo la concentración recomendada, ya que se obtienen el mismo efecto que con 120 mg mL^{-1} , y el gasto de extracto es menor . En la figura 10 se aprecian los halos de inhibición del extracto de *Quercus obtusata*.



Gráfica 4. Tamaño promedio de los halos de inhibición para *Erwinia carotovora* con el extracto de *Quercus obtusata* a diferentes concentraciones. a y b= estadísticamente diferentes

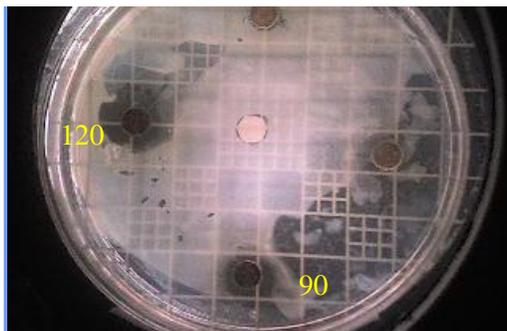
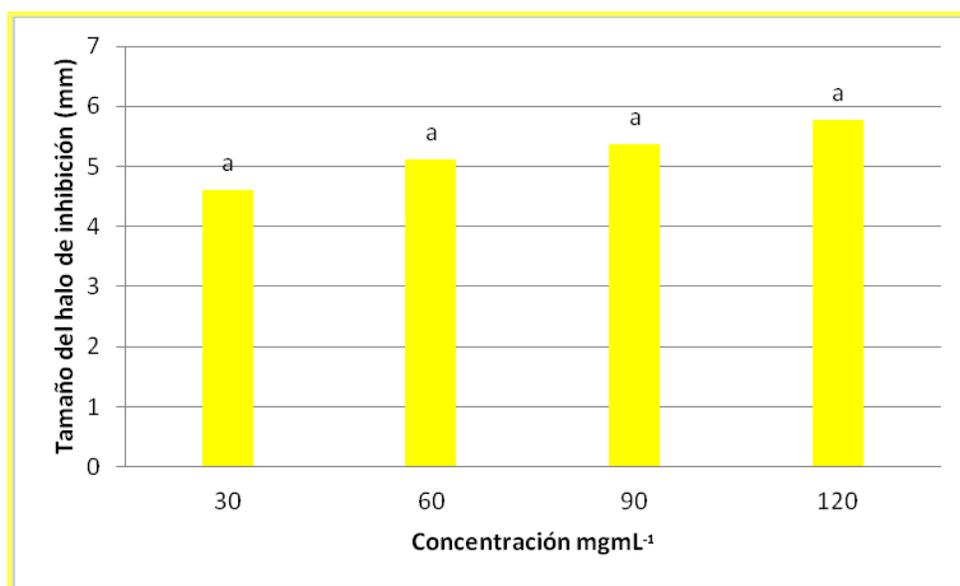


Figura 10. Halos de inhibición del extracto de *Quercus obtusata* frente al cultivo de *Erwinia carotovora*. 90 y 120= concentración en mg mL^{-1} .

La gráfica 5 muestra el tamaño promedio de los halos de inhibición frente al extracto de *Tagetes lucida*, donde se presentó efecto inhibitorio a las cuatro concentraciones probadas registrando halos de 4.62, 5.12, 5.37 y 5.77 mm. para cada una de las concentraciones probadas. El tamaño de los halos de inhibición incrementa conforme se incrementa la concentración (ver figura 11) sin ser estadísticamente diferentes Tukey ($p < 0.05$) (Apéndice 1.4). Para el caso de *Tagetes lucida* la concentración mínima inhibitoria fue de 30 mg mL^{-1} y es la recomendada debido a que registra el mismo efecto inhibitorio que concentraciones más altas.



Gráfica 5. Tamaño promedio de los halos de inhibición para *Erwinia carotovora* con el extracto de *Tagetes lucida* a diferentes concentraciones. a= sin diferencia estadística

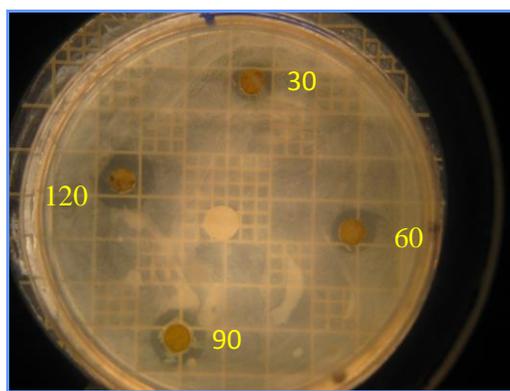
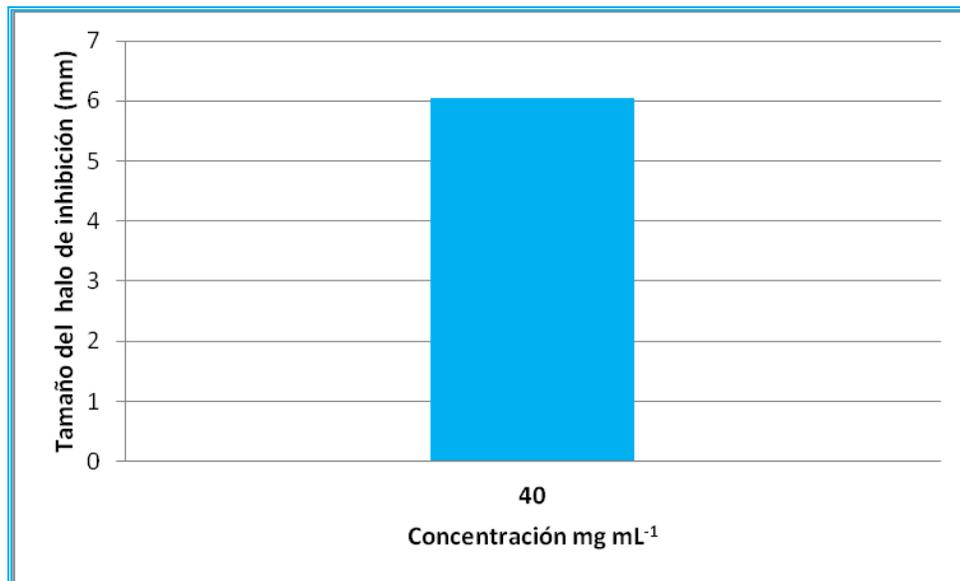


Figura 11. Halo de inhibición del extracto de *Tagetes lucida* frente al cultivo de *Erwinia carotovora*. 30, 60, 90 y 120= concentración mg mL^{-1} .

Efecto de *Erwinia carotovora* frente al bactericida comercial

La gráfica 6 muestra el tamaño promedio del halo de inhibición registrado para *Erwinia carotovora* con el bactericida comercial a la concentración de 40 mg mL^{-1} , siendo el diámetro de 6.06 mm. En la figura 12 está el halo reportado para este tratamiento.



Gráfica 6. Tamaño promedio del halo de inhibición para *Erwinia carotovora* con el bactericida comercial (Fungymicin agrícola).

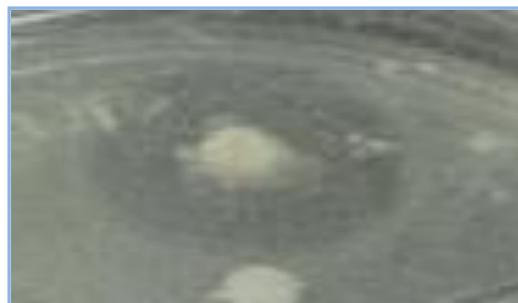
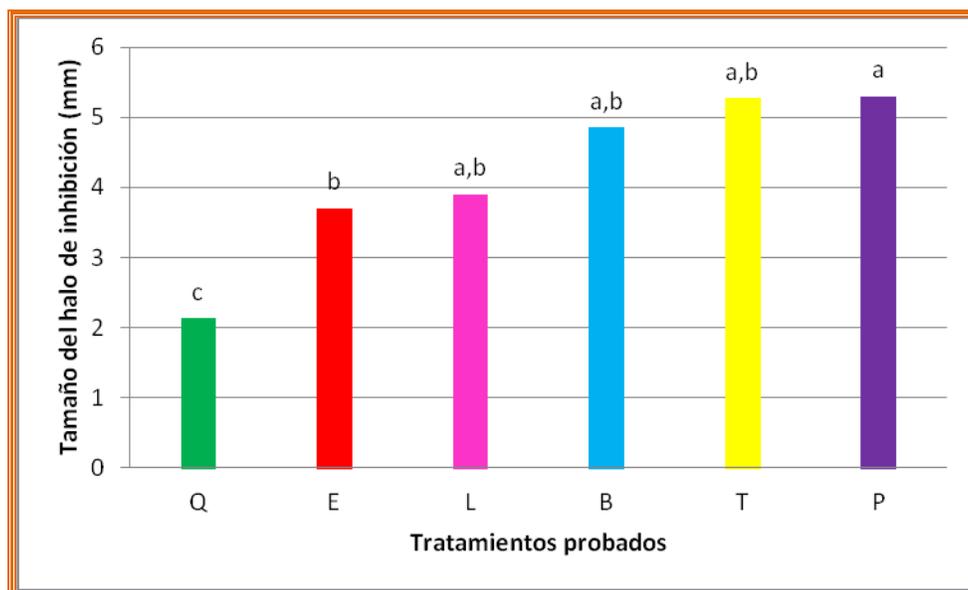


Figura 12. Halo de inhibición de Fungymicin agrícola frente al cultivo de *Erwinia carotovora*

En la gráfica 7 se muestra el tamaño promedio de los halos de inhibición para *Erwinia carotovora* ante los diferentes tratamientos probados, siendo este el microorganismo más sensible con inhibición con todos los tratamientos, en promedio el halo de inhibición de menor tamaño fue el registrado con el extracto de

Quercus obtusata con 2.13 mm., seguida de *Euphorbia hirta* 3.7 mm., *Lantana camara* 3.9 mm, bactericida 4.85, *Tagetes lucida* 5.27 mm, mientras que el más alto fue registrado por *Phytolacca icosandra* de 5.3 mm. Se observa un claro agrupamiento en donde no se presentan diferencias estadísticas Tukey ($p < 0.05$), entre los extractos de *Lantana camara*, *Tagetes lucida*, *Phytolacca icosandra* con el bactericida, mientras que el extracto de *Euphorbia hirta* y *Quercus obtusata* son diferentes estadísticamente Tukey ($p > 0.05$) (Apéndice 1.5).

Esto indica que los extractos vegetales tienen un efecto inhibitorio semejante al del producto comercial, ya que los halos de inhibición son semejantes, excepto el extracto de *Euphorbia hirta* y *Quercus obtusata*, por lo cual serían una alternativa para el control de *Erwinia carotovora*.



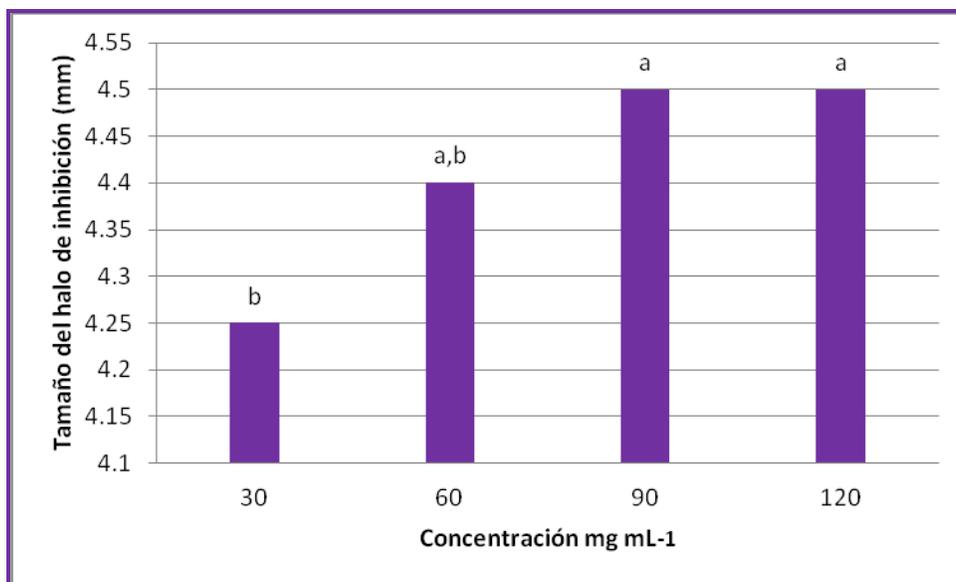
Gráfica 7. Tamaño promedio de los halos de inhibición de *Erwinia carotovora* frente a todos los extractos vegetales probados y al bactericida comercial. E=*Euphorbia hirta*; L=*Lantana camara*; P=*Phytolacca icosandra*; Q=*Quercus obtusata*, T=*Tagetes lucida* y B=Bactericida. a, b, c = diferencia estadística

Efecto de los extractos vegetales sobre *Pseudomona marginalis* (1)

La cepa 1 de este microorganismo fue aislada de una planta de ajo, para esta cepa solo tuvo efecto en tres de los cinco tratamientos probados, estos fueron los extractos de *Phytolacca icosandra*, *Quercus Obtusata* y *Tagetes lucida*, mientras que en *Euphorbia hirta*, *Lantana camara* y el bactericida comercial no presentó efecto inhibitorio.

En la gráfica 8 se observa el tamaño de los halos de inhibición con el extracto de *Phytolacca icosandra* sobre la cepa de *Pseudomona marginalis* (1), donde el tamaño incrementó de acuerdo a la concentración con las siguientes medidas 4.25, 4.4, 4.5 y 4.5 mm, para 30, 60, 90,120 mg mL⁻¹ respectivamente, pero al realizar el análisis estadístico las media de la concentración mínima inhibitoria (30 mg mL⁻¹) es estadísticamente diferente a la de 90 y 120 mg mL⁻¹ Tukey ($p > 0.05$) (Ver Apéndice 1.6). En la figura 13 se aprecian los halos de inhibición.

Por lo tanto la concentración recomendada es 60 mg mL⁻¹, ya que presenta halos semejantes a los de concentraciones mayores.



Gráfica 8. Tamaño promedio de los halos de inhibición para *Pseudomona marginalis* (1) con el extracto de *Phytolacca icosandra* a diferentes concentraciones. a y b= diferentes estadísticamente.

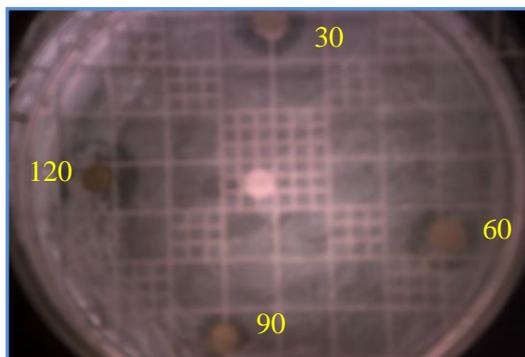
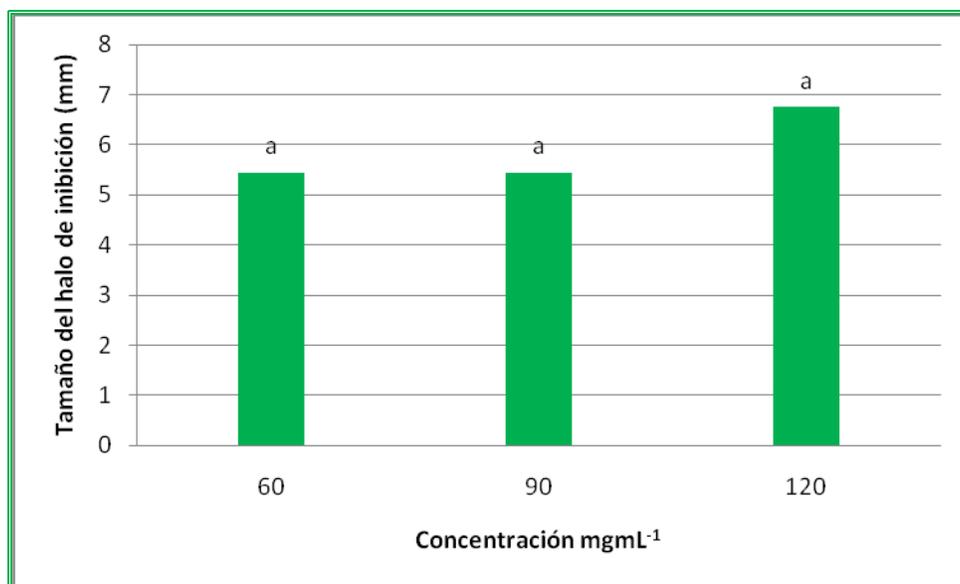


Figura 13. Halos de inhibición del extracto de *Phytolacca icosandra* frente al cultivo de *Pseudomonas marginalis* (1). 30, 60, 90 y 120 = concentración mg mL⁻¹.

El extracto de *Quercus obtusata* presenta inhibición a partir de la concentración de 60 mg mL⁻¹ como muestra la gráfica 9, y se ve un incremento en el tamaño de los halos conforme aumenta la concentración, registrando halos de 5.45 mm. para las concentraciones de 60 y 90 mg mL⁻¹ y de 6.75 mm. para 120 mg mL⁻¹, siendo las tres concentraciones estadísticamente iguales Tukey ($p < 0.05$) (Ver apéndice 1.7), por lo cuál la concentración mínima inhibitoria, es la recomendada ya que es semejante a la de 120 mg mL⁻¹. En la figura 14 se pueden ver los halos de inhibición.



Gráfica 9. Tamaño promedio de los halos de inhibición para *Pseudomonas marginalis* (1) con el extracto de *Quercus obtusata* a diferentes concentraciones. a= iguales estadísticamente

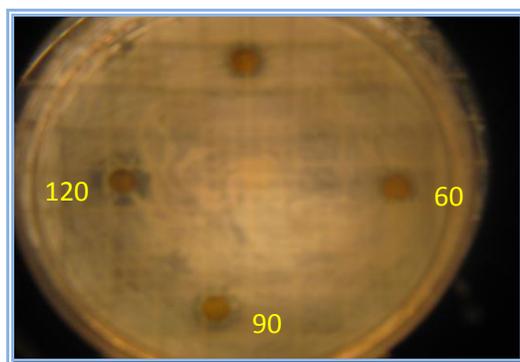
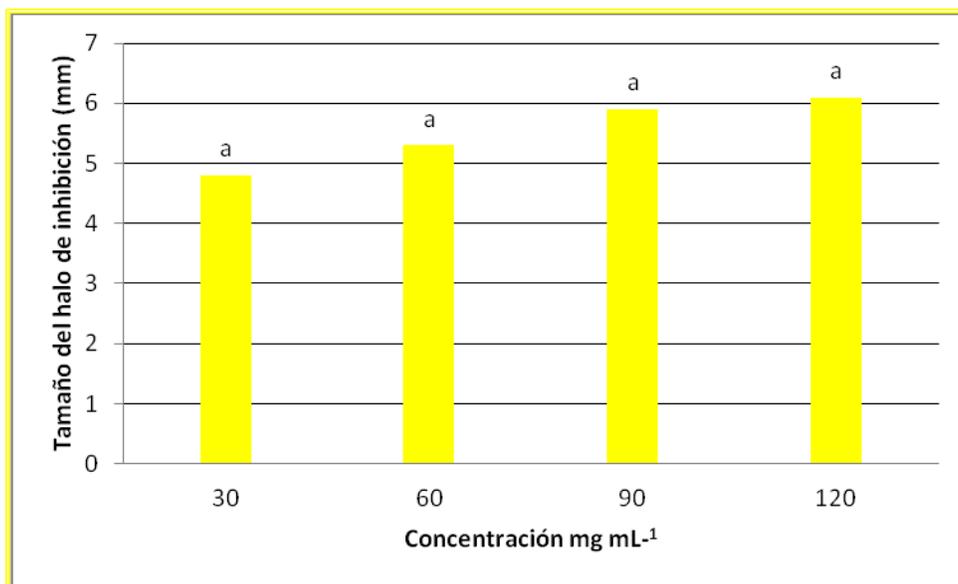


Figura 14. Halos de inhibición del extracto de *Quercus obtusata* frente al cultivo de *Pseudomona marginalis* (1). 30, 60, 90 y 120= concentración mg mL⁻¹.

Para el caso del extracto de *Tagetes lucida*, este presentó efecto en las cuatro concentraciones probadas como se muestra en la gráfica 10, los halos de inhibición registrados fueron de 4.8, 5.3, 5.9 y 6.0 mm., que al comparar las medias fueron semejantes de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$) (Ver apéndice 1.8), por lo tanto un incremento en la concentración no significa incremento en el efecto. La concentración mínima inhibitoria fue de 30 mg mL⁻¹ y en la figura 15 se muestran los halos de inhibición.



Gráfica 10. Tamaño promedio de los halos de inhibición para *Pseudomona marginalis* (1) con el extracto de *Tagetes lucida* a diferentes concentraciones. a= estadísticamente iguales.

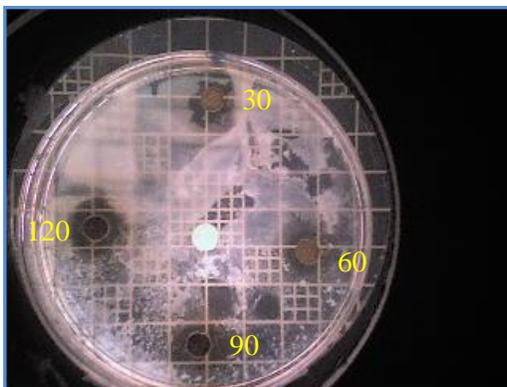
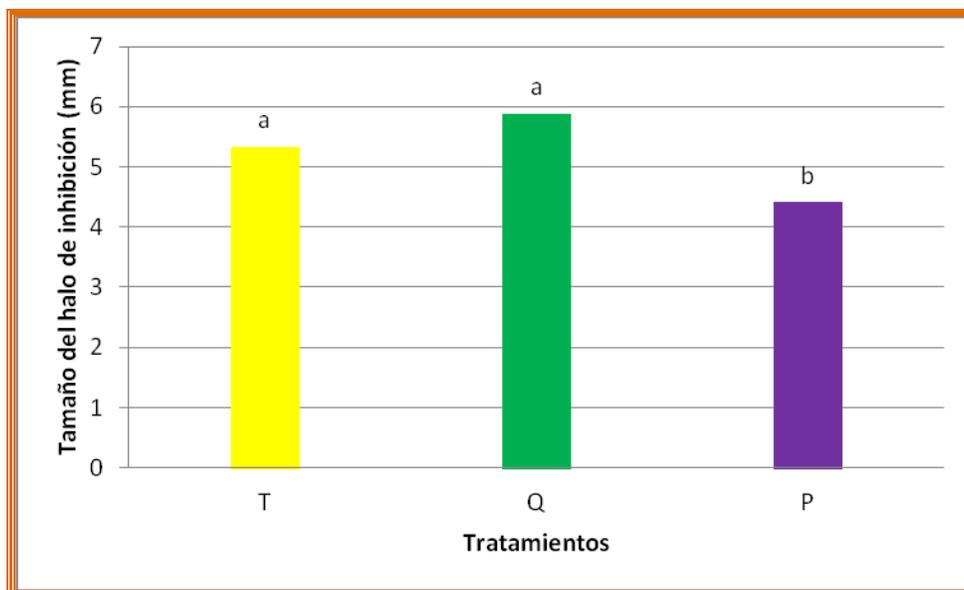


Figura 15. Halos de inhibición del extracto de *Tagetes lucida* sobre el cultivo de *Pseudomonas marginalis* (1). 30, 60, 90 y 120 =concentración mg mL^{-1} .

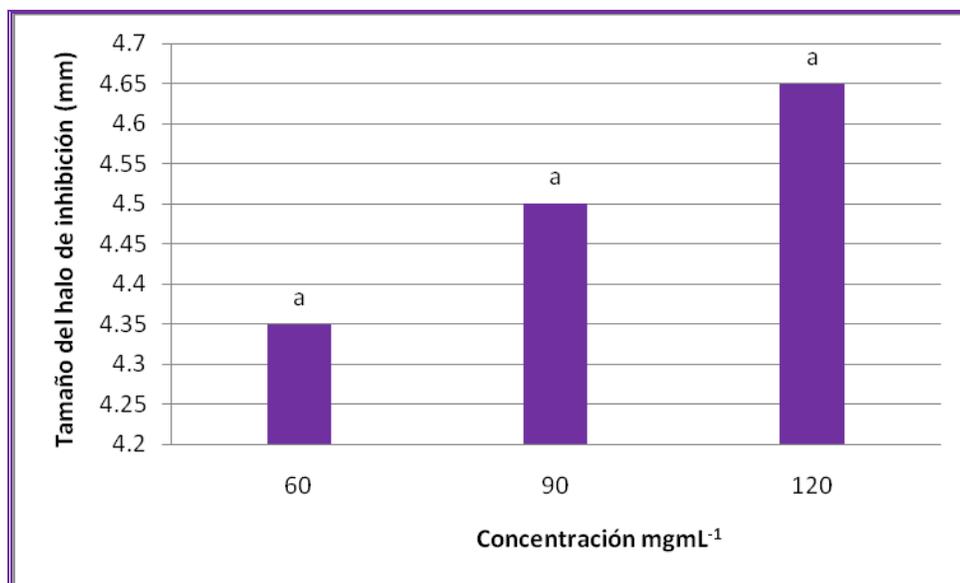
En la gráfica 11, se presentan los halos de inhibición de *Pseudomonas marginalis* (1) ante todos los tratamientos probados, con un mayor efecto con el extracto de *Quercus obtusata* de 5.88 mm, mientras que el menor es para *Phytolacca icosandra* con un diámetro de 4.41 mm., al realizar la comparación con la prueba de Tukey, solo el extracto de *Phytolacca icosandra* fue diferente ($p > 0.05$) (Ver apéndice 1.9), siendo el extracto con un menor efecto inhibitorio para la cepa de *Pseudomonas marginalis* (1).



Gráfica 11. Tamaño promedio de los halos de *Pseudomonas marginalis* (1) ante los extractos vegetales. T:=*Tagetes lucida*, Q= *Quercus obtusata* y P=*Phytolacca icosandra* L.; a y b=diferencia estadística.

Efecto de los extractos vegetales sobre *Pseudomona marginalis* (2)

En la gráfica 12, se observa el tamaño de los halos de inhibición para el extracto de *Phytolacca icosandra* frente *Pseudomona marginalis* (2), el tamaño de los halos es de 4.35, 4.5 y 4.65 mm, para 60, 90 y 120 mg mL⁻¹, respectivamente, el efecto se presenta a partir de la concentración de 60 mg mL⁻¹, siendo esta la concentración mínima inhibitoria, que al comparar las medias de los halos con la prueba de Tukey, no presentaron diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) (Ver apéndice 1.10), por lo tanto el efecto con este extracto es el mismo tanto en bajas como en altas concentraciones, en la figura 16 se observan los halos de inhibición.



Gráfica 12. Tamaño promedio de los halos de inhibición para *Pseudomona marginalis* (2) con el extracto de *Phytolacca icosandra* a diferentes concentraciones. a=iguales estadísticamente

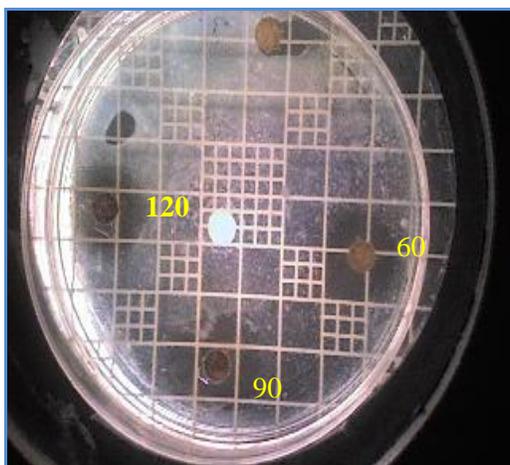
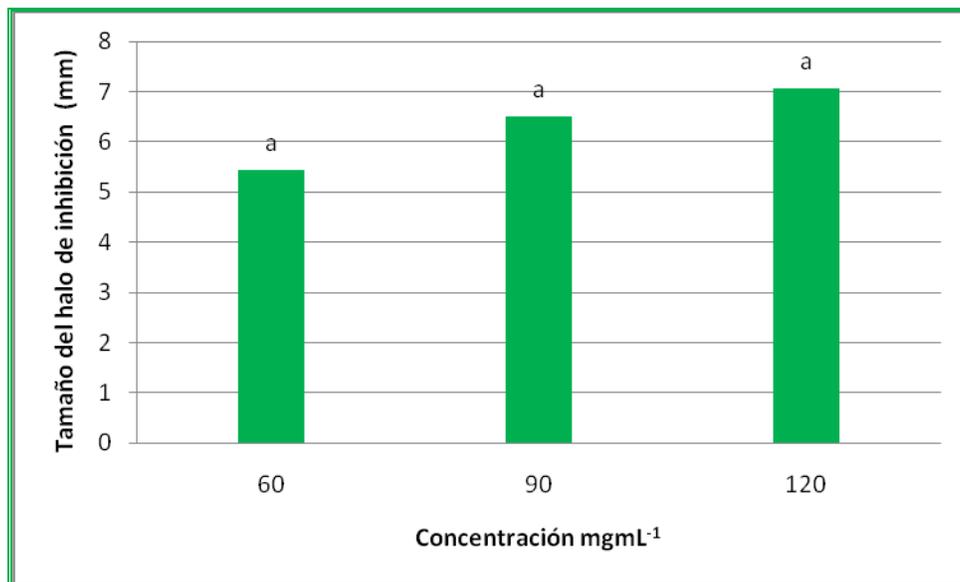


Figura 16. Halo de inhibición del extracto de *Phytolacca icosandra* frente al cultivo de *Pseudomonas marginalis* (2). 60, 90 y 120 = concentración mg mL^{-1} .

En la gráfica 13, se observa el tamaño promedio de los halos de inhibición para el extracto de *Quercus obtusata*, con un incremento en el tamaño de acuerdo a la concentración, las medidas registradas son de 5.45, 6.5 y 7.05 mm a las concentraciones de 60, 90 y 120 mg mL^{-1} respectivamente, siendo estadísticamente iguales Tukey ($p < 0.05$) (Ver apéndice 1.11). Y la concentración mínima inhibitoria es de 60 mg mL^{-1} , que es semejante a la de 120 mg mL^{-1} , por lo cual es recomendable utilizar la concentración mínima inhibitoria. En la figura 17 se observa el aumento en tamaño de acuerdo a la concentración.



Gráfica 13. Tamaño promedio del halo de inhibición para *Pseudomonas marginalis* (2) con el extracto de *Quercus obtusata* a diferentes concentraciones. a= Estadísticamente iguales

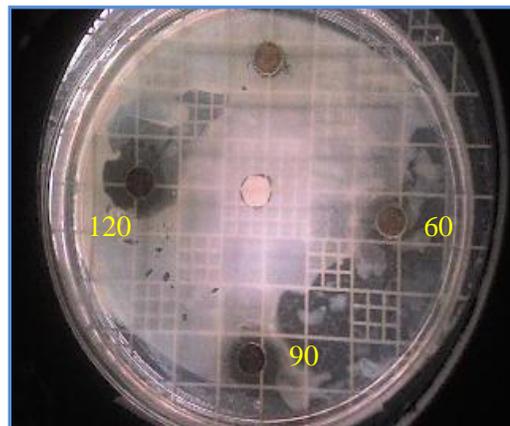
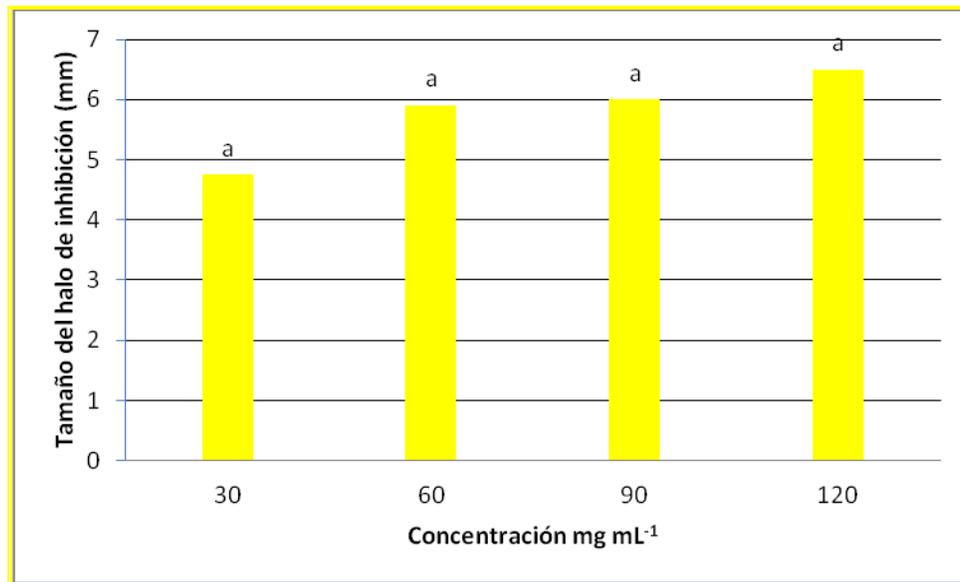


Figura 17. Halos de inhibición del extracto de *Quercus obtusata* frente al cultivo de *Pseudomonas marginalis* (2). 60, 90 y 120= concentración mg mL⁻¹.

En la gráfica 14, se observan el tamaño promedio de los halos obtenidos con el extracto de *Tagetes lucida* quien presentó una concentración mínima inhibitoria de 30 mg mL⁻¹, con halos de 4.75, 5.9, 6.0 y 6.5 mm, que son semejantes estadísticamente al aplicar la prueba de Tukey ($p < 0.05$) (Ver apéndice 1.12), por lo cuál el efecto inhibitorio no incrementa significativamente de acuerdo a la concentración. En la figura 18 se observan los halos de inhibición que incrementan en tamaño, de acuerdo al incremento en la concentración.



Gráfica 14. Tamaño promedio del halo de inhibición para *Pseudomonas marginalis* (2) con el extracto de *Tagetes lucida* a diferentes concentraciones. a=estadísticamente iguales

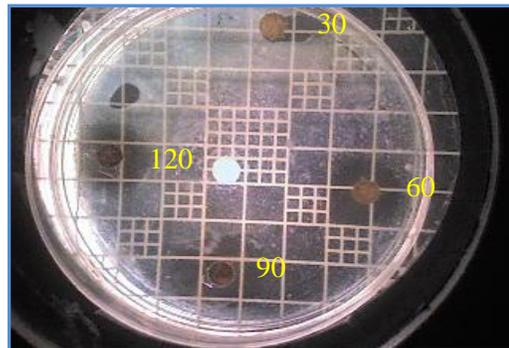
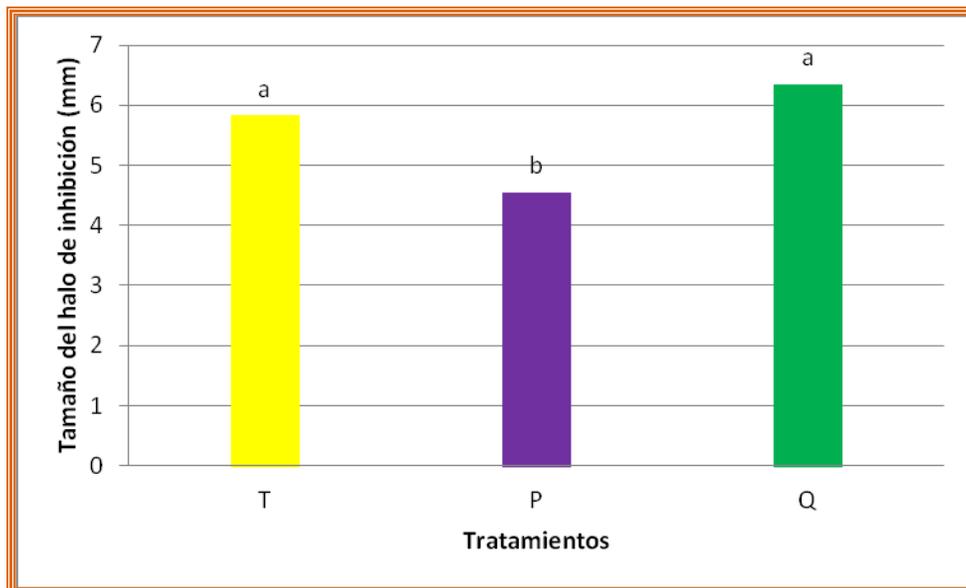


Figura 18. Halos de inhibición del extracto de *Tagetes lucida* sobre el cultivo de *Pseudomonas marginalis* (2). 30, 60, 90 y 120=concentración mg mL⁻¹.

La gráfica 15, permite conocer que el extracto en el que se registran halos de inhibición de mayor tamaño es en el de *Quercus obtusata*, con un promedio de 6.34 mm, mientras que para el caso de *Tagetes lucida*, el tamaño de los halos es de 5.83 mm, lo que los hace estadísticamente iguales ($p < 0.05$) y diferentes estadísticamente al de *Phytolacca icosandra* ($p > 0.05$) con halos de 4.5 mm, al aplicar la prueba de Tukey (Ver apéndice 1.13), mientras que los demás tratamientos probados no presentaron un efecto inhibitorio sobre este microorganismo.

Por lo cual el extracto de *Quercus obtusata* registró los halos de inhibición de mayor tamaño, por lo tanto este extracto al igual que el de *Tagetes lucida* son recomendables para un tratamiento contra *Pseudomona marginalis* (2).



Grafica 15. Tamaño promedio de los halos de inhibición para *Pseudomona marginalis* (2) frente a los extractos vegetales. a y b=estadísticamente diferentes

En el estudio de bacterias fitopatógenas está poco abordado, solo existen algunos trabajos, donde se reporta reducción en el crecimiento para *Erwinia carotovora* y *Xanthomona campestris* en un 90%, al utilizar ruda y albahaca (Grillo, 2001). Mientras que Lira-Saldivar (2003) y Osorio- Hernandez y colaboradores (2003), trabajaron con *Larrea tridentata* reportando una inhibición en el crecimiento de bacterias del género *Erwinia* y *Pseudomona*.

Así como Stauffer (2000), encontró que nueve extractos de 38 probados presentaron efecto inhibitorio ante *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*.

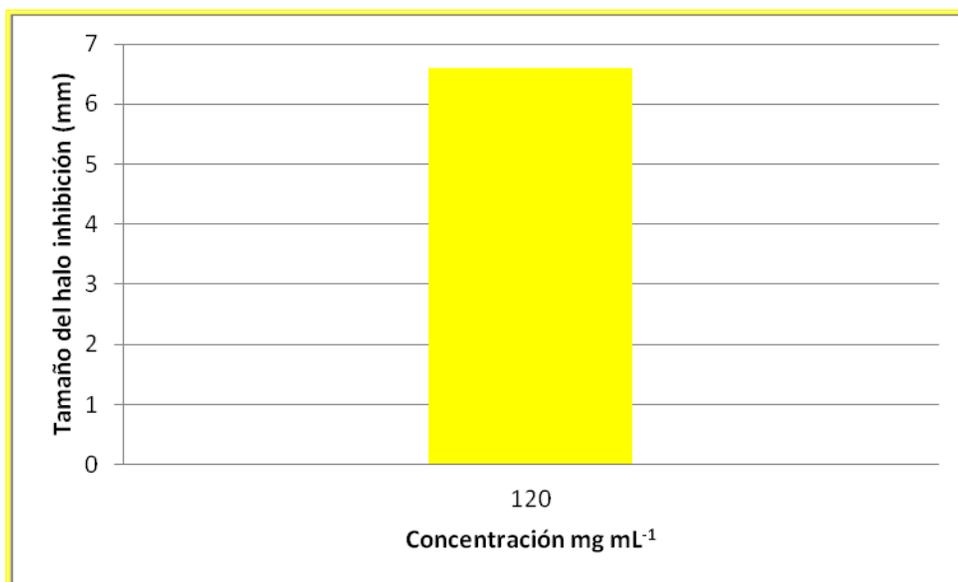
Estos estudios permiten inferir que el control de las bacterias fitopatógenas ya se está realizando con extractos vegetales, por lo que este trabajo incluye a cinco extractos más con efecto inhibitorio sobre dos especies patógenas importantes como: *Erwinia carotovora* y *Pseudomona marginalis*

HONGOS

Para el caso de los hongos sólo se obtuvo respuesta con 2 de los 6 tratamientos probados, que son el extracto de *Tagetes lucida* y el fungicida, esto indica que controlar la infección por hongos fitopatógenos es más complicado, ya que son pocos los extractos y principios activos de las plantas que se han reportado con un efecto antimicótico

Efecto de los extractos vegetales sobre *Penicillium sp.*

Penicillium fue el organismo más resistente, no sólo de los hongos, si no de los 6 microorganismos probados ya que el único tratamiento que tuvo efecto sobre él fue el extracto de *Tagetes lucida*, tal como se muestra en la gráfica 16 con halos de inhibición a partir de la concentración de 120 mg mL^{-1} , registrando medidas de 6.6 mm., por lo tanto esta es la concentración mínima inhibitoria. En la figura 19 se muestra el halo de inhibición reportado.



Gráfica 16. Tamaño de los halos de inhibición de *Penicillium sp.* frente al extracto de *Tagetes lucida*

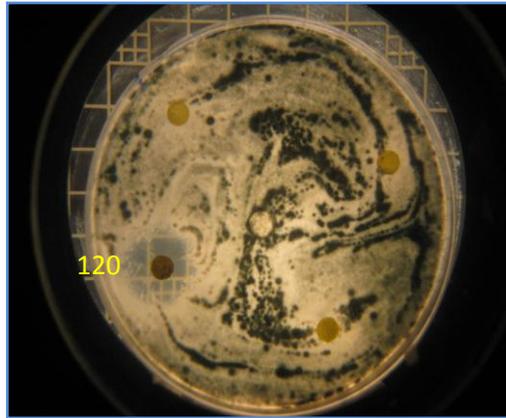
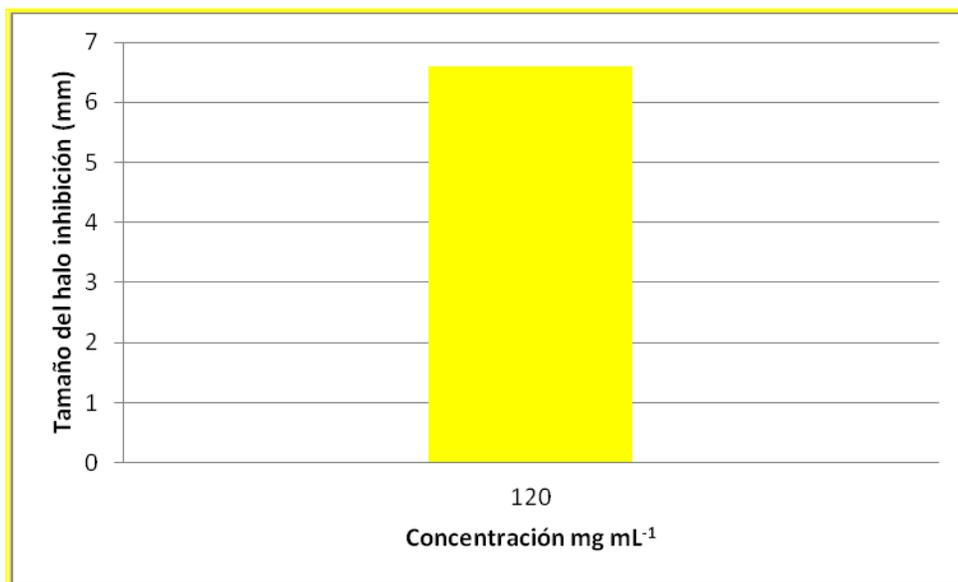


Figura 19. Halo de inhibición del extracto de *Tagetes lucida* frente al cultivo de *Penicillium sp.* 120 = concentración en mg mL^{-1} .

Efecto de los extractos vegetales sobre *Sclerotinia sp.*

El extracto de *Tagetes lucida* presentó un efecto inhibitorio sobre esta cepa a partir de la concentración de 120 mg mL^{-1} , como se muestra en la gráfica 17. Los halos de inhibición fueron de 6.6 mm en promedio, lo que indica un comportamiento similar al encontrado para *Penicillium sp.* En la figura 20 se muestra el halo de inhibición registrado.



Gráfica 17. Tamaño de los halos de inhibición de *Sclerotinia sp.* frente al extracto de *Tagetes lucida*

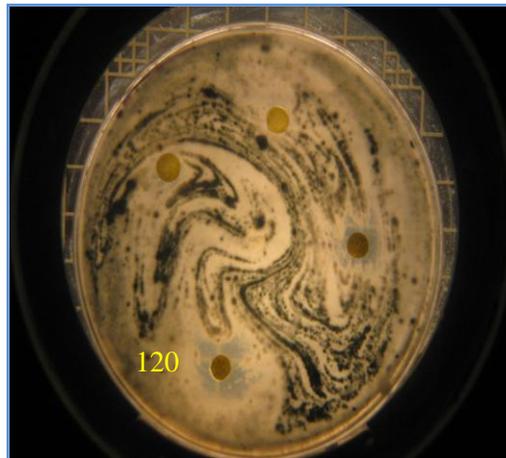
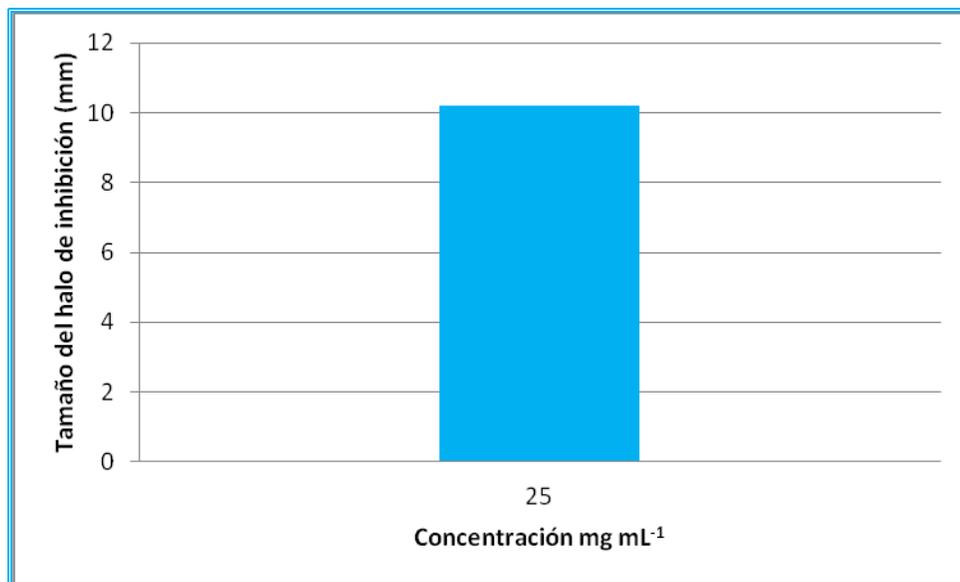


Figura 20. Halo de inhibición del extracto de *Tagetes lucida* frente al cultivo de *Sclerotinia sp.* 120=concentración mg mL⁻¹.

En la gráfica 18, se observa el tamaño de los halos de inhibición registrados con el fungicida comercial a una concentración de 25 mg mL⁻¹, cuyo valor es de 10.2 mm. (Figura 21), registrando halos de inhibición de un tamaño superior que los presentados por el extracto de *Tagetes lucida*.



Gráfica 18. Tamaño promedio de los halos de inhibición de *Sclerotinia sp.* frente al fungicida comercial

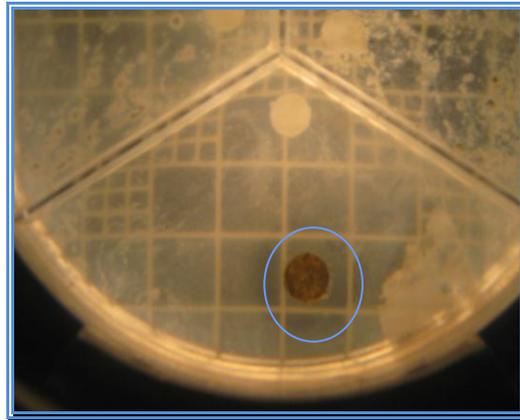
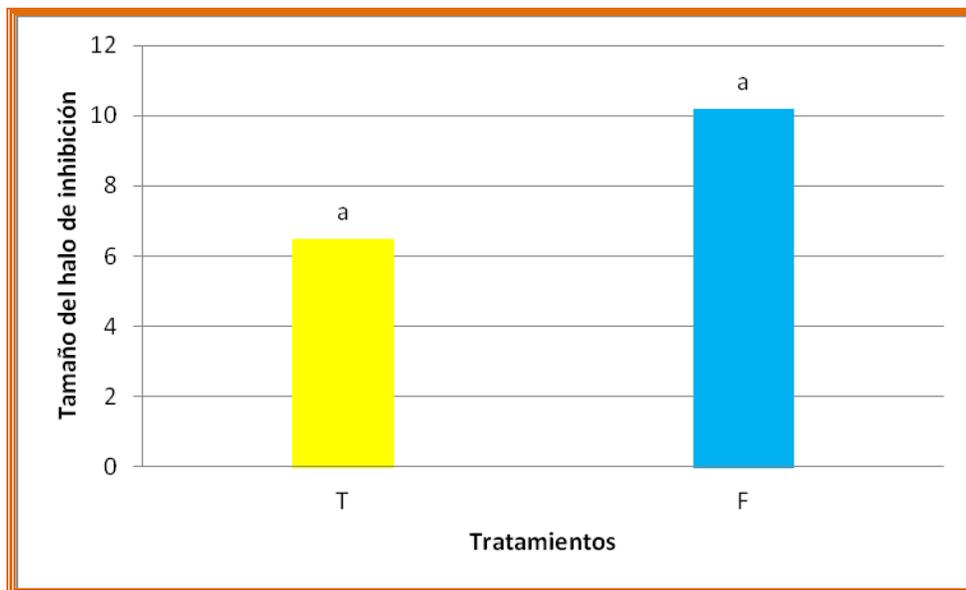


Figura 21. Halo de inhibición del fungicida comercial frente al cultivo de *Sclerotinia sp.*

En la gráfica 19, se observa el tamaño de los halos de inhibición para el fungicida y el extracto de *Tagetes lucida* frente a *Sclerotinia sp.*. El fungicida presenta un halo de inhibición de 10.2 mm., mientras que el extracto es de 6.55 mm, sin embargo al realizar la prueba de Tukey y comparar las medias, no existe diferencia estadística entre estos tratamientos (Apéndice 1.14).

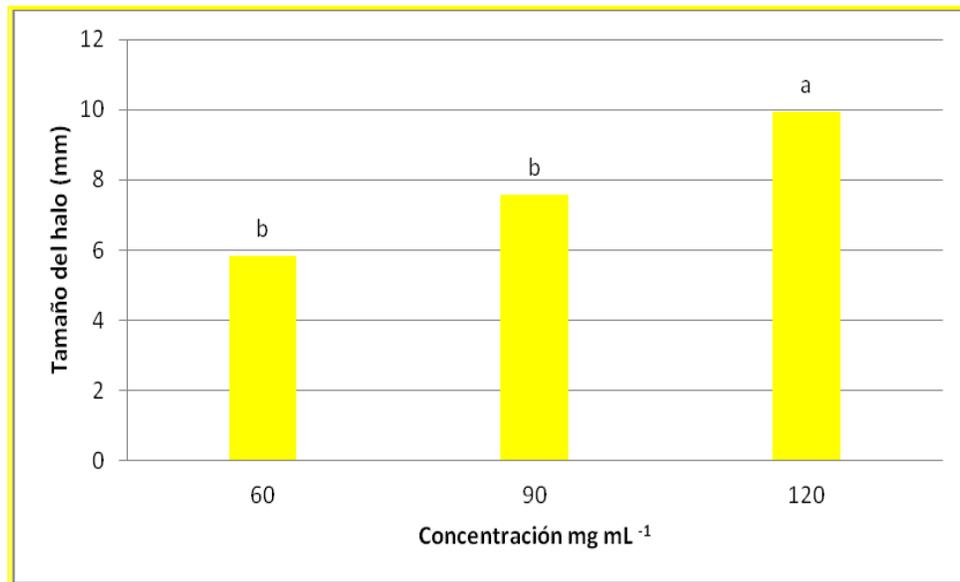
Este resultado indica que *Tagetes lucida* ejerce un efecto inhibitorio sobre *Sclerotinia sp.* cercano al de un producto comercial y se puede considerar una alternativa para el control de *Sclerotinia sp.* con la ventaja de ser un producto de origen vegetal.



Grafica 19. Tamaño de los halos de inhibición de *Sclerotinia sp.* frente a los tratamientos probados. F=Fungicida, T= *Tagetes lucida*. a= estadísticamente iguales.

Efecto de los extractos vegetales sobre *Sclerotium cepivorum*

En la gráfica 20 se observa el tamaño de los halos de inhibición para el extracto de *Tagetes lucida*, con valores de 5.83 mm. para 60 mg mL^{-1} y de 7.57 y 9.95 mm. para las concentraciones de 90 y 120 mg mL^{-1} , con una concentración mínima inhibitoria de 60 mg mL^{-1} , siendo estadísticamente diferente con la concentración de 120 mg mL^{-1} Tukey ($p > 0.05$) (Ver apéndice 1.15), en la figura 22 se observan los halos de inhibición en las diferentes concentraciones.



Gráfica 20. Tamaño de los halos de inhibición de *Sclerotium cepivorum* frente al extracto de *Tagetes lucida* a diferentes concentraciones. a y b= estadísticamente

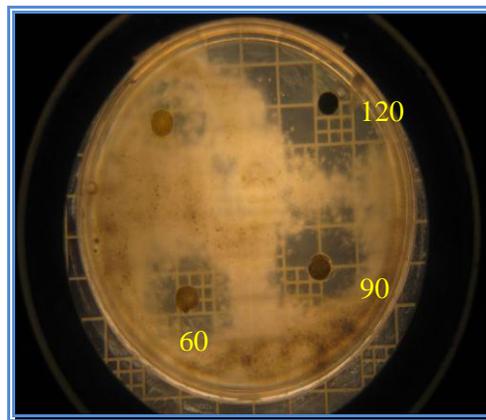
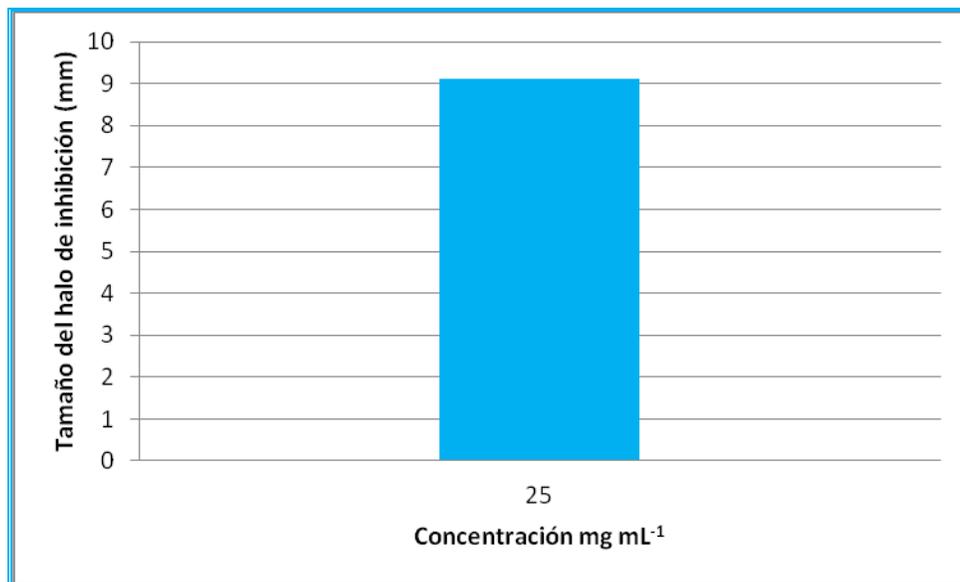


Figura 22. Halos de inhibición del extracto de *Tagetes lucida* frente al cultivo de *Sclerotium cepivorum*. 30, 60, 90 y 120 = concentración mg mL⁻¹.

El fungicida comercial presenta un efecto inhibitorio sobre *Sclerotium cepivorum*, con halos de inhibición de 9.1 mm., como muestra la gráfica 21. El tamaño de este halo es el más grande reportado para este microorganismo y en la figura 23 se observa el halo para este patógeno.



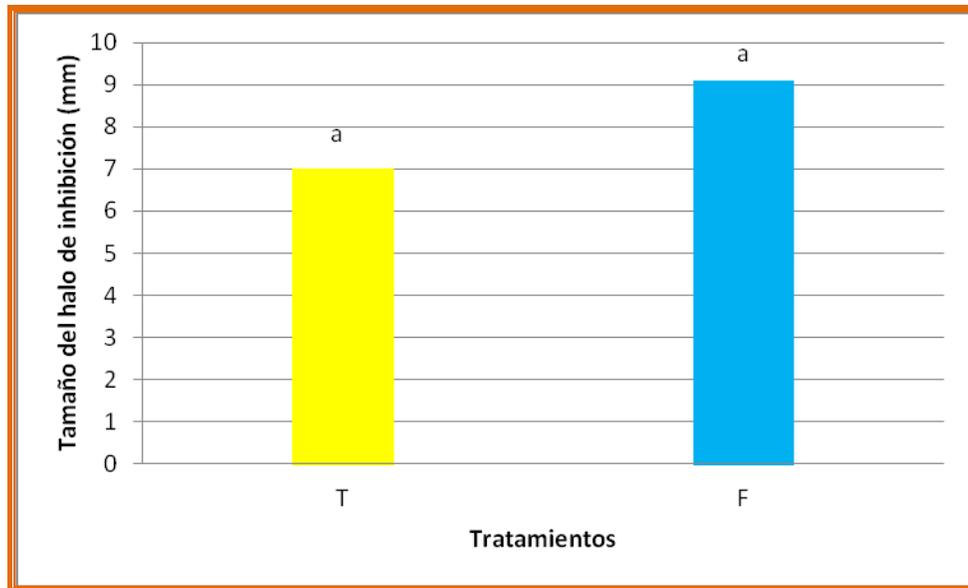
Gráfica 21. Tamaño de los halos de inhibición de *Sclerotium cepivorum* frente al fungicida comercial



Fig. 23. Halo de inhibición del fungicida frente al cultivo de *Sclerotium cepivorum*

En la gráfica 22 se observa el tamaño de los halos de inhibición para el extracto de *Tagetes lucida* y del fungicida comercial. El fungicida presenta un halo de 9.1 mm., mientras que el del extracto es de 7.008 mm., siendo semejantes al realizar la prueba de Tukey ($p < 0.05$) (Apéndice 1.16).

Este dato es importante por que demuestra que el extracto de *Tagetes lucida* presenta un efecto cercano al de un producto comercial, y se puede considerar como una alternativa para el control de *Sclerotium cepivorum*.



Gráfica 22. Tamaño de los halos de inhibición de *Sclerotium cepivorum* frente a los tratamientos probados. a = sin diferencia estadística

Los estudios de hongos fitopatógenos se han centrado en géneros como *Rhizoctonia* y *Phytium*, pero existen estudios con otros microorganismos, como el realizado por Bautista en 2003, que evaluó el efecto inhibitorio del chile frente a *Penicillium expansum*, este efecto inhibitorio se presentó en *Penicillium sp.* con el extracto de *Allium Sativum* (Stauffer, 2000), mientras que Bernal y col. (2003), describieron el efecto inhibitorio de *Lupinus* frente a *Sclerotium rolfsii*, hongo que también es inhibido por el cardón lefaria (Renzo, 2001). Estudió que también evaluó a *Penicillium sp.* sin registrar efecto inhibitorio.

Mientras que Bernal *et al.* 2003 registraron una disminución en el crecimiento del micelio de *Sclerotium rolfsii*, *Alternaria solani*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium* al usar el extracto de *Lupinus sp.*

Los resultados obtenidos demuestran que el control de hongos fitopatógenos es difícil, por ello este trabajo contribuye al demostrar que *Tagetes lucida* inhibe a los tres hongos probados.

Número de microorganismos inhibidos para cada uno de los extractos vegetales

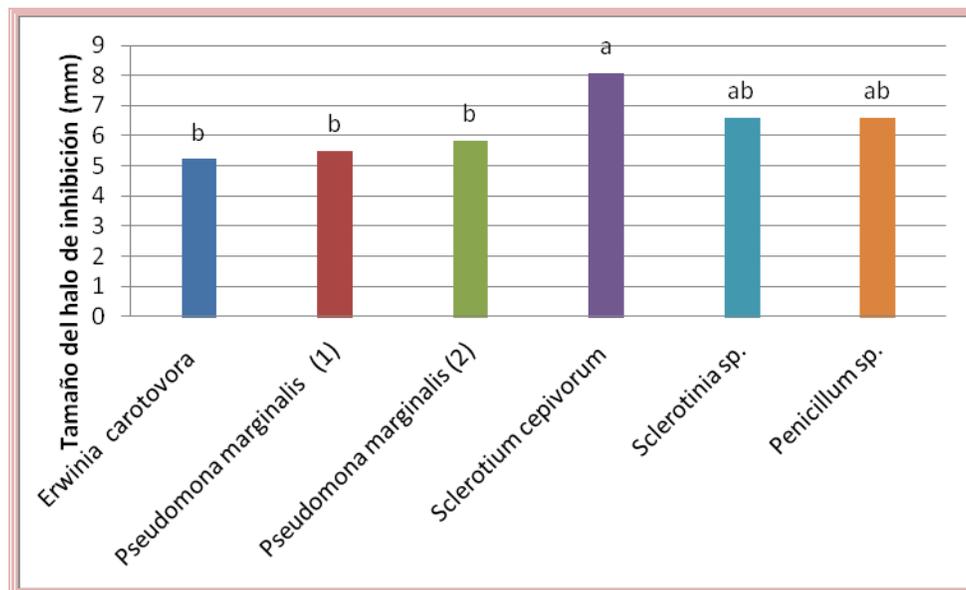
En el siguiente apartado se muestra el efecto de cada uno de los extractos frente a todos los microorganismos probados en los que se encuentra un efecto inhibitorio, no se presentan gráficas para el caso del extracto de *Lantana camara*, *Euphorbia hirta*, el bactericida y fungicida comercial ya que solo tuvieron efecto sobre una sola de las cepas.

Tagetes lucida

En la gráfica 23 se observa el tamaño promedio de los halos de inhibición, registrando las siguientes medidas 5.22 para *Erwinia carotovora*, 5.5 para *Pseudomona marginalis* (1), 5.83 para *Pseudomona marginalis* (2), 8.08 para *Sclerotium cepivorum* y 6.6 mm para *Sclerotinia sp.* y *Penicillium sp.*, el organismo en el que se presentan halos de inhibición de mayor tamaño fue en *Sclerotium cepivorum*.

Se observa la formación de dos grupos de acuerdo a la diferencia encontrada al aplicar la prueba de Tukey, por un lado el de las bacterias y otro el de hongos, encontrando que todas las bacterias tienen una respuesta similar ($p < 0.05$), (Apéndice 1.17), mientras que los hongos son semejantes estadísticamente ($p < 0.05$), y solo se ve una diferencia estadística significativa entre *Sclerotium cepivorum* con las tres bacterias probadas ($p > 0.05$), siendo el organismo en el que el efecto inhibitorio es mayor.

Con estos resultados se puede establecer que el extracto de *Tagetes lucida* presenta un mejor efecto inhibitorio para hongos, aunque cabe mencionar que las concentraciones para poder inhibir a los hongos son más altas.



Gráfica 23. Tamaño promedio de los halos de inhibición registrados para los microorganismos probados con el extracto de *Tagetes lucida*. a y b= diferencia estadística

Este efecto inhibitorio de *Tagetes lucida* observado en este trabajo también lo muestra Ortiz en 2009, con 10 cepas de fitopatógenos, lo que permite decir que el extracto de *Tagetes lucida* tiene efecto inhibitorio en más microorganismos.

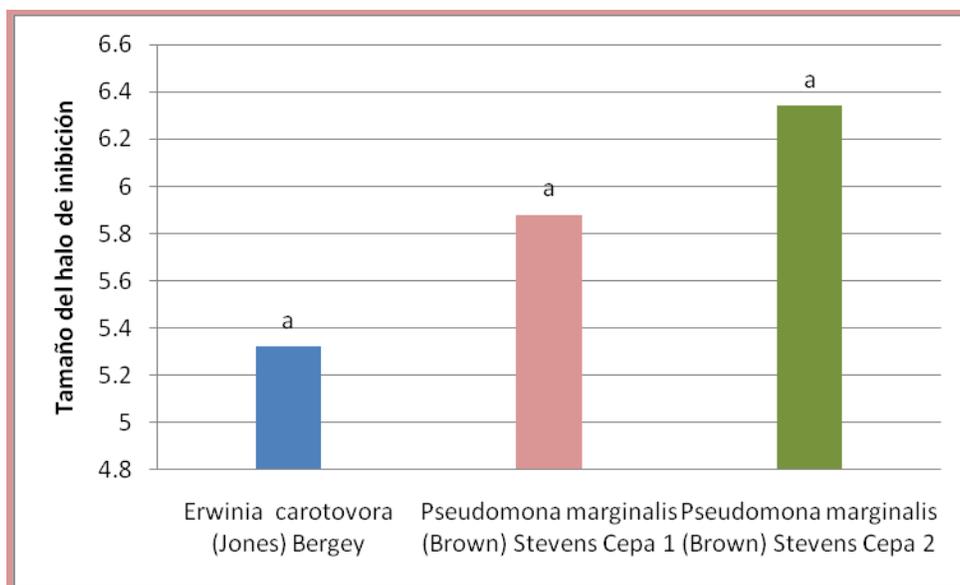
Estudios con extractos vegetales y fitopatógenos son pocos, pero se reportan con mayor frecuencia estudios para patógenos del hombre. Cáceres y colaboradores (1991), encontraron que *Tagetes lucida* presenta efecto inhibitorio frente al género *Staphylococcus*. Camacho (2004), evaluó diferentes plantas para determinar su efecto inhibitorio en enfermedades de la cavidad bucal, encontrando que *Tagetes lucida* tiene efecto antimicrobiano. En el 2006 Céspedes y col. determinaron eficiencia en el control de enfermedades gastrointestinales causadas por bacterias al usar el *Tagetes lucida*, además de encontrar un efecto antifúngico.

Otra propiedad encontrada para *Tagetes lucida* la reporta Aquino en el 2002 es un efecto antioxidante de manera general. Lo anterior permite decir que *Tagetes lucida* es efectivo en patógenos del hombre así como en hongos y bacterias fitopatógenos.

Quercus obtusata

En la gráfica 24 se observa el tamaño promedio de los halos de inhibición para los microorganismos probados con el extracto de *Quercus obtusata*, son de 5.32 para *Erwinia carotovora*, 5.88 para *Pseudomonas marginalis* (1) y 6.34 mm. para *Pseudomonas marginalis* (2) sin presentar diferencia estadística significativa Tukey ($p < 0.05$) (Apéndice 1.18), por lo cual este extracto puede considerarse como una alternativa para el control de bacterias, ya que se registro un efecto similar en las tres cepas probadas.

Este extracto solo presenta actividad sobre bacterias, ya que en los hongos no se reporta efecto a ninguna de las concentraciones.



Gráfica 24. Tamaño promedio de los halos de inhibición registrados para los microorganismos probados con el extracto de *Quercus obtusata*

El efecto de *Quercus obtusata* se evaluó anteriormente por Zambrano (2008), en el que encontró un efecto antibacteriano únicamente para microorganismos patógenos del hombre, coincidiendo con lo encontrado en este trabajo.

El estudio sobre las especies de *Quercus* ha sido amplio, se tienen reportes de algunas especies diferentes a la trabajada, tales como son *Quercus rugosa*, *Quercus glabrescens* y *Quercus crassipes* ante bacterias causantes de enfermedades de la cavidad bucal (Camacho 2004). En 2009 Hernández evaluó el efecto inhibitorio de *Quercus crassipes* en ocho cepas patógenas del hombre encontrando respuesta inhibitoria

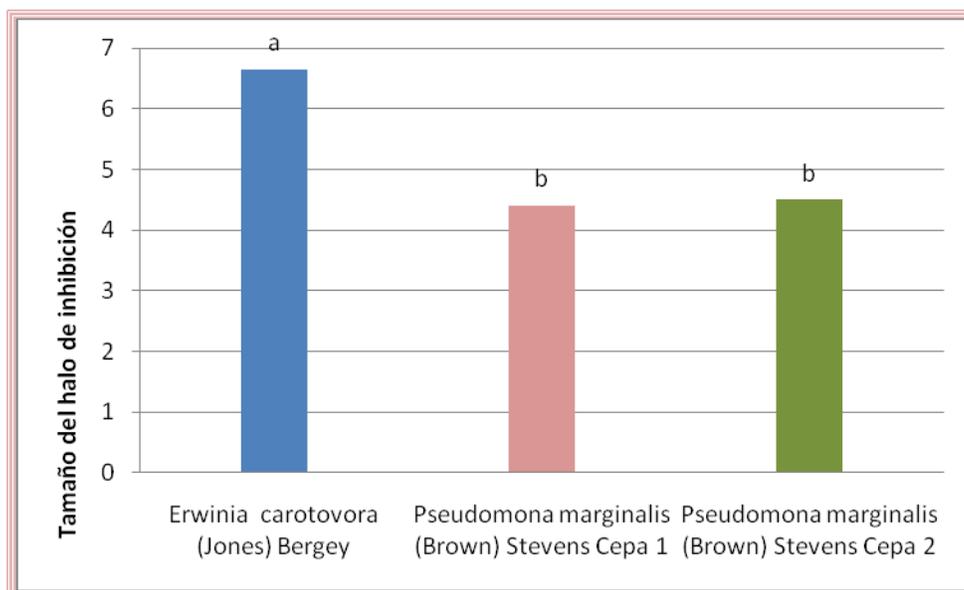
en todas, mientras que en 2010 Cruz, evaluó el efecto en 13 patógenos del hombre y en 8 fitopatógenos frente al extracto de *Quercus rugosa* obteniendo que existía un efecto inhibitorio en todas las cepas probadas. No se tienen reportes sobre microorganismo fitopatógenos para *Quercus obtusata*, y en este trabajo se demostró que si presenta un efecto inhibitorio en las cepas bacterianas probadas.

Phytolacca icosandra

En la gráfica 25, se observa el tamaño promedio de los halos de inhibición reportados para el extracto de *Phytolacca icosandra* desarrollando halos de 6.64mm. para *Erwinia carotovora*, 4.41 mm. para *Pseudomonas marginalis* (1) y de 4.5 mm. para *Pseudomonas marginalis* (2) sin presentar efecto frente a los hongos.

Se puede ver un comportamiento similar ($p < 0.05$) en las dos cepas de *Pseudomonas marginalis*, siendo diferentes estadísticamente con *Erwinia carotovora* ($p > 0.05$) al aplicar la prueba de Tukey (Apéndice 1.19), quién fue el organismo más sensible ante este extracto.

El extracto de *Phytolacca icosandra* registra halos de mayor tamaño frente a *Erwinia carotovora*, por lo tanto puede considerarse como una alternativa para el control de este fitopatógeno.



Gráfica 25. Tamaño promedio de los halos de inhibición registrados para los microorganismos probados con el extracto de *Phytolacca icosandra*

Gamiño (2009), evaluó el efecto de *Phytolacca icosandra* sobre patógenos del hombre, encontrando un efecto inhibitorio en 8 bacterias. Treyvaud y col. (2000), demostraron que *Phytolacca icosandra* es útil para tratar enfermedades del corazón, por lo tanto este extracto registra efecto en algunas enfermedades del hombre así como en algunas enfermedades de las plantas.

Efecto de las mezclas de extractos vegetales frente a microorganismos fitopatógenos

Además de las pruebas en las concentraciones mencionadas anteriormente, se realizaron treinta y ocho mezclas a partir de la concentración mínima inhibitoria obtenida para cada extracto, para el caso de las bacterias, mientras que para los hongos solo se seleccionaron tres mezclas de acuerdo a los resultados que se obtuvieron a partir de las bacterias, seleccionando las que tuvieron un efecto mayor en las tres cepas probadas, estas mezclas se realizaron con el fin de evaluar si el efecto inhibitorio se potencializa al estar unidos los extractos. En el cuadro 5 se reportan todas las combinaciones realizadas.

Cuadro 5. Mezclas realizadas a partir de la concentración mínima de cada uno de los extractos

Número de mezcla	Extracto y concentración 1 mgmL-1	Extracto y concentración 2 en mgmL-1	Número de mezcla	Extracto y concentración 1 en mgmL-1	Extracto y concentración 2 en mgmL-1
1	Tagetes 30	Lantana 250	20	Quercus 250	Euphorbia 120
2	Tagetes 60	Lantana 250	21	Quercus 60	Phytolacca 30
3	Tagetes90	Lantana 250	22	Quercus90	Phytolacca 60
4	Tagetes120	Lantana 250	23	Quercus 120	Phytolacca 90
5	Tagetes 30	Phytolacca 30	24	Quercus 250	Phytolacca 120
6	Tagetes 60	Phytolacca 60	25	Quercus 60	Lantana 250
7	Tagetes 90	Phytolacca 90	26	Quercus90	Lantana 250
8	Tagetes 120	Phytolacca 120	27	Quercus 120	Lantana 250
9	Tagetes 30	Euphorbia 30	28	Quercus 250	Lantana 250
10	Tagetes 60	Euphorbia 60	29	Phytolacca 60	Euphorbia 60
11	Tagetes90	Euphorbia 90	30	Phytolacca 90	Euphorbia 90
12**	Tagetes 120	Euphorbia 120	31	Phytolacca 60	Lantana 250
13	Tagetes 30	Quercus 60	32	Phytolacca 90	Lantana 250
14	Tagetes 60	Quercus 90	33	Euphorbia 60	Lantana 250
15**	Tagetes 90	Quercus 120	34	T30, E30, P30	Q60 y L250
16	Tagetes 120	Quercus 250	35	Euphorbia 60	Lantana250
17	Quercus 60	Euphorbia 30	36	T 60, Q90, P 90	y E60, L250
18	Quercus90	Euphorbia60	37	Q120, T90,P90	y L250, E 90
19 **	Quercus120	Euphorbia 90	38	T 15, P15,E15	L 125,Q30

** Mezclas elegidas para el caso de los hongos y para las poblaciones totales de bacterias y hongos

Mezclas de extractos vegetales para *Erwinia carotovora*

Para el caso de estas mezclas frente a *Erwinia carotovora*, 35 de las 38 mezclas probadas tuvieron efecto inhibitorio, en la gráfica 26 se muestra el tamaño promedio de los halos de inhibición, donde se puede observar claramente 7 grupos de acuerdo a las diferencias entre las medias al aplicar la prueba de Tukey, registrando medidas desde 3.68 hasta 6.95 mm. para la mezcla de *Lantana camara* con *Quercus obtusata*

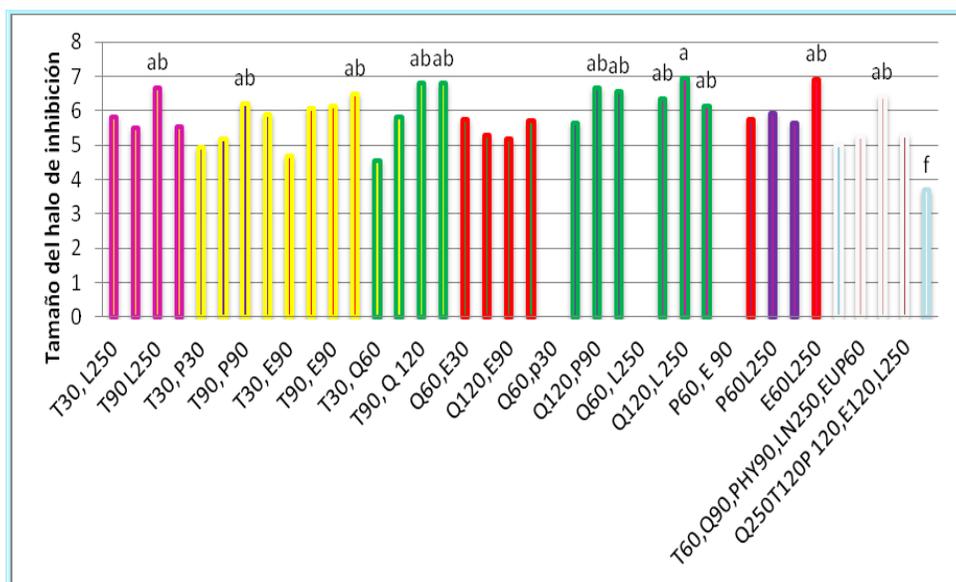
(250 y 120 mg mL⁻¹), que presenta un efecto semejante estadísticamente ($p < 0.05$) que las mezclas de *Tagetes lucida* con *Lantana camara* (90 y 250 mg mL⁻¹), *Tagetes lucida* con *Phytolacca icosandra* (90 y 90 mg mL⁻¹), *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta* (120 y 120 mg mL⁻¹), *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata* (90 y 120 mg mL⁻¹), *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata* (120 y 250 mg mL⁻¹), *Quercus obtusata* con *Phytolacca icosandra* (120 y 90 mg mL⁻¹) y *Euphorbia hirta* con *Lantana camara* (60 y 250 mg mL⁻¹), observando una diferencia estadística ($p > 0.05$), entre estas mezclas con la mezcla de todos los extractos a la concentración mínima inhibitoria, (Apéndice 2.1), esto permite decir que no es conveniente mezclar varios extractos, ya que no en todos los casos se potencializa su efecto.

Para el caso de *Phytolacca icosandra* se observa que no se potencializa el efecto ya que al estar solo este extracto registra halos de mayor tamaño, mientras que para *Quercus obtusata* y *Tagetes lucida* el efecto es similar de manera individual que al estar mezclados, para *Euphorbia hirta* y *Lantana camara* se ven beneficiadas al estar mezcladas con otras plantas, ya que reportan halos de mayor tamaño al estar unidas con otro extracto que los extractos de forma individual.

Además se observa que el tamaño de los halos de inhibición no va en aumento de acuerdo al incremento de la concentración, como en *Tagetes lucida* con *Lantana camara* y en *Phytolacca icosandra* con *Tagetes lucida*, donde primero se incrementa hasta llegar a un máximo y conforme se aumenta la concentración por arriba de este máximo decrece el tamaño de los halos.

De manera general la combinación que registro los halos de mayor tamaño fue para *Euphorbia hirta* con *Quercus obtusata* a las diferentes concentraciones evaluadas.

En la figura 24 se observan los halos de inhibición de *Erwinia carotovora* frente a algunas mezclas.



Grafica 26. Tamaño promedio de los halos de inhibición de *Erwinia carotovora* frente a las mezclas probadas. T=*Tagetes lucida*, L=*Lantana camara*, P=*Phytolacca icosandra*, Q=*Quercus obtusta*, E=*Euphorbia hirta*; 30, 60, 90, 12, 250 las concentraciones empleadas en mg mL^{-1} . a, b y f= diferentes estadísticamente

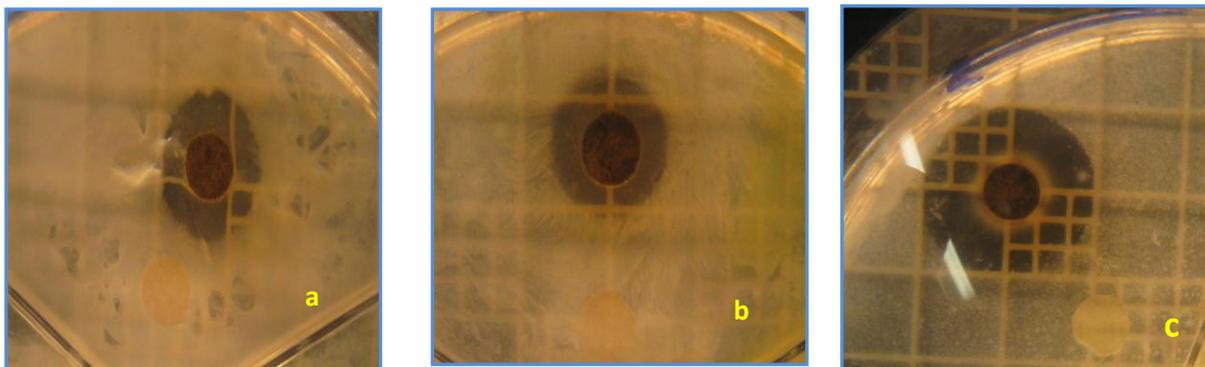


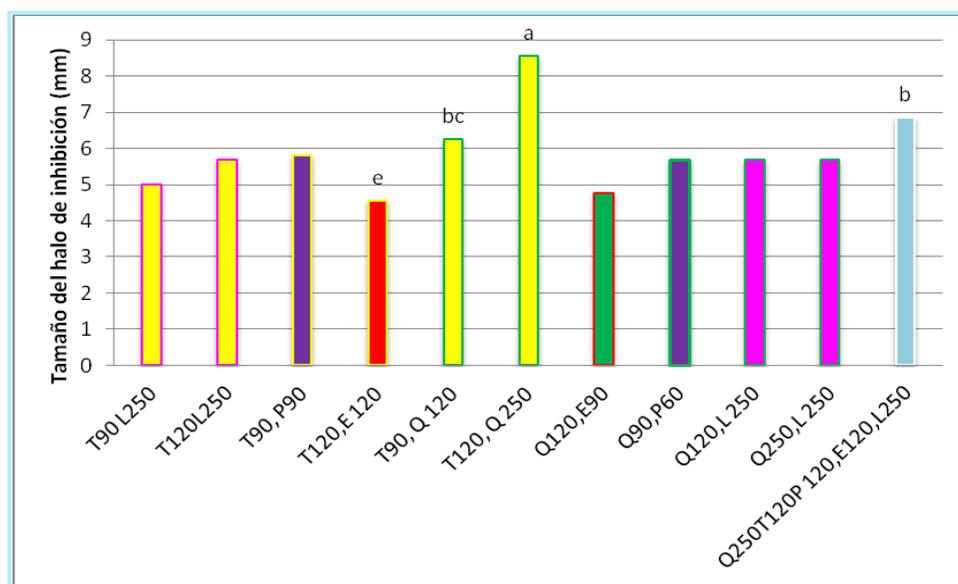
Figura 24. Halos de inhibición para *Erwinia carotovora* frente a diferentes mezclas: a) *Quercus obtusata* con *Tagetes lucida* (120 y 90 mg mL^{-1}), b) efecto de *Euphorbia hirta* con *Tagetes lucida* a (120 y 90 mg mL^{-1}) y c) efecto de *Lantana camara* con *Quercus obtusata* (250 y 120 mg mL^{-1}).

El halo de mayor tamaño fue con el tratamiento con *Phytolacca icosandra* a la concentración de 120 mg mL^{-1} , por arriba de los valores reportados para las mezclas, lo que indica que combinar los extractos no es una alternativa, ya que se necesita de una cantidad mayor de extracto para poder obtener los mismos efectos que se obtienen con algunas plantas de manera individual.

Mezclas para *Pseudomona marginalis* (1)

En la gráfica 27 se observa el tamaño promedio de los halos de inhibición para *Pseudomona marginalis* (1) con todas las mezclas probadas, de las 38 solo 11 mezclas tuvieron efecto inhibitorio, el halo de inhibición de menor tamaño fue de 4.55 mm para *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta* (120 y 120 mg mL⁻¹), mientras que el de mayor tamaño fue de 8.55 mm. en *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata* (120 y 120 mg mL⁻¹), se presenta una diferencia estadística importante entre la mezcla con el halo de menor y la de mayor tamaño al aplicar la prueba de Tukey ($p > 0.05$), lo que indica que aunque exista efecto inhibitorio en ambas, es recomendable utilizar la mezcla de *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata*, ya que es diferente a todas las demás, (Ver apéndice 2.2) en las figuras 25 se observan los halos de inhibición reportados para algunas mezclas.

Para el caso de este microorganismo el extracto de *Tagetes lucida* potencializa su efecto al estar mezclado con *Quercus obtusata*, mientras que al estar mezclado con *Phytolacca icosandra*, *Lantana camara* y *Euphorbia hirta* el efecto que predomina es el de *Tagetes lucida*, ya que los halos reportados son de un tamaño similar a los de *Tagetes lucida* de manera individual.



Gráfica 27. Tamaño promedio de los halos de inhibición de *Pseudomona marginalis* (1) ante todas las mezclas probadas. T:=*Tagetes lucida*, L=*Lantana camara*, P=*Phytolacca icosandra*, Q=*Quercus obtusata* y E: *Euphorbia hirta* L.; 30, 60,90, 12, 250 concentraciones empleadas en mg mL⁻¹. a, b y e = presentan diferencia estadística

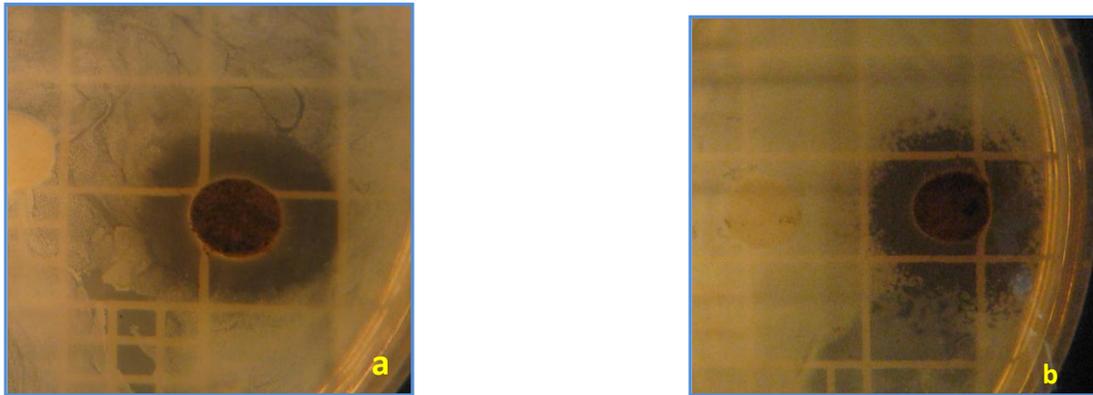
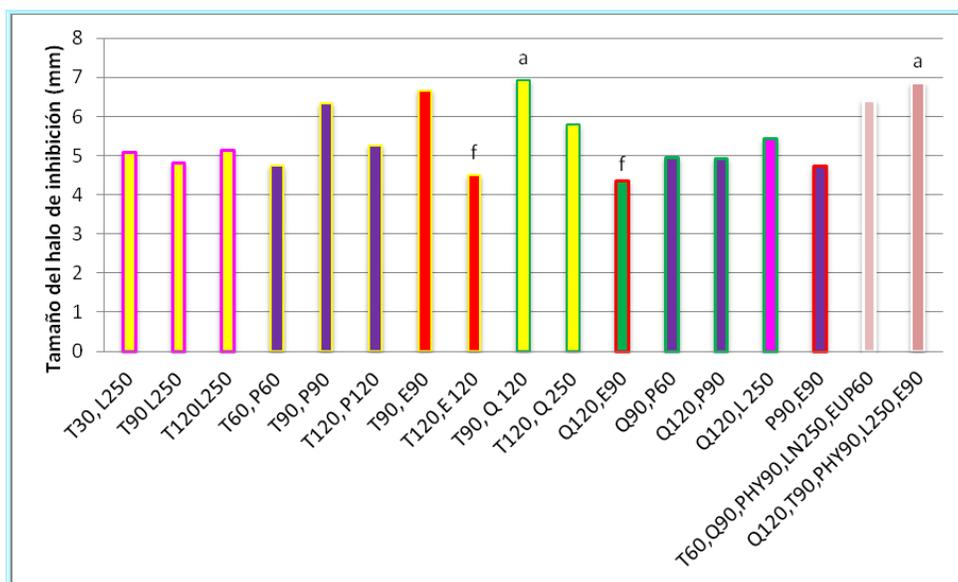


Figura 25. Halos de inhibición de *Pseudomonas marginalis* (1) con diferentes mezclas, a) *Tagetes lucida* con *Phytolacca icosandra* (90 y 90 mg mL⁻¹) y b) *Quercus obtusata* con *Euphorbia hirta* (120 y 250 mg mL⁻¹).

Mezclas realizadas para *Pseudomonas marginalis* (2)

En la gráfica 28 se observa el tamaño promedio de los halos de inhibición en donde el valor más alto es de 6.93 mm. para la mezcla de *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata* (90 y 120 mg mL⁻¹) en donde se potencializa el efecto. Al aplicar la prueba de Tukey, esta mezcla es igual estadísticamente ($p < 0.05$) a la que incluye todos los extractos a la concentración más alta probada, y estas son estadísticamente diferentes ($p > 0.05$) a todas las demás mezclas, siendo esta diferencia evidente con *Tagetes lucida Euphorbia hirta* (30 y 60 mg mL⁻¹) (ver apéndice 2.3). En las figuras 26 y 27 se muestran los halos de inhibición registrados para las mezclas de *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta* (90 y 90 mg mL⁻¹) y *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata* (120 y 250 mg mL⁻¹), en donde se observa se presenta un efecto de estas combinaciones en las tres bacterias fitopatógenas.

Para este microorganismo, la única mezcla que se potencializa es la de *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata* (90 y 120 mg mL⁻¹), lo que demuestra que los extractos de manera individual son más efectivos.



Gráfica 28. Tamaño promedio de los halos de inhibición de *Pseudomonas marginalis* (2) ante todas las mezclas probadas. T:=*Tagetes lucida*, L= *Lantana camara*, P= *Phytolacca icosandra*, Q=*Quercus obtusata* y E: *Euphorbia hirta* L.; 30, 60,90, 12, 250 concentraciones empleadas en mg mL^{-1} . a y f = presentan diferencia estadística.

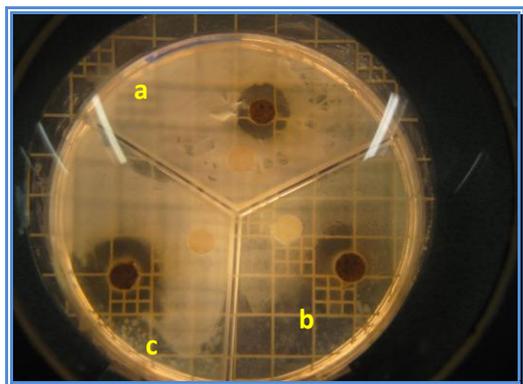


Figura 26. Halos de inhibición de la mezcla de *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta* (90 y 90 mg mL^{-1}). a: *Erwinia carotovora*, b: *Pseudomonas marginalis* (1) y c: *Pseudomonas marginalis* (2)

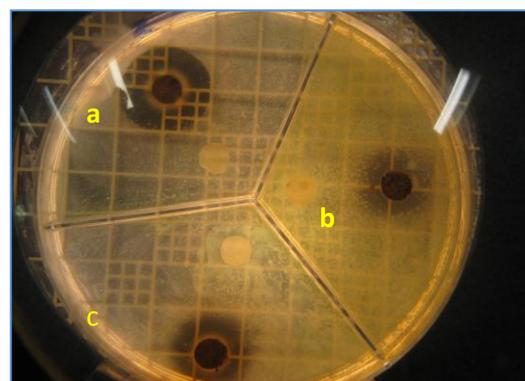
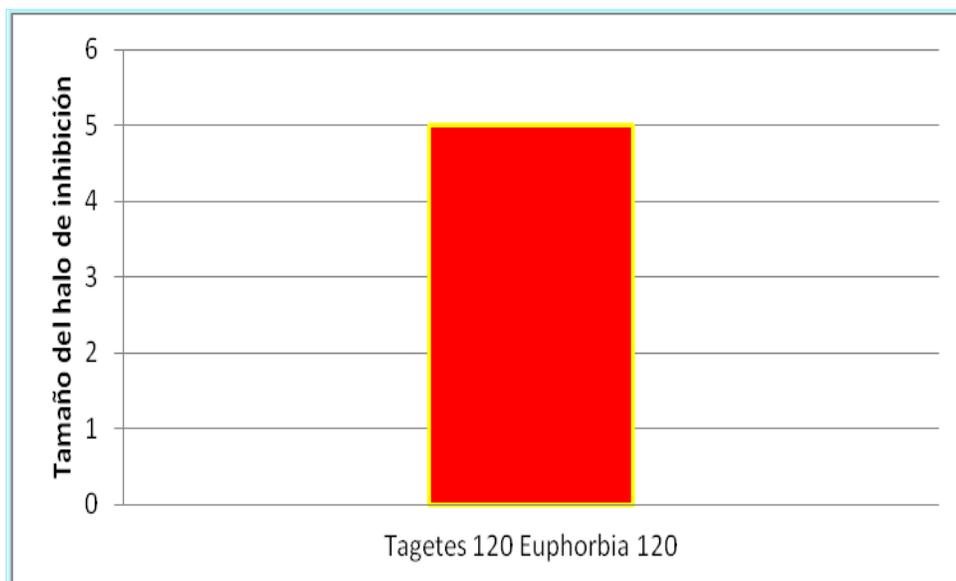


Figura 27. Halos de inhibición frente a la mezcla de *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata* (120 y250 mg mL^{-1}).a: *Erwinia carotovora*, b: *Pseudomonas marginalis* (1) y c: *Pseudomonas marginalis* (2)

HONGOS

Mezclas para *Penicillium sp.*

En la gráfica 29 se observa que sólo la mezcla de *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta* (120 y 120 mg mL⁻¹) registró efecto inhibitorio sobre *Penicillium sp.*, con un halo de inhibición de 5 mm., por lo cual el efecto no se potencializa al estar mezclado *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta*, esto debido a que sólo el extracto de *Tagetes lucida* presenta actividad antifúngica, registrando incluso halos de menor tamaño al estar mezclado, que el extracto de *Tagetes lucida* de manera individual.

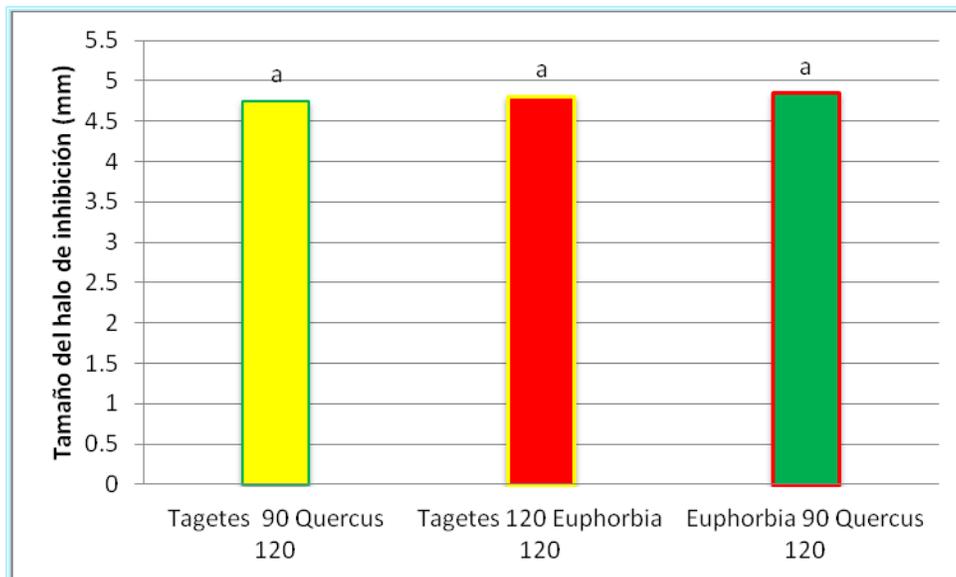


Gráfica 29. Tamaño de los halos de inhibición de *Penicillium sp.* frente al extracto de *Tagetes lucida*. 120 =concentración mg mL⁻¹.

Mezclas para *Sclerotinia sp.*

En la gráfica 30 se observa el tamaño de los halos de inhibición de las tres mezclas probadas frente a *Sclerotinia sp.*, siendo estadísticamente similares al comparar las medias por medio de la prueba de Tukey ($p < 0.05$) (Apéndice 2.4), con halos de mayor tamaño en las mezclas que contienen *Tagetes lucida* y esto se debe a que este extracto presentó efecto inhibitorio de manera individual sobre este microorganismo, mientras que la combinación entre *Quercus obtusata* y *Euphorbia hirta* es una alternativa para el control de

Sclerotinia sp. debido a que al estar mezclados manifiestan un efecto inhibitorio, que de manera individual no se registró.

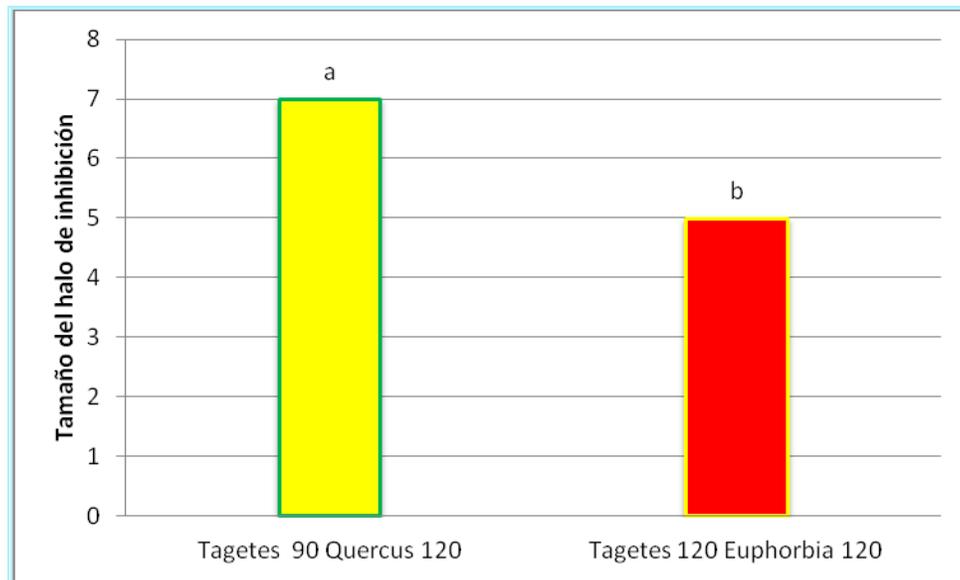


Gráfica 30. Tamaño de los halos de inhibición de *Sclerotinia sp.* frente a las mezclas probadas. 90 y 120= concentración en mg mL^{-1} . a= Sin diferencia estadística

Mezclas para *Sclerotium cepivorum*

Se obtuvieron halos de inhibición en 2 de las 3 mezclas probadas y se presentan en la gráfica 31, con un tamaño de 7.0 mm. para la mezcla con *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata* (90 y 120 mg mL^{-1}) y de 5.0 mm. para *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta* (120 y 120 mg mL^{-1}), donde no se tiene una diferencia estadística significativa con la prueba de Tukey ($p > 0.05$) (Apéndice 2.5) y en la figura 28 se observa el halo de inhibición para la mezcla de *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta*. (120 y 120 mg mL^{-1}).

Sólo las mezclas que contienen *Tagetes lucida* registran un efecto inhibitorio ante *Sclerotium cepivorum*, siendo de menor tamaño los halos, que los registrados de manera individual con el extracto de *Tagetes lucida*.



Gráfica 31. Tamaño promedio de los halos de inhibición de *Sclerotium cepivorum* frente a las mezclas probadas. 90 y 120 = concentración mg mL⁻¹. a y b= diferentes estadísticamente

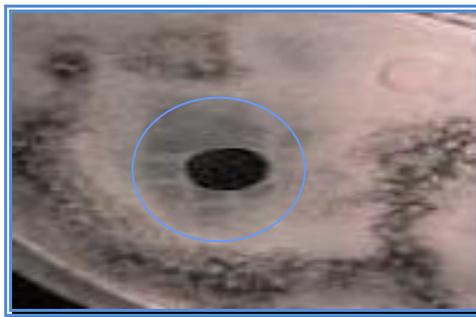


Figura 28. Halo de la mezcla de *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta* (120 y 120 mg mL⁻¹) frente al cultivo de *Sclerotium cepivorum*

De manera general solo algunas mezclas que registraron efecto inhibitorio frente a *Erwinia carotovora* presentan halos de mayor tamaño que los extractos de forma individual, mientras que para *Pseudomonas marginalis* (1) la única mezcla con halos de mayor tamaño que los registrados para los extractos de forma individual fue la de *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata* (120 y 250 mg mL⁻¹). Para el caso de *Pseudomonas marginalis* (2) las mezclas reportan halos de inhibición de menor tamaño que los extractos de *Tagetes lucida* y *Quercus obtusata* de forma individual.

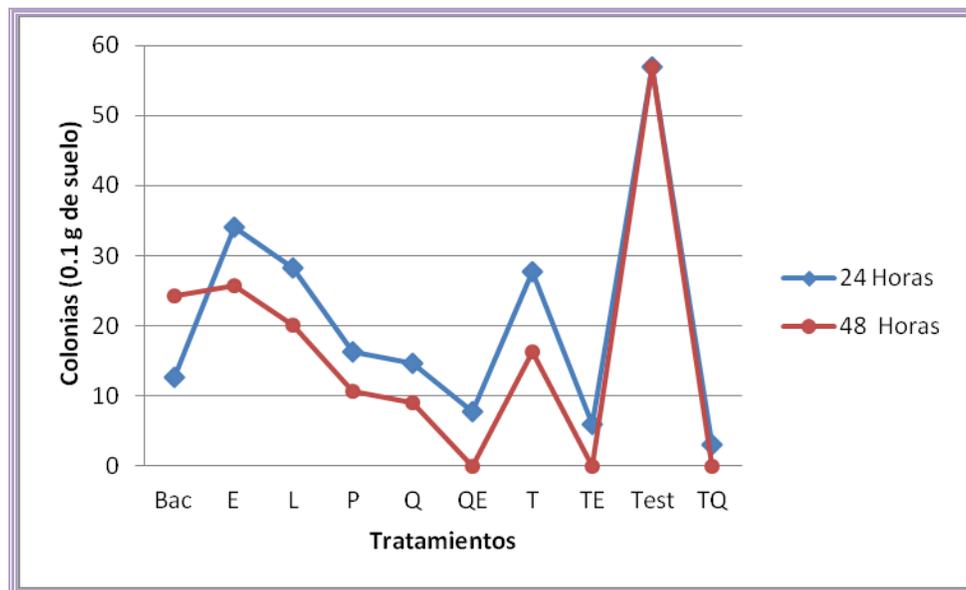
Para el caso de los hongos los halos de inhibición registrados para las mezclas son de menor tamaño que el extracto de *Tagetes lucida* de forma individual.

Efecto de los cinco extractos vegetales y pesticidas comerciales sobre las poblaciones totales de microorganismos del suelo.

BACTERIAS

Comparación en el tiempo del número de colonias en dilución de suelo en Bosque de *Abies*

En la gráfica 32 se evalúa si existe diferencia en el tiempo de aplicación del tratamiento en el número de colonias bacterianas en la dilución de suelo de la zona de Bosque de *Abies*, donde el número de colonias disminuye con la aplicación de todos los tratamientos, al pasar el tiempo las colonias van disminuyendo aun más en donde se aplicaron extractos, mientras que el bactericida permite que el número de colonias se recupere rápidamente, mostrando diferencias en los 2 tiempos evaluados (con un intervalo de confianza del 95%), los extractos y las mezclas de *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta* (120 y 120 mg mL⁻¹), *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata* (90 y 120 mg mL⁻¹) y *Quercus obtusata* y *Euphorbia hirta* (120 y 90 mg mL⁻¹), no varían significativamente con respecto al tiempo (con un intervalo de confianza del 95%), ya que se encuentran dentro de 1 rango para ser estadísticamente semejantes (Apéndice 3.1). El extracto que resultó inhibir un mayor número de colonias de bacterias al pasar el tiempo mostrando una diferencia significativa (con un intervalo de confianza del 95%) fue el de *Tagetes lucida*, esto es una ventaja ya que no pierde efecto al estar en el suelo. En todos los tratamientos probados se registró un efecto inhibitorio ya que todos se encuentran por debajo del testigo.



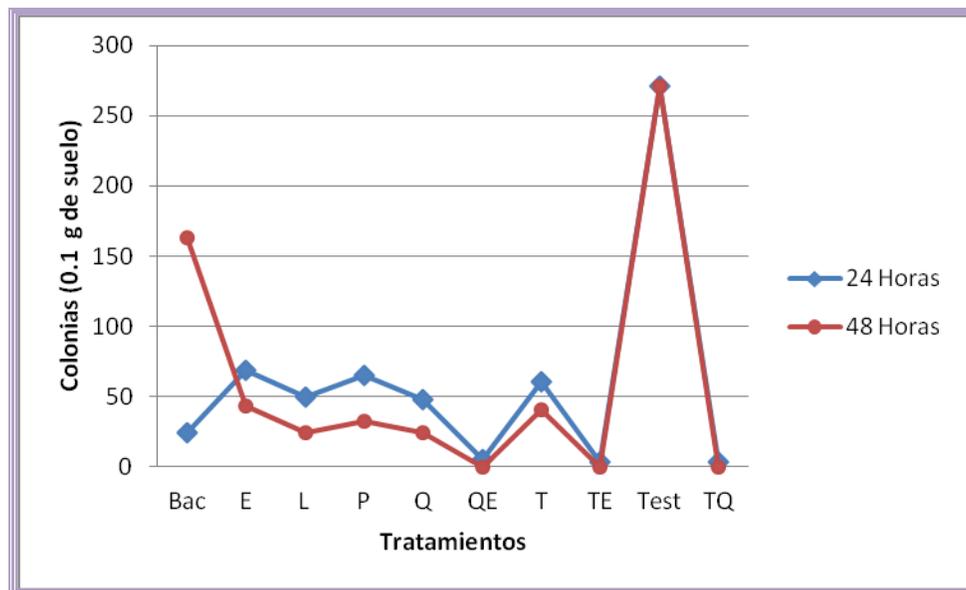
Gráfica 32. Número de colonias totales de bacterias en dilución de suelo de bosque a las 24 y 48 horas frente a los extractos vegetales y el bactericida. Bac= bactericida, E=*Euphorbia hirta*, L=*Lantana camara*, P= *Phytolacca icosandra*, Q=*Quercus obtusata*, QE=*Quercus obtusata* con *Euphorbia hirta*, T=*Tagetes lucida*, TE= *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta*, TQ= *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata*.

Comparación en el tiempo del número de colonias en dilución de suelo de cultivo

En la gráfica 33 se observa que el número de colonias decrece de 270 reportadas para el testigo a 60 para los extractos, mientras que con en el bactericida se registran 24, y con las mezclas se contabilizan un promedio de 4 colonias, mientras que al pasar el tiempo el bactericida demuestra un incremento en la población de 24 a 163 colonias, presentando aun efecto inhibitorio. Los extractos al estar mezclados no presentan diferencias estadísticas al paso del tiempo (con un intervalo de confianza del 95%), (Apéndice 3.2), mientras que los extractos de manera individual inhiben un mayor número de colonias conforme pasa el tiempo de contacto de las poblaciones del suelo con los extractos, siendo estadísticamente diferente para todos los extractos ($p > 0.05$).

De manera general los extractos vegetales presentan un efecto constante al pasar el tiempo e incluso a las 48 horas el número de colonias registrado para los extractos y las mezclas es menor que a las 24 horas.

En la figuras 29 se observa el efecto de un extracto y su influencia en el crecimiento de bacterias.



Gráfica 33. Número de colonias totales de bacterias en dilución de suelo de cultivo a las 24 y 48 horas frente a los extractos vegetales y el bactericida. Bac= bactericida, E=*Euphorbia hirta*, L=*Lantana camara*, P= *Phytolacca icosandra*, Q=*Quercus obtusata*, QE=*Quercus obtusata* con *Euphorbia hirta*, T=*Tagetes lucida*, TE= *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta*, TQ= *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata*.

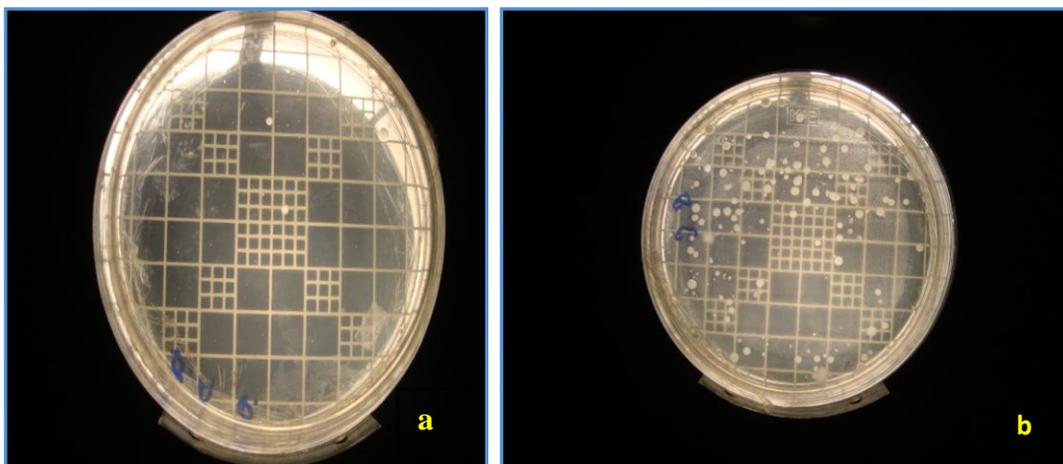


Figura 29. Colonias reportadas en la zona de cultivo *in vitro* con diferentes tratamientos. a) Colonias de bacterias con el extracto de *Phytolacca icosandra*, b) Número de colonias en la dilución de suelo

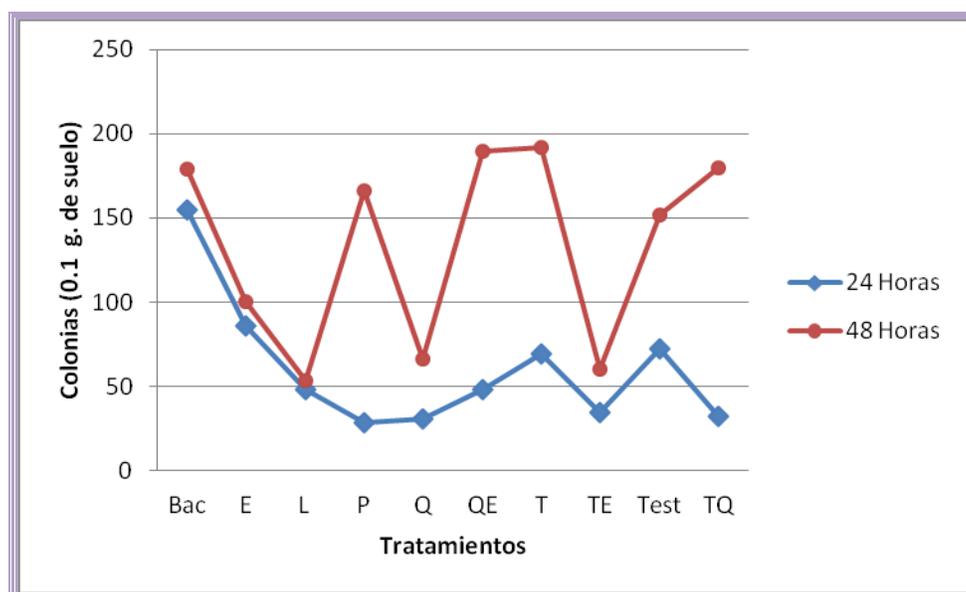
Al aplicar el extracto en dilución de suelo se puede ver que las colonias de bacterias son más sensibles en el Bosque de *Abies* a las 24 horas, pero su regeneración es más rápida esto se debe a que entre mayor sea la cantidad de materia orgánica en el suelo mayor es la resistencia a cambios por agentes químicos, debido a

que la materia orgánica, así como la arcilla adsorben algunos de los compuestos (Brissio, 2005; Ruda *et al.* 2004).

Comparación en el tiempo del número de colonias en el suelo de Bosque de *Abies*

En la gráfica 34 se observa el efecto de los tratamientos probados en las poblaciones bacterianas, en donde existe una disminución de las colonias a las 24 horas del cultivo, mientras que a las 48 horas existe un aumento con todos los tratamientos, sin perder el efecto inhibitorio pues el número de colonias está por debajo del Testigo, este incremento es despreciable con un nivel de significancia del 0.5, (Apéndice 3.3) para *Euphorbia hirta*, *Lantana camara*, *Quercus obtusata*, *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta*, mientras que los tratamientos de *Euphorbia hirta* con *Quercus obtusata* (Apéndice 3.3) para *Euphorbia hirta* con *Quercus obtusata*, *Phytolacca icosandra*, *Tagetes lucida*, *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata*, el efecto inhibitorio se pierde al pasar el tiempo, pues supera el número de colonias del testigo, y este incremento es significativo (con un intervalo de confianza del 95%), con respecto al bactericida también se pierde el efecto inhibitorio pero no es significativo el incremento.

El extracto de *Euphorbia hirta* al estar mezclado con el de *Tagetes lucida*. inhibe un mayor número de colonias que de manera individual, y tiene un efecto contrario al que presenta *Tagetes lucida* solo.



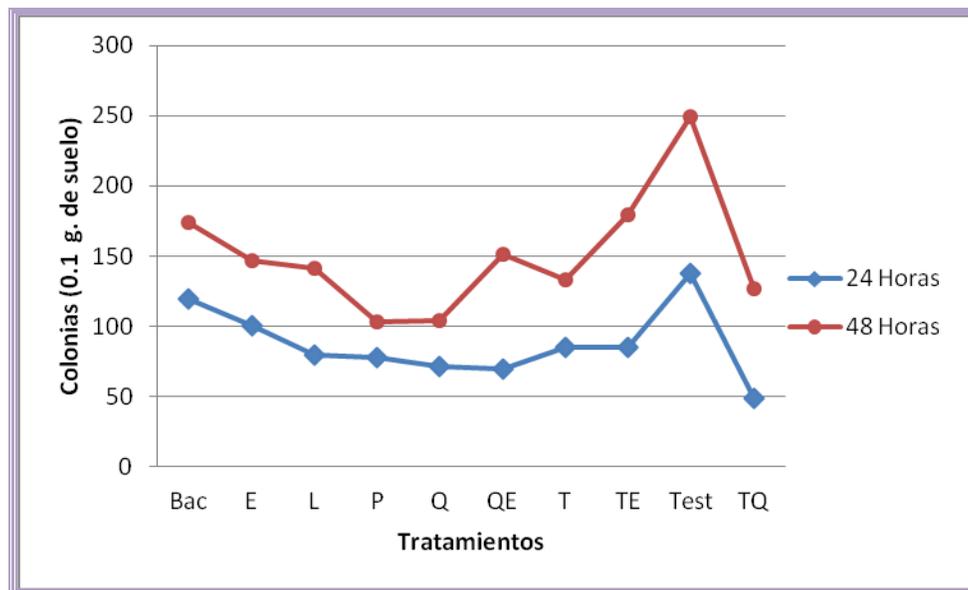
Gráfica 34. Número de colonias totales de bacterias en suelo de Bosque de *Abies* a las 24 y 48 horas frente a los extractos vegetales y el bactericida. Bac= bactericida, E= *Euphorbia hirta*, L= *Lantana camara*, P= *Phytolacca icosandra*, Q=*Quercus obtusata*; QE= *Quercus obtusata* con *Euphorbia hirta*, T= *Tagetes lucida*, TE= *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta*, TQ=*Tagetes lucida* con *Quercus obtusata*

Comparación en el tiempo del número de colonias en el suelo de cultivo

En la gráfica 35 se observa el número de colonias reportadas, que decrece con todos los tratamientos a las 24 horas y al pasar 48 horas de la aplicación el número de colonias se incrementa, pero se siguen inhibiendo ya que son menos que en el testigo.

El incremento en el número de colonia es despreciable para los extractos de manera individual (con un intervalo de confianza del 95%), pues se consideran estadísticamente iguales en ambos tiempos, (Apéndice 3.4) mientras que las mezclas, pierden su efecto al pasar las 24 horas y este incremento es significativo ($p > 0.05$). Para el caso de las mezclas el efecto no es recomendable debido a que la permanencia del efecto es reducida, por lo cual se requerirá de aplicaciones con un intervalo de tiempo más corto.

En la figura 30 se observa el efecto de algunos tratamientos y su influencia sobre las poblaciones de bacterias



Gráfica 35. Número de colonias totales de bacterias en suelo de cultivo a las 24 y 48 horas frente a los extractos vegetales y el bactericida. Bact= bactericida, E= *Euphorbia hirta*, L=*Lantana camara*, P= *Phytolacca icosandra*, Q = *Quercus obtusata*, QE= *Quercus obtusata* con *Euphorbia hirta*, T= *Tagetes lucida*, TE= *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta*, TQ= *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata*.

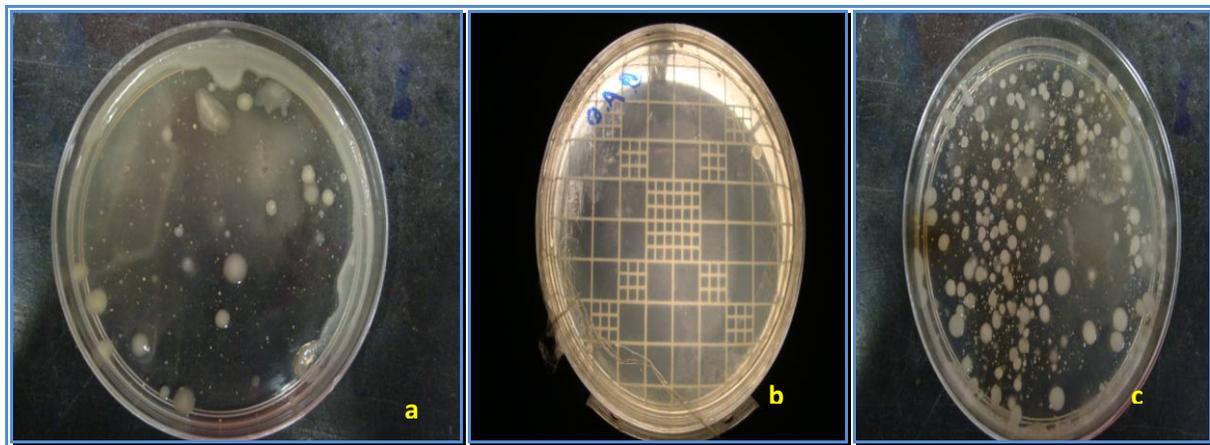


Figura 30. Colonias bacterianas en el suelo de cultivo con diferentes tratamientos. a) bactericida comercial, b) *Quercus obtusata* y c) testigo

Al aplicar el extracto directamente en el cultivo *in vitro* se registra un efecto inhibitorio mayor que al agregarlo al suelo, donde el suelo ejerce un efecto amortiguador que le permite inactivar los efectos negativos de los agentes externos, ejerciendo una neutralización, degradación o adsorción para evitar

modificaciones en el suelo (Brisio, 2005; Navarro y Navarro, 2003), permitiendo que el impacto sea menor en las poblaciones

microbianas, además de existir una diferencia importante entre las dos zonas, en donde el efecto a 24 horas para la zona de bosque presenta una disminución mayor del número de colonias, que en la zona de cultivo, esto se puede atribuir al manejo del suelo, ya que es una zona conservada y no está sometida a la aplicación de pesticidas como la zona de parcela, sin embargo aunque el impacto en la zona de Bosque es mayor, la recuperación de las colonias es más rápida que en la zona de cultivo.

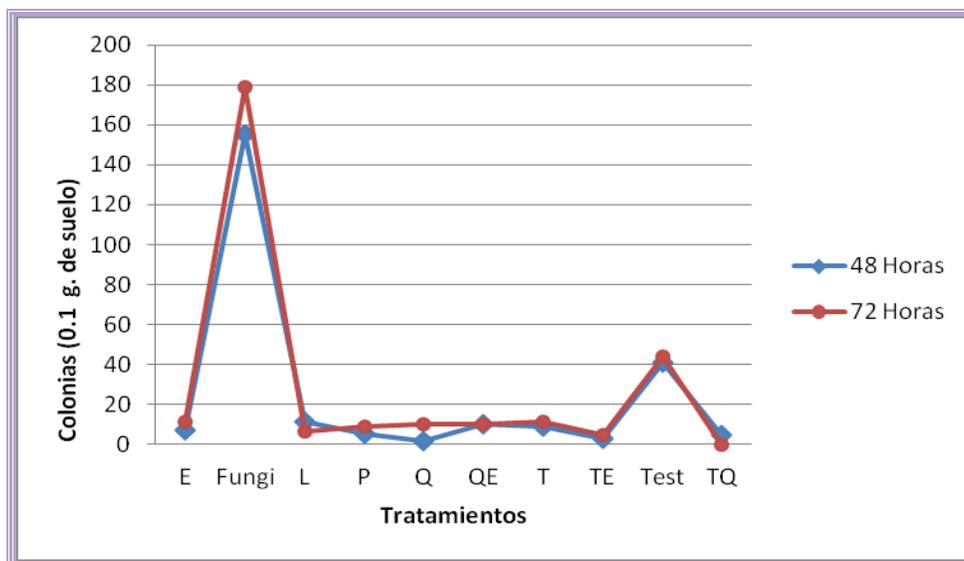
HONGOS

Comparación en el tiempo de las colonias de hongos en suelo de *Abies*

En la gráfica 36 se observa que con la aplicación de los extractos vegetales y las mezclas, decrece el número de colonias por debajo de 15, mientras que el testigo presenta 40 colonias, el extracto que inhibe un mayor número de colonias es el de *Phytolacca icosandra*, pero todos se comportan de manera similar, ya que no presentan diferencia estadística significativa (con un intervalo de confianza del 95%) (Apéndice 3.5) al paso del tiempo de aplicación, aunque hay incremento en el número de colonias este es despreciable.

El fungicida ejerce un efecto promotor, presenta 160 colonias, mientras que las del testigo son 40 y conforme pasa el tiempo, este efecto se acentúa siendo estadísticamente diferente ($p > 0.05$)

El efecto inhibitorio logrado por los extractos ofrece una ventaja, pues se podrían considerar como alternativa para el control de hongos, debido a este efecto que no presentó el fungicida utilizado, y aunque permiten la regeneración de las poblaciones no llegan a igualar el número del testigo, ni tampoco incrementan de manera significativa.



Gráfica 36. Número de colonias totales de hongos en suelo de Bosque de *Abies* a las 48 y 72 horas frente a los extractos vegetales y el bactericida. Fung = Fungicida, E=*Euphorbia hirta* L= *Lantana camara*, P= *Phytolacca icosandra*, Q=*Quercus obtusata*, QE= *Quercus obtusata* con *Euphorbia hirta*, T= *Tagetes lucida*, TE= *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta*, TQ=*Tagetes lucida* con *Quercus obtusata*

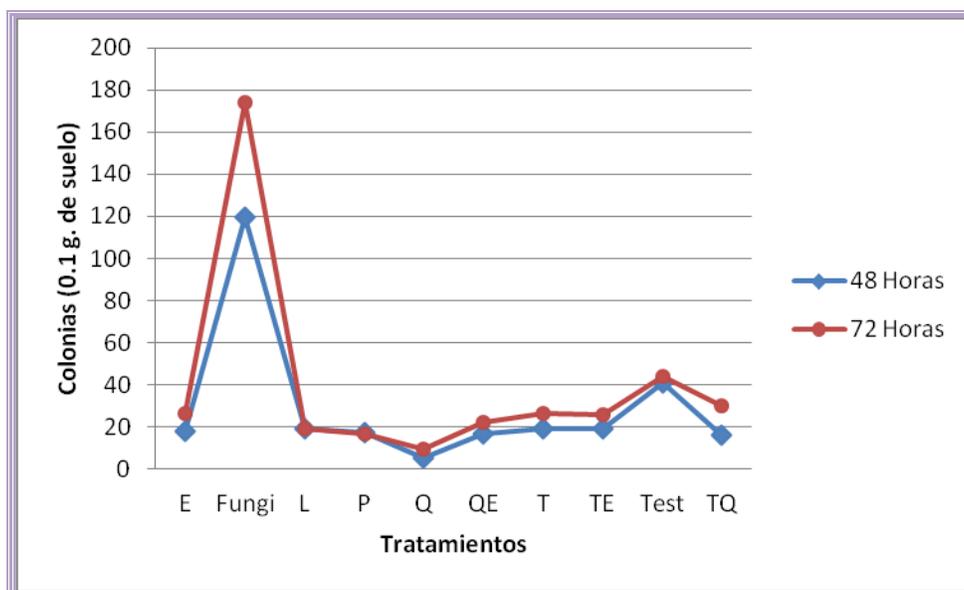
Comparación en el tiempo del número de colonias en suelo de cultivo para hongos

En la gráfica 37 se observa que el número de colonias decrece al aplicar alguno de los extractos vegetales, siendo el más efectivo el de *Quercus obtusata*, mientras que el fungicida ejerce un efecto promotor.

Al pasar las 72 horas el número de colonias de hongos aumenta sin ser estadísticamente diferente (con un intervalo de confianza del 95%) excepto para el fungicida quien incrementa de manera considerable ($p > 0.05$) (Apéndice 3.6). Aunque se presenta un incremento en las colonias el número de ellas es menor que el testigo.

Los extractos vegetales son una alternativa, debido al efecto inhibitorio que registraron, y aunque pierden efecto al paso del tiempo, siguen inhibiendo.

En la figura 31 se observa el número de hongos reportados a las 72 horas para el fungicida comercial y el testigo.



Gráfica 37. Número de colonias totales de hongos en suelo de cultivo a las 48 y 72 horas frente a los extractos vegetales y el bactericida. Bact= bactericida, E= *Euphorbia hirta*, L= *Lantana camara*, P= *Phytolaccaicosandra*, Q= *Quercus obtusata*, QE= *Quercus obtusata* con *Euphorbia hirta*, T= *Tagetes lucida*, TE= *Tagetes lucida* con *Euphorbia hirta*, TQ= *Tagetes lucida* con *Quercus obtusata*.

El efecto que ejercen los fungicidas de promover el crecimiento se debe a que muchos pesticidas se disipan rápidamente, convirtiéndose en compuestos más simples, transformándose en una fuente de nutrientes y carbono para muchos hongos que habitan en el suelo (FAO, 1997), además de que al alterar el equilibrio ecológico a causa de los pesticidas se tienen la aparición de nuevas especies resistentes (Cabero *et. al.*, 1994), provocando el aumento de microorganismos perjudiciales debido a la pérdida de depredadores o bien de organismos benéficos que creaban competencia (Medina, 1990).

Este efecto promotor se ve en las poblaciones fúngicas de las dos zonas, esto indica que el fungicida comercial no ejerce el efecto deseado, ya que puede propiciar la creación de especies resistentes, por la alteración de la competencia o bien por que este compuesto se vuelve un nutriente para los hongos.

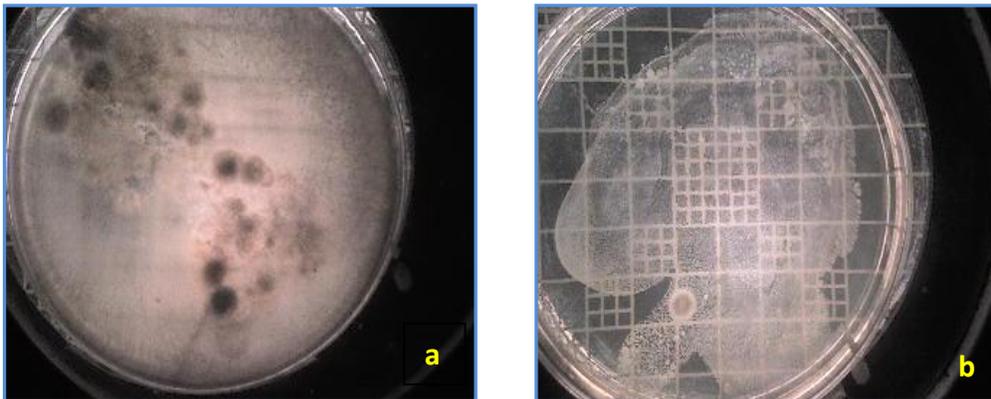


Figura 31. Colonias de hongos en suelo de cultivo a las 72 horas con diferentes tratamientos a) Fungicida b) Testigo

El uso de extractos vegetales para combatir fitopatógenos *in vitro* demuestra ser una alternativa, ya que los cinco extractos probados en este trabajo (*Euphorbia hirta*, *Lantana camara*, *Phytolacca icosandra*, *Quercus obtusata*, y *Tagetes lucida*), presentaron efecto inhibitorio y al ser comparados con un bactericida comercial resultaron ser igual de efectivos, en donde los extractos de *Phytolacca icosandra*, *Tagetes lucida* y *Quercus obtusata* inhibieron un número de mayor de bacterias que el producto químico (Fungymicin agrícola).

Para el caso de los hongos solo el extracto de *Tagetes lucida* inhibió a los tres organismos probados, mientras que el fungicida solo inhibió a *Sclerotinia sp.* y *Sclerotium cepivorum*.

El efecto sobre los fitopatógenos de manera *in vitro* no mostró diferencia estadística significativa al ser comparado con los productos químicos evaluados, con esto se obtienen resultados igual de efectivos, pero ofreciendo una gran ventaja ya que al usar extractos vegetales se evitarán daños que son causados por los pesticidas químicos, (Evans, 1973; Planes y Carrero, 1995) contaminación de alimentos (FAO, 2011), contaminación de suelo y agua y obteniéndose beneficios como mejoras en la calidad de las cosechas al proteger de manera natural a los cultivos, se presentan menos consecuencias para los enemigos letales, así como reducción del riesgo de plagas secundarias (Margraf, 1998).

El efecto registrado en el suelo con los extractos es importante, por que todos presentan un efecto inhibitorio al igual que el bactericida, a diferencia que el bactericida pierde su efecto al paso del tiempo, permitiendo una recuperación rápida de la población, mientras que los extractos se conservan efectivos, mientras que *Tagetes lucida* al paso del tiempo inhibe más colonias.

Para el caso del fungicida, su uso no es recomendable ya que en ninguno de los casos inhibió las colonias, al contrario promovió el desarrollo de estas, demostrando así que los extractos vegetales son más efectivos.

Por lo anteriormente expuesto se puede afirmar que el uso de extractos vegetales es una alternativa para el control de fitopatógenos, por las ventajas que brinda al ambiente, además de que los efectos inhibitorios fueron comparados con bactericidas y fungicidas comerciales, para conocer la efectividad, donde se pudo corroborar que los extractos vegetales son igual de efectivos que los productos químicos probados (Carbendex y Fungymicin agrícola) y en el caso del fungicida resultaron ser mejores.

CONCLUSIONES

La concentración mínima inhibitoria de los extractos de *Tagetes lucida*, *Euphorbia hirta* y *Phytolacca icosandra* fue a los 30 mg mL⁻¹, para *Quercus obtusata* fue de 60 mg mL⁻¹, mientras que para *Lantana camara* fue de 250 mg mL⁻¹.

El microorganismo más sensible fue *Erwinia carotovora* el cual presentó inhibición ante los cinco extractos vegetales probados, mientras que el más resistente fue *Penicillium sp.* quien solo presentó inhibición ante *Tagetes lucida*.

Se demostró que las bacterias fitopatógenas son más sensibles a la aplicación de los extractos probados.

Los extractos que al estar mezclados potencializan su efecto son los de *Lantana camara* y *Euphorbia hirta*, registrando halos de mayor tamaño.

Los extractos vegetales presentaron efecto inhibitorio sobre las poblaciones totales de bacterias y hongos de los dos tipos de suelo, registrando un efecto más prolongado en la zona de cultivo.

El efecto inhibitorio producido por los extractos vegetales no presentó diferencia estadística significativa con el bactericida y fungicida probados.

Los extractos de *Lantana camara*, *Euphorbia hirta*, *Phytolacca icosandra* y *Quercus obtusata*, presentan efecto inhibitorio en bacterias fitopatógenas, mientras que *Tagetes lucida* presenta un efecto inhibitorio en hongos y bacterias fitopatógenas, por lo tanto pueden considerarse como una alternativa para el tratamiento de fitopatógenos.

La hipótesis se cumple ya que los cinco extractos vegetales utilizados presentaron un efecto inhibitorio sobre los microorganismos fitopatógenos probados, y concuerda con lo que diversos autores reportaron para patógenos del hombre.

BIBLIOGRAFÍA

Agrios, G. N., 1995, “Fitopatología”, 2^{da} edición, Editorial *Limusa*, México, 838 pp.

Alesón, A., 2004, “Todo Sobre las Plantas Medicinales”, Editorial *Televisa*, México, 62 pp.

Alexander, M., 1980, “Introducción a la microbiología del suelo”, 2^{da} edición, AGT *Editor*, México, 496 pp.

Alfaro, T. M., Chalala, C., Rodríguez, R., Ramos, C. y Cabeza, C., 2000, “Lavado y desinfección de drogas vegetales. Normas Técnicas. Procesos Tecnológicos” (Proyecto), *Departamento de Control Microbiológico del Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos*, Argentina, No 2, pp. 128-132

Amorim, A. C. L., Cardoso, M., d G. Pinto, J. E. B. P., de Souza, P. E. y Filho, N. D., 2004, “Fungitoxic activity evaluation of the hexane and methanol extracts of copaiba plant leaves *Copaifera langsdorffi* Desfon”, *Ciencia y Agrotecnologia*, Vol. 28, No 2, pp. 316-324

Aquino, R., Caceres, A., Morelli, S., Rastrelli, L., 2002, “An extract of *Tagetes lucida* Cav. and its Phenolic constituents as antioxidants”, *American Chemical Society*, USA, Vol. 65, No 12, pp. 1773-1776

Arauz, C. L. F., 1998, “Fitopatología: Un enfoque agroecológico”, Editorial *Universidad de Costa Rica*, San José, Costa Rica, 447 pp.

Arce, A. F., 2002, “El cultivo de la patata”, 2^{da} edición, Ediciones *Mundi Prensa*, Madrid, España, 213 pp.

Barberá, C., 1991, “Pesticidas agrícolas”, 4^o edición, Editorial *Omega*, Barcelona, España, 603 pp.

Barre, J. T., Bowden, F. B., Coll, J. C., de la Fuente, V., 1997, “A bioactive triterpene from *Lantana camara* L.”, *Phytochemistry*, USA, Vol. 2, No 45, pp. 321-324

Bautista, F., 2003, "Growth inhibition of selected fungi chitosan and plant extract", *Revista Mexicana de Fitopatología*, México, Vol. 22, No 002, pp. 178-186

Bautista, F., Delfin, H. G., Palacio, J. L. P., y Delgado, M., 2004, "Técnicas de muestreo para manejadores de recursos naturales", UNAM, México, 502 pp.

Bernal, A., Zamora, J. F., Virgen, G., Nuño, R., 2003, "Actividad biológica in vitro del extracto de *Lupinus spp.* sobre hongos fitopatógenos", *Revista Mexicana de Fitopatología*, México, Vol. 23, No 002, pp.140-146.

Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009, "Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, *Lantana camara*", www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/atlas (Fecha de consulta 1 de Marzo 2011)

Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S. y Gontier, E., 2001, "Production of plant secondary metabolites: a historical perspective", *Plant Science*, Vol.161, No 5, pp. 839-851

Brissio, P. A., 2005, "Evaluación preliminar del estado de contaminación en suelos de la Provincia de Neuquén donde se efectúan actividades de explotación hidrocarburífera", Tesis de Licenciatura. *Universidad Nacional de Comahue*, Argentina, 92 pp.

Buol, S. W.; Hole, F. D., 1981, "Génesis y clasificación de suelos", Editorial *Trillas*, México, 417 pp.

Cabero, D. V., Llorente, P. J. M., Plaza, G. J. I. y Pol, M., 1994, "El Medio rural español, cultura, paisaje y naturaleza", Ediciones *Universidad Salamanca*, Salamanca, España, 102 pp.

Cáceres, A., Álvarez, A. V., Ovando, A. E. y Semoyoa, B. E., 1991, "Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases 1- Screening of 68 plants against gram-positive", *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 31, No 2, pp. 193-208

Cafrune, E. E., Perotto, M. C. y Conci, V. C., 2005, “Efecto de dos *Allexivirus* en el rendimiento de ajo”, *Libro de Resúmenes del XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología y III Taller de la Asociación Argentina de Fitopatología*, Villa Carlos Paz. Córdoba, Argentina, 561 pp.

Camacho, M. T. O., 2004, “La herbolaria medicinal del Parque Nacional Izta- Popo como antimicrobiano de patógenos de la cavidad oral”, Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, México, 180 pp.

Castillo, G. E.; Martínez, I. S., 2007, “Manual de Fitoterapia”, Publicaciones *Elsevier*, Barcelona, España, 429 pp.

Carrero, J. M., 1996, “Lucha integrada contra las plagas agrícolas y forestales”, Editorial *Mundi Prensa*, Madrid, España, 256 pp.

Celeste, L. M.; Marcelo, G., 2008, “Manual de Procedimientos Sensibilidad a los antimicrobianos en *Campylobacter spp.*” *Dto. Bacteriología Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas A.N.L.I.S. “Dr. Carlos G. Malbrán* Centro Regional de Referencia WHO-Global Salm Surv, para América del Sur, 84 pp.

Cervantes, A., Márquez, M. y Rivera, P., 2006, “Análisis estadístico: Un enfoque práctico con Statgraphic”, UNAM, México, 113 pp.

Céspedes, C. L., Ávila, J. C., Martínez, A., Serrato, B. C., Calderón- Mugica, J. y Salgado-Garciglia, R., 2006, “Antifungal and antibacterial Activities of Mexican Tarragon (*Tagetes lucida cav.*)”, *Journal Agric. Food Chem*, Vol. 54, No 10, pp. 13521-3527

CONABIO, 2004, “Clave de malezas de México, *Euphorbiaceae. Euphorbia hirta L.*”, <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/euphorbiaceae/euphorbia-hirta/fichas/pagina1.htm>. última modificación Junio 2009. (Consultada el 22 de enero del 2011).

CONANP, 2009, “Descripción del Área Natural Protegida. Parque Nacional Izta-Popo y zona de influencia”, <http://iztapopo.conanp.gob.mx/fauna.php>, última modificación 8 de Junio del 2009, (Consultada el 22 de enero del 2011).

Croteau, R., Kutchan, T. M. y Lewis, N. G., 2000, "Natural products (secondary metabolites)" *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, Buchanan, B.B.; Gruissem, W.; Jones, R. L., Editors. American Society of Plant Physiologists. Rockville, USA, pp. 1250-1318

Cruz, M. A., 2010, "Inhibición del crecimiento de fitopatógenos y patógenos del hombre frente al extracto de *Quercus rugosa* Nee", Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, México, 89 pp.

Dao, F., Chirl, A y Montoya, R., 1987, "Seminario sobre problemas asociados con el uso de plaguicidas en Centroamérica y Panamá", *Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura*, San José, Costa Rica, 60 pp.

Denna, M. J.; Thoppil. J. E., 1995, "Antimicrobial activity of the essential oil of *Lantana camara* L.", *Fitoterapy*, Vol. 71, No 4, pp. 453-455

Dinham, B.; Malik, S., 2003, "Pesticides and humanrights", *Int. J. Occup. Environ Health*, Vol.9, No 1, pp. 40-52

Drenth, A.; Guest, D. I., 2004, "Principles of *Phytophthora* disease management. In Diversity and Management of *Phytophthora* in Southeast Asia", Drenth, A.; Guest, D. I. (Editors), Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR). Monograph, 114, Canberra, AU, pp. 154-160

Duke, S. O, 1990, "Natural pesticides from plants", *Advances in New Crops*. Janick, J.; Simon, J. E. (Editors). *Timber Press*, Portland, USA, pp. 511-517

Ehrlich, P.; Raven, P., 1964, "Butterflies and plants: a study in coevolution (en línea)". *Evolution*18: 586-608. <http://www.blackwellpublishing.com/ridley/classic texts/elrich1.pdf>. Consultado el 29 de enero del 2011.

Espinosa-García, F. y Langenheim, J. J. H., 2001, "Effect of some essential oil phenotypes coastal redwood on the growth of several fungi with endophytic stages", *Biochemical Systematic and Ecology*, Vol. 19, No 8, pp. 643-650

Evans, E., 1973, “Enfermedades de las plantas y su control químico”, Editorial *Labor*, Barcelona, España, 307 pp.

FAO, 2011, “Inocuidad y calidad de los alimentos”, http://www.fao.org/ag/agn/agns/index_es.asp.
Modificación 16 de mayo del 2011, (Consultado el 14 de Agosto del 2011)

FAO, 1997, “Lucha contra la contaminación agrícola de los recursos hídricos”, Ediciones *Ongley*.
Burlington, Canadá, 77 pp.

Ferrera- Cerrato, R.; Alarcón, A., 2007, “Microbiología agrícola: hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico y planta microorganismo”, Editorial *Trillas*, México, 1023 pp.

Fitzpatrick, E. A., 1984, “Suelos su formación, clasificación y Distribución”, Compañía *Editorial Continental*, México, 430 pp.

Gallegos, M. G., Cepeda, S. M. y Olay, P. R. P., 2003, “Entomopatógenos”, Editorial *Trillas*, México, 148 pp.

Gallori, E., Casalone, E. Colella, C.M. Daly, S. y Polsinelli, M., 1991, “1,8-naphthalic anhydride antidote enhances the toxic effects of captan and thiram fungicides on *Azospirillum brasilense* cells”, *Microbiology*, Vol. 142, No 9, pp. 1005-1012

Gamiño, V. C., 2009, “Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto hidroalcoholico de *Phytolacca icosandra* L.”, Informe de Servicio Social, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, *UNAM*, D. F., México, 76 pp.

Garduño, Y., 2007, “Efecto de *Tagetes lucida* Cav. como antimicrobiano sobre diversos patógenos”, Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, *UNAM*, México, 89 pp.

Granados, M.; Wang, A., 2005, “Aislamiento e identificación de hongos asociados a esclerocios de *Sclerotium cepivorum*, causante de la pudrición blanda de la cebolla, en la zona alta de Cartago”, *Agronomía Costarricense*, Costa Rica, Vol 29, No 1, pp. 57-66

Grayer, R. J.; Harborne, J. B., 1994, "A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993", *Phytochemistry*, USA, Vol. 37, pp. 19-42

Grillo, H., 2001, "Efectos de extractos alcohólicos de ruda (*Ruta chalepensis* L.) y albahaca (*Ocimum basilicum* L.) sobre bacterias fitopatógenas", *Revista Interciencia*, Vol. 28, No 3, pp. 20-23

Hernández, S. A. P., 2009, "Plantas medicinales y su efecto antimicrobiano: Un servicio ecosistémico de la cuenca del Río Magdalena D.F.", Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM, México, D.F., 89 pp.

Hoocker, W., 1980, "Compendio de enfermedades de la papa", *Centro Internacional de la papa*, Perú, 166 pp.

Howard, F.; Schwartz, P., 1992, "Enfermedades del frijol causadas por hongos y su control", 2ª ed, *Centro Internacional de Agricultura Tropical*, Cali, Colombia, 121 pp.

Jorge, A., 2004, "Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos", 4ª edición, Editorial *Corpus*, Buenos Aires, Argentina, 485 pp.

Killham, K., 1994, "Soil ecology", *Cambridge University Press*, Gran Bretaña, 235 pp.

Koneman, E. W.; Allen, S. D., 1999, "Diagnóstico microbiológico", Editorial *Médica Panamericana*, México, 814 pp.

Ku, U. J. G., 2008, "Actividad Antimicrobiana de extractos de oregano (*Lippia graveolens*), contra microorganismos fitopatógenos", Tesis de licenciatura en Ingeniería de Invernaderos, *Universidad Autónoma de Querétaro*, México, 86 pp.

Kuklinski, C., 2000., "Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural", Editorial *Omega*, España, 511 pp.

Linares, M. E., 1996, "Selección de Plantas Medicinales de México", 5ª reimpresión, Editorial *Limusa Noriega Editores*. S. A., México, 130 pp.

Lira-Saldivar, R. H., 2003, “Estado actual sobre el conocimiento sobre las propiedades biocidas de la gobernadora (*Larrea tridentata* D.C.)”, *Red de revistas Científicas de América Latina. Coahuila*, México, Vol. 21, No 2, pp. 214-224

Luna, A., Montalvo, L. y Rendón, B., 2003.a., “Los Usos no Leñosos de los Encinos”, *Sociedad Botánica Mexicana*, México, Vol. 3, No72, pp. 107-117

Luna, M. F., Martínez, A. F. y Noyola, P. P., 2003.b., “Caracterización molecular de aislados de *Sclerotium cepivorum* mediante análisis del polimorfismo de los fragmentos amplificados al azar”, *Elementos*, Vol. 10, No 49, pp. 53-59

Lynch, J. M.; Hobie, J. E., 1988, “Microorganisms in action: concepts and applications in microbial ecology”, *Blackwell Scientific Publications*, Gran Bretaña.189 pp.

Marcano, D.; Hasewaga, M., 2002, “Fotoquímica orgánica”, 2^{da} edición, *Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico Universidad Central de Venezuela*, Venezuela, 452 pp.

Marie-Claire, L., Fleurentine, J., Dorfman, P. y Jean- Marie, P., 1991, “Analgesic, Antypiretic and Anti-Inflammatory Properties of *Euphorbia hirta* L.”, *Plant. M*, Vol. 57, No 3, pp. 225-231

Margraf, K., 1998, “El cuidado de las plantas enfermas”, Ediciones *Everest*, Lisboa, Portugal, 68 pp.

Medina, V., 1990, “Contaminación por pesticidas”, *Revista MOPU*, Argentina, No 382, pp.75-78

Moreno, B.; Acevedo, R., 2002, “Caracterización patogénica y estudio de los grupos de compatibilidad micelial en *Sclerotium cepivorum* Berk”, *Revista Iberoamericana de Micología*, Vol. 19, pp. 115-119.

Navarro, G. G. y Navarro, B. S., 2003, “Química agrícola”, Ediciones *Mundi –Prensa*, Madrid, España, 384 pp.

Orozco, L. F.; Glass, C. P., 1999, “Protección de cultivos”, Editorial *Trillas*, México, 99 pp.

Ortíz, V. A. I., 2009, “Bioactividad del extracto etanólico de *Tagetes Lucida* Cav.sobre diversos hongos y bacterias fitopatógenos”, Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, México, 83 pp.

Osorio- Hernández, E. J. M., Ventura-Sobrevilla, M., Flores-Dávila, S., Lara, F., Rodríguez-Herrera, R., Hernández-Castillo, F. D. y Cristóbal, N., “Efectividad biológica de extractos polifenólicos contra bacterias fitopatógenas”, *Revista Interciencia*, Vol. 28, No. 3, pp. 20-23

Pérez, M. L., Córdova, R. Z. V., Rico, J. E. y Ramírez, M. R., 2007, “Identificación de virus fitopatógenos en ajo (*Allium sativum* L.), en el estado de Guanajuato, México”, *Revista Mexicana de Fitopatología*, No 25, pp. 11–17

Pérez, M. L.; Rico, J. E., 2004, “Identificación de Virus Fitopatógenos en Cultivos Hortícolas de Importancia Económica en el Estado de Guanajuato, México”. Editorial de la Universidad de Guanajuato, Guanajuato, México, 143 pp.

Perruzo, P., Marino, P., Cremate, C., da Silva, M., Porta, A., y Ronco, A., 2003, “Impacto de pesticidas en aguas superficiales y sedimentos asociados a cultivos por siembra directa. Conferencia Internacional de usos multiples del agua para la vida y desarrollo sustentable”, *Universidad del Valle/Instituto Cinara*, Cali, Colombia, pp.135-141

Planes⁺, S.; Carrero, J. M., 2005, “Plagas del campo”, 12°ed, Edit. *Mundi-Prensa*, Madrid, España, 225 pp.

Planes⁺, S.; Carrero, J. M., 2008, “Plagas del campo”, 13°ed, Edit. *Mundi-Prensa*, Madrid, España, 272 pp.

Ramírez–Malagón, R., Pérez–Moreno, L., Borodanenko, A. y Ochoa–Alejo, N., 2006, “Differential organ infection studies, potyvirus elimination, and field performance of virus–free garlic plants produced by tissue culture” *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, No86, pp.103–110

Rausher, M., 2001, “Co-evolution and plant resistance to natural enemies”, *Nature*, No 411, pp.857-864

Renzo, Z., 2001, “Reducción del desarrollo de hongos fitopatógenos con extracto de Cardón Lefaria. (*Cereus deficiens* Otto & Diert)”, *Revista INCI*, No 28, Vol. 5, pp. 22-27

Reyes, P., 1982, “Bioestadística aplicada”, Editorial *Trillas*, México, 145 pp.

Ribeiro, L. F.; Bendendo, I. P., 1999, “Efeito inibitorio de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* agente causal da podridão de frutos de mamoeiro”, *Scientia Agricola*, No 56, Vol. 4, pp. 1267-1271

Rodríguez, C.; Lagunes, A., 1992, “Plantas con propiedades insecticidas”, *Agroproductividad*, No 1, Vol. 27, pp. 17-25

Ruda, de S. E., Mongiello, A. y Acosta, A., 2004, “Contaminación y salud del suelo”, Ediciones *UNL*, Santa Fé, Argentina, 172 pp.

Rzedowski, G. C. y de Rzedowski, J., 2001, “Flora Fanerogámica del Valle de México”, 2^{da} ed, *Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad*. Pátzcuaro, Michoacán, México, 1406 pp.

Sánchez-Colín, M. J., 2004, “Microbiología de suelos: Técnicas y Medios de cultivo” *FES-Zaragoza*, UNAM, México, 47pp.

SEMARNAP, 1996. Suelos dominantes de México, http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/estadisticas_2000/naturaleza/estadisticaam/informe/acrobat/capitulo2-1-6.pdf, Última modificación en Junio 2009, (Consultada el 27 de Abril del 2011)

SEMARNAT, 2010, “Plantas medicinales de la Farmacia viviente del CEFOFOR: usos terapéuticos tradicionales y dosificación”, México, 186 pp.

Seoáñez, C. M., 2000, “Tratado de reciclado y recuperación de los productos sólidos”, Editorial *Mundi-Prensa*, Madrid, España, 556 pp.

Smith, I., Dunez, J., Lelliot, R. A., Philips, D. H. y Archer, S. A., 1998, "Manual de enfermedades de las plantas", Editorial *Blackwell Scientific Publications LTD*, Oxford, Inglaterra, 627 pp.

Stauffer, A. B., Orrego, A. F. y Aquino, A. J., 2000, "Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y/o bactericida", *Revista de Ciencia y Tecnología. Facultad de Ciencias Agrarias*, Asunción, Paraguay, No 1, Vol. 2, pp. 29-34

Tanaka, Y. T.; Andomuro, S., 1993, "Agroactive compound of Microbial Origin", *Annu. Rev. Microbiol.*, No 47, pp. 57-87

Theis, N.; Lerdau, M., 2003, "The evolution of function in plant secondary metabolites" *International Journal of Plant Sciences*, No 164, Vol. 3, pp. 93-102

Treyvaud, V., Marslon, A., Dyatnikow, M. y Hostettmann, K., 2000, "Molluscicidal saponins from *Phytolacca*", *Phytochemistry*, No 55, Vol. 6, pp. 603-609

Tyler, M. G., 2007, "Ciencia ambiental: Desarrollo sostenible un enfoque integral", 8° ed, Editorial. *Thompson*, México, 322 pp.

Umland, J., 2000, "Química General", 3ª edición, Editorial *Thomson Learning*, México, 1002 pp.

Valencia, S., 1995, "Contribución al Conocimiento del Genero *Quercus* (Fagáceas) en el Estado de Guerrero, México", Ediciones *UNAM*, México, 159 pp.

Van Beelen, P.; Doelman, P., 1997, "Significance and application of microbial toxicity tests in assesing ecotoxicological risks of contaminants in soil and sediment", *Chemosphere*, No 34, pp. 41-51

Verpoorte, R., 2000, "Secondary metabolism en Verpoorte, R. and Alfermann, A. W. (eds.). Metabolic engineering of plant secondary metabolism", *Kluwer Academic Publishers*. Dredrecht, pp.1-29.

Vijayaa, J., Ananthan, S. y Nalinib, R., 1995, “Antibacterial effect of theaflavin, polyphenon 60 (*Camellia sinensis*) and *Euphorbia hirta* on *Shigella* spp. — a cell culture study” , *Journal of Ethnopharmacology*, No 93, Vol. 2, pp. 115-118

Villar, A., 1999, “Farmacognosia General”, Editorial *Síntesis*, Madrid, España, 258pp.

Weber, G. F., 1997, “Plagas y enfermedades de la lechuga”, Editado por la *Sociedad Americana de Fitopatología*, USA, 254 pp.

Wild, A., 1992, “Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russell”, Editorial *Mundi-Prensa*, Madrid, España, 1045 pp.

Wilson, E. O. y Peter, F. M., 1988, “Biodiversity” *National Academic Press*, N.Y, USA, 498 pp.

Zambrano, C. J. A., 2008, “Efecto inhibitorio del extracto de *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland sobre algunos patógenos y su toxicidad” , Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, *UNAM*, México, 95 pp.

APENDICES

Apéndice 1. Prueba de Tukey para cada uno de los extractos frente a los microorganismos fitopatógenos

1.1. Prueba de rangos múltiples para *Erwinia carotovora* frente a *Euphorbia hirta* por concentración

Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
30	4	3.9375	X
60	4	4.75	XX
90	4	4.875	X
120	4	5.4575	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
30-60	-0.8125	0.832769
30-90	*-0.9375	0.832769
30-120	*-1.52	0.832769
60-90	-0.125	0.832769
60-120	-0.7075	0.832769
90-120	-0.5825	0.832769

*Indica diferencia estadística significativa

1.2. Prueba de rangos múltiples para *Erwinia carotovora* frente a *Phytolacca icosandra* por concentración

Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
30	4	5.6875	X
60	4	6.0	X
90	4	6.9375	X
120	4	7.9375	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
30-60	-0.3125	0.419723
30-90	*-1.25	0.419723
30-120	*-2.25	0.419723
60-90	*-0.9375	0.419723
60-120	*-1.9375	0.419723
90-120	*-1.0	0.419723

*Indica diferencia estadística significativa

1.3. Prueba de rangos múltiples para *Erwinia carotovora* frente a *Quercus obtusata* por concentración

Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
-------------	------------	-------	-------------------

90	4	4.5625	X
120	4	6.09375	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
-----------	------------	-------------

90-120	-1.53125	2.54339
--------	----------	---------

*Indica diferencia estadística significativa

1.4. Prueba de rangos múltiples para *Erwinia carotovora* frente a *Tagetes lucida* por concentración

Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
-------------	------------	-------	-------------------

30	5	4.625	X
60	5	5.125	X
90	5	5.375	X
120	5	5.775	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
-----------	------------	-------------

30-60	-0.5	1.4543
30-90	-0.75	1.4543
30-120	-1.15	1.4543
60-90	-0.25	1.4543
60-120	-0.65	1.4543
90-120	-0.4	1.4543

*Indica diferencia estadística significativa

1.5. Prueba de rangos múltiples para *Erwinia carotovora* frente a los tratamientos probados

Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
<i>Quercus</i>	20	2.1312	X
<i>Euphorbia</i>	20	3.7935	X
<i>Lantana</i>	5	3.95	XXX
Bactericida	5	4.85	XX
<i>Tagetes</i>	20	5.27425	XX
<i>Phytolacca</i>	20	5.3	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
Bactericida- <i>Euphorbia</i>	1.0565	2.34341
Bactericida- <i>Lantana</i>	0.9	2.34341
Bactericida- <i>Phytolacca</i>	-0.45	2.34341
Bactericida- <i>Quercus</i>	*-2.71875	2.34341
Bactericida- <i>Tagetes</i>	-0.42425	2.34341
<i>Euphorbia-Lantana</i>	-0.1565	2.34341
<i>Euphorbia-Phytolacca</i>	*-1.5065	1.4821
<i>Euphorbia-Quercus</i>	*1.66225	1.4821
<i>Euphorbia-Tagetes</i>	-1.48075	1.4821
<i>Lantana-Phytolacca</i>	-1.35	2.34341
<i>Lantana -Quercus</i>	1.81875	2.34341
<i>Lantana -Tagetes</i>	-1.32425	2.34341
<i>Phytolacca-Quercus</i>	*3.16875	1.4821
<i>Phytolacca-Tagetes</i>	0.02575	1.4821
<i>Quercus- Tagetes</i>	*-3.143	1.4821

*Indica diferencia estadística significativa

Pseudomona marginalis* (1) frente a los extractos vegetales*1.6. Prueba de rangos múltiples para *Pseudomona marginalis* (1) frente a *Phytolacca icosandra*****por concentración**-----
Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
30	4	4.25	X
60	4	4.40	XX
90	4	4.5	X
120	4	4.5	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
30-60	-0.15	0.213512
30-90	*-0.25	0.213512
30-120	*-0.25	0.213512
60-90	-0.09375	0.213512
60-120	-0.9375	0.213512
90-120	-0.0	0.213512

*Indica diferencia estadística significativa

1.7. Prueba de rangos múltiples para *Pseudomona marginalis* (1) frente a***Quercus obtusata* por concentración**-----
Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
60	5	5.45	X
90	5	5.45	X
120	5	6.75	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
60-90	0.0	2.14589
60-120	-1.3	2.14589
90-120	-1.3	2.14589

*Indica diferencia estadística significativa

1.8. Prueba de rangos múltiples para *Pseudomonas marginalis* (1) frente a

Tagetes lucida por concentración

Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
-------------	------------	-------	-------------------

30	5	4.8	X
60	5	5.3	X
90	5	5.9	X
120	5	6.0	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
-----------	------------	-------------

30-60	-0.5	1.29492
30-90	-1.25	1.29492
30-120	-1.1	1.29492
60-90	-0.7	1.29492
60-120	-0.6	1.29492
90-120	-0.1	1.29492

*Indica diferencia estadística significativa

1.9. Prueba de rangos múltiples para *Pseudomonas marginalis* (1) frente a los extractos

Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
-------------	------------	-------	-------------------

<i>Phytolacca</i>	16	4.4140	X
<i>Tagetes</i>	20	5.5	X
<i>Quercus</i>	15	5.883	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
-----------	------------	-------------

<i>Phytolacca-Quercus</i>	*-1.46927	0.77179
<i>Phytolacca-Tagetes</i>	*-1.08594	0.720286
<i>Quercus- Tagetes</i>	0.383322	0.733503

*Indica diferencia estadística significativa

1.10. Prueba de rangos múltiples para *Pseudomona marginalis* (2) frente a***Phytolacca icosandra* por concentración**-----
Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
-------------	------------	-------	-------------------

60	5	4.35	X
90	5	4.5	X
120	5	4.65	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
-----------	------------	-------------

60-90	-0.15	0.312909
60-120	-0.3	0.312909
90-120	-0.15	0.312909

*Indica diferencia estadística significativa**1.11. Prueba de rangos múltiples para *Pseudomona marginalis* (2) frente a*****Quercus obtusata* por concentración**-----
Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
-------------	------------	-------	-------------------

60	5	5.45	X
90	5	6.5	X
120	5	7.075	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
-----------	------------	-------------

60-90	-1.05	1.7751
60-120	-1.625	1.7751
90-120	-0.575	1.7751

*Indica diferencia estadística significativa

1.12. Prueba de rangos múltiples para *Pseudomona marginalis* (2) frente a

Tagetes lucida por concentración

Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
-------------	------------	-------	-------------------

30	5	4.75	X
60	5	5.9	X
90	5	6.0	X
120	5	6.5	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
30-60	-1.25	2.16196
30-90	-1.75	2.05101
30-120	-1.15	2.05101
60-90	-0.5	2.05101
60-120	0.1	2.05101
90-120	0.6	1.93371

*Indica diferencia estadística significativa

1.13. Prueba de rangos múltiples para *Pseudomona marginalis* (2) frente a los extractos

Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
-------------	------------	-------	-------------------

<i>Phytolacca</i>	15	4.5	X
<i>Tagetes</i>	18	5.83	X
<i>Quercus</i>	22	6.3417	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
<i>Phytolacca-Quercus</i>	*-1.3333	0.83345
<i>Phytolacca-Tagetes</i>	*-1.84167	0.87051
<i>Quercus- Tagetes</i>	0.383322	0.733503

*Indica diferencia estadística significativa

1.14. Prueba de Rangos múltiples de *Sclerotinia sp.* frente a los tratamientos probados

Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
<i>Tagetes</i>	5	6.55	X
Fungicida	5	10.2	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites
<i>Tagetes</i> –Fungicida		3.65	6.6179

*Indica diferencia estadística significativa

1.15. Prueba de Rangos múltiples de *Sclerotium cepivorum* frente a

Tagetes lucida por concentración

Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
60	3	5.833	X
90	5	7.57	X
120	5	9.95	X
Contraste		Diferencia	+/- Límites
60-90		-1.7416	2.49203
60-120		*-4.1166	2.49203
90-120		*-2.375	2.15816

*Indica diferencia estadística significativa

1.16. Prueba de rangos múltiples de *Sclerotium cepivorum* frente a los tratamientos probados

Método: 95.0 por ciento LSD

Tratamiento Conteo Media Grupos homogéneos

<i>Tagetes</i> 60	5	3.5	X
<i>Tagetes</i> 90	5	7.574	XX
Fungicida	5	9.1	XX
<i>Tagetes</i> 120	5	9.95	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
Fungicida - <i>Tagetes</i> 120	-0.85	5.98896
Fungicida - <i>Tagetes</i> 60	5.6	5.98896
Fungicida - <i>Tagetes</i> 90	1.526	5.98896
<i>Tagetes</i> 120 - <i>Tagetes</i> 60	*6.45	5.98896
<i>Tagetes</i> 120 - <i>Tagetes</i> 90	2.376	5.98896
<i>Tagetes</i> 60 - <i>Tagetes</i> 90	-4.074	5.98896

* Indica diferencia estadística significativa

1.17. Prueba de Rangos múltiples de *Tagetes lucida* frente a los microorganismos probados

Método: 95.0 por ciento LSD

Tratamiento	Conteo	Media	Grupos homogéneos
TagErwi	20	5.225	X
TagPm1	20	5.5	X
TagPm2	18	5.833	X
TagSclerotinia	5	6.6	XX
Tagetes Peni	5	6.6	XX
Tagetes Sclerotium	13	8.08 X	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
TagErwi- TagPeni	-1.375	1.4281
TagErwi-TagPm1	-0.275	0.9032
TagErwi-TagPm2	-0.6083	0.9279
TagErwi-TagSclerotinia	-1.375	1.4281
TagErwi-TagSclerotium	*-2.8615	1.0175
TagPeni-TagPm1	1.1	1.4281
TagPeni-TagPm2	0.7666	1.4439
TagPeni-TagSclerotinia	0.0	1.8064
TagPeni-TagSclerotium	-1.48654	1.5030
TagPam1-TagPm2	0.3333	0.9279
TagPam1-TagSclerotinia	-1.1	1.4281
TagPam1-TagSclerotium	*-2.5865	1.0175
TagPm2-TagSclerotinia	-0.7667	1.4439
TagPm2-TagSclerotium	*-2.25321	1.0396
TagSclerotinia-TagSclerotium	-1.4865	1.5030

* Indica diferencia estadística significativa

1.18. Prueba de rangos múltiples para *Quercus obtusata* frente a los microorganismos probados

Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
QueErwi	8	5.32813	X
QuePm1	15	5.8833	X
QuePm2	15	6.34167	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
QueErwi-QuePm1	-0.555208	1.33601
QueErwi-QuePm2	-1.01254	1.33601
QuePm1-QuePm2	-0.458333	1.11433

*Indica diferencia estadística significativa

1.19. Prueba de rangos múltiples para *Phytolacca icosandra* frente a los microorganismos

Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
Phy Pm1	16	4.41406	X
PhyPm2	15	4.5	X
PhyErwi	16	6.6406	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
PhyErwi-PhyPm1	*-2.2265	0.408863
PhyErwi-PhyPm2	*-2.14063	0.415621
e90 q120 - tag 90 q120	-0.085937	0.415621

* Indica diferencia estadística significativa

Apéndice 2. Mezclas evaluadas a partir de la concentración mínima inhibitoria para fitopatógenos

2.1. Prueba de rangos múltiples para *Erwinia carotovora* frente a las mezclas probadas

Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
37	4	3.6875	X
13TQ	5	4.55	XX
9TE	5	4.7	XX
5TP	4	4.9375	XXX
33CMI	5	5.0	XXX
19QE	4	5.1875	XXXX
6TP	4	5.1875	XXXX
34	5	5.25	XXXXX
36	5	5.3	XXXXX
18QE	5	5.3	XXXXX
2TL	5	5.5	XXXXX
4TL	5	5.55	XXXXX
22QP	5	5.65	XXXXXX
31PL	5	5.65	XXXXXX
20QE	5	5.7	XXXXX
17QE	5	5.75	XXXXXXXX
29PE	5	5.75	XXXXXXXX
14TQ	5	5.8	XXXXXXXX
1TL	5	5.8	XXXXXXXX
8TP	5	5.9	XXXXXXXX
30PL	5	5.92	XXXXXXXX
10TE	5	6.0625	XXXXXXXX
11 TE	4	6.125	X XXXXX
28QL	5	6.15	XXXXXX
7TP	4	6.2175	XXXXXXXX
26QL	5	6.35	XXXXXX
35	5	6.4	XXXXX
12TE	4	6.5	XXXXX
24QP	5	6.55	XXXX
23QP	5	6.65	XXX
3TL	4	6.68	XXX
16TQ	5	6.79	XX
15TQ	5	6.79	XX
32EL	5	6.9	XX
27 QL	5	6.95	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
10TE-13TQ	*1.5125	0.884716
10TE-27QL	*-0.8875	0.884716
10TE-33CMI	*1.0625	0.884716
10TE-37	*2.375	0.932572
10TE-5TP	*1.125	0.932572
10TE-9TE	*1.3625	0.884716
11TE-13TQ	*1.575	0.884716
11TE-19QE	*0.9375	0.932572
11TE-33CMI	*1.125	0.884716
11TE-37	*2.4375	0.932572
11TE-5TP	*1.1875	0.932572
11TE-6TP	*0.9375	0.932572
11TE-9TE	*1.425	0.884716
12TE-13TQ	*1.95	0.884716
12TE-18QE	*1.2	0.884716
12TE-19QE	*1.3125	0.932572
12TE-2TL	*1.0	0.884716
12TE-33CMI	*1.5	0.884716
12TE-34	*1.25	0.884716
12TE-36	*1.2	0.884716
12TE-37	*2.8125	0.932572
12TE-4TL	*0.95	0.884716
12TE-5TP	*1.5625	0.932572
12TE-6TP	*1.3125	0.932572
12TE-9TE	*1.8	0.884716
13TQ-14TQ	*-1.25	0.834118
13TQ-15TQ	*-2.24	0.834118
13TQ-16TQ	*-2.24	0.834118
13TQ-17QE	*-1.2	0.834118
13TQ-1TL	*-1.25	0.834118
13TQ-20QE	*-1.15	0.834118
13TQ-22QP	*-1.1	0.834118
13TQ-23QP	*-2.1	0.834118
13TQ-24QP	*-2.0	0.834118
13TQ-26QL	*-1.8	0.834118
13TQ-27QL	*-2.4	0.834118
13TQ-28QL	*-1.6	0.834118
13TQ-29PE	*-1.2	0.834118
13TQ-2TL	*-0.95	0.834118
13TQ-30PL	* -1.374	0.834118
13TQ-31PL	*-1.1	0.834118
13TQ-32EL	*-2.35	0.834118
13TQ-35	*-1.85	0.834118
13TQ-3TL	*-2.1375	0.888471
13TQ-4TL	*-1.0 0.	0.834118
13TQ-7TP	*-1.6675	0.884716

13TQ-8TP	*-1.35	0.834118
14TQ-15TQ	*-0.99	0.834118
14TQ-16TQ	*-0.99	0.834118
14TQ-23QP	*-0.85	0.834118
14TQ-27QL	*-1.15	0.834118
14TQ-32EL	*-1.1	0.834118
14TQ-37	*2.1125	0.884716
14TQ-3TL	*-0.8875	0.884716
14TQ-9TE	*1.1	0.834118
15TQ-17QE	*1.04	0.834118
15TQ-18QE	*1.49	0.834118
15TQ-19QE	*1.602	0.884716
15TQ-1TL	*0.99	0.834118
15TQ-20QE	*1.09	0.834118
15TQ-22QP	*1.14	0.834118
15TQ-29PE	*1.04	0.834118
15TQ-2TL	*1.29	0.834118
15TQ-30PL	*0.886	0.834118
15TQ-31PL	*1.14	0.834118
15TQ-33CMI	*1.79	0.834118
15TQ-34	*1.54	0.834118
15TQ-36	*1.49	0.834118
15TQ-37	*3.102	0.884716
15TQ-4TL	*1.24	0.834118
15TQ-5TP	*1.852	0.884716
15TQ-6TP	*1.602	0.834118
15TQ-8TP	*0.89	0.834118
15TQ-9TE	*2.09	0.834118
16TQ-17QE	*1.04	0.834118
16TQ-18QE	*1.49	0.834118
16TQ-19QE	*1.602	0.884716
16TQ-1TL	*0.990	0.834118
16 TQ-20QE	*1.09	0.834118
16TQ-22QP	*1.14	0.834118
16TQ-29PE	*1.04	0.834118
16TQ-2TL	*1.29	0.834118
16TQ-30PL	*0.886	0.834118
16TQ-31PL	*1.14	0.834118
16TQ-33CMI	*1.79	0.834118
16TQ-34	*1.54	0.834118
16TQ-36	*1.49	0.834118
16TQ-37	*3.102	0.884716
16TQ-4TL	*1.24	0.834118
16TQ-5TP	*1.852	0.884716
16TQ-6TP	*1.602	0.884716
16TQ-8TP	*0.89	0.834118
16TQ-9TE	*2.09	0.834118
17QE-23QP	*-0.9	0.834118

17QE-27QL	*-1.2	0.834118
17QE-32EL	*-1.15	0.834118
17QE-37	*2.062	0.884716
17QE-3TL	*0.937	0.884716
17QE-9TE	*1.05	0.834118
18QE-23QP	*-1.35	0.834118
18QE-24QP	*-1.25	0.834118
18QE-26QL	*-1.05	0.834118
18QE-27QL	*-1.65	0.834118
18QE-28QL	*-0.85	0.834118
18QE-32EL	*-1.6	0.834118
18QE-35	*-1.1	0.834118
18QE-37	*1.6125	0.884716
18QE-3TL	*-1.3875	0.884716
18QE-7TP	*-0.9175	0.884716
19QE-23QP	*-1.4625	0.884716
19QE-24QP	*-1.3625	0.884716
19QE-26QL	*-1.2625	0.884716
19QE-27QL	*-1.7625	0.884716
19QE-28QL	*-0.9625	0.884716
19QE-32EL	*-1.7125	0.884716
19QE-35	*-1.2125	0.884716
19QE-37	*1.5	0.932572
19QE-3TL	*-1.5	0.932572
19QE-7TP	*-1.03	0.932572
1TL-23QP	*-0.85	0.834118
1TL-27QL	*-1.15	0.834118
1TL-32EL	*-1.1	0.834118
1TL-37	*2.1125	0.884716
1TL-3TL	*-0.8875	0.884716
1TL-9TE	*1.1	0.834118
20QE-23QP	*-0.95	0.834118
20QE-24QP	*-0.85	0.834118
20QE-27QL	*-1.25	0.834118
20QE-32EL	*-1.2	0.834118
20QE-37	*2.0125	0.884716
20QE-3TL	*-0.9875	0.884716
20QE-9TE	*1.0	0.834118
22QP-23QP	*-1.0	0.834118
22QP-24QP	*-0.9	0.834118
22QP-26QL	*-0.7	0.834118
22QP-27QL	*-1.3	0.834118
22QP-32EL	*-1.25	0.834118
22QP-37	*1.9625	0.884716
22QP-3TL	*-1.0.375	0.884716
22QP-9TE	*0.95	0.834118
23QP-29PE	*0.9 0	0.834118
23QP-31PL	*1.0	0.834118

23QP-34	*1.4	0.834118
23QP-37	*2.9625	0.834118
23QP-5TP	*1.7125	0.884716
23QP-9TE	*1.95	0.834118
24QP-31PL	*0.9	0.834118
24QP-34	*1.3	0.834118
24QP-37	*2.8625	0.884716
24QP-5TP	*1.6125	0.884716
24QP-9TE	*1.85	0.834118
26QL-2TL	*0.85	0.834118
26QL-34	*1.1	0.834118
26QL-37	*2.6625	0.834118
26QL-6TP	*1.1625	0.834118
26QL-9TE	*1.6625	0.834418
27QL-29PE	*1.2	0.834118
27QL-2TL	*1.45	0.834118
27QL-30PL	*1.026	0.834118
27QL-31PL	*1.3	0.834118
27QL-33CMI	*1.95	0.834118
27QL-34	*1.7	0.834118
27QL-36	*1.65	0.834118
27QL-37	*3.2625	0.884716
27QL-4TL	*1.4	0.834118
27QL-5TP	*2.0125	0.884716
27QL-6TP	*1.7625	0.884716
27QL-8TP	*1.075	0.834118
27QL-9TE	*2.25	0.834118
28QL-33CMI	*1.15	0.834118
28QL-34	*0.9	0.834118
28QL-36	*0.85	0.834118
28QL-37	*2.4625	0.884716
28QL-5TP	*1.2125	0.884716
28QL-6TP	*0.9625	0.884716
28QL-9TE	*1.45	0.834118
29PE-32EL	*-1.15	0.834118
29PE-37	*2.0625	0.884716
29PE-3TL	*-0.9375	0.834118
29PE-9TE	*1.05	0.834118
2TL-32EL	*-1.4	0.834118
2TL-35	*-0.9	0.834118
2TL-37	*1.8125	0.884716
2TL-3TL	*-1.1875	0.884716
30PL-32EL	*-0.976	0.834118
30PL-33CMI	*0.924	0.834118
30PL-37	*2.2365	0.884716
30PL-5TP	*0.9865	0.884716
30PL-9TE	*1.224	0.834118
31PL-32EL	*-1.25	0.834118

31PL-37	*1.9625	0.884716
31PL-3TL	*-1.0375	0.884716
31PL-9TE	*0.95	0.834118
35-6TP	*1.2125	0.884716
35-9TE	*1.7	0.834118
36-37	*1.6125	0.884716
36-3TL	*-1.3875	0.884716
36-7TP	*-0.9175	0.884716
37-3TL	*-3.0	0.932572
37-4TL	*-1.8625	0.884716
37-5TP	*-1.25	0.932572
37-6TP	*-1.5	0.932572
37-7TP	*-2.53	0.932572
37-8TP	*-2.2125	0.884716
37-9TE	*-1.0125	0.884716
3TL-4TL	*1.1375	0.884716
3TL-5TP	*1.75	0.932572
3TL-6TP	*1.5	0.932572
3TL-9TE	*1.9875	0.884416
4TL-9TE	*0.85	0.834118
5TP-7TP	*-1.28	0.932572
5TP-8TP	*-0.9625	0.884716
6TP-7TP	*-1.03	0.932572
7TP-9TE	*1.5175	0.884716
8TP-9TE	*1.2	0.834118

*Indica diferencia estadística significativa

2.2. Prueba de rangos múltiples para *Pseudomonas marginalis* (1) frente a las mezclas

Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
12TE	5	4.55	X
19QE	4	4.75	XX
27QL	5	4.8	XX
3TL	4	5.0	XX
28QL	5	5.7	XXX
4TL	5	5.7	XXX
23QP	5	5.7	XXX
7TP	4	5.8125	XXX
15TQ	4	6.25	XX
35	5	6.65	X
16TQ	5	8.55	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
12TE-15TQ	*-1.7	1.4511
12TE-16TQ	*-4.0	1.36811
12TE-35	*-2.1	1.36811
15TQ-16TQ	*-2.3	1.4511
16TQ-19QE	*3.8	1.4511
16TQ-23QP	*2.85	1.36811
16TQ-27QL	*3.7	1.36811
16TQ-28QL	*- 2.85	1.36811
16TQ-35	*1.9	1.36811
16TQ-3TL	*3.55	1.4511
16TQ-4TL	*2.85	1.36811
16TQ-7TP	*2.7375	1.4511
19QE-35	*-1.9	1.4511
27QL-35	*-1.8	1.36811
35-3TL	*1.65	1.4511

*Indica diferencia estadística significativa

2.3. Prueba de rangos múltiples para *Pseudomonas marginalis* (1) frente a las mezclas

Método 95 por ciento LSD

Tratamiento	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
19QE	4	4.375	X
12TE	5	4.5	X
6TP	4	4.75	XX
30PL	5	4.75	XX
3TL	3	4.833	XXX
23QP	4	4.9375	XXX
22QP	5	4.95	XXX
1TL	5	5.1	XXX
26QL	5	5.125	XXX
4TL	5	5.15	XXX
8TP	4	5.25	XXX
27QL	5	5.45	XXX
32EL	5	5.5	XXX
16TQ	4	5.8125	XXX
7TP	4	6.32	XXX
35	5	6.424	XX
11TE	3	6.66	XX
16	5	6.85	X
15TQ	4	6.93	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
11TE-12TE	*2.16667	0.99645
11TE-19QE	*2.29167	1.04211
11TE-1TL	*1.56667	0.99645
11TE-22QP	*1.71667	0.99645
11TE-23QP	*1.72917	1.04211
11TE-26QL	*1.564167	0.99645
11TE-27QL	*1.21667	0.99645
11TE-30PL	*1.91667	0.99645
11TE-32EL	*1.16667	0.99645
11TE-3TL	*1.83333	1.11407
11TE-4TL	*1.51667	0.99645
11TE-6TP	*1.91667	1.04211
11TE-8TP	*1.41667	1.04211
12TE-15TQ	*-2.375	0.915298
12TE-16TQ	*-1.3125	0.915298
12TE-27QL	*-0.95	0.862951
12TE-32EL	*-1.0	0.862951
12TE-35	*-1.924	0.862951
12TE-36	*-2.35	0.862951
12TE-7TP	*-1.825	0.915298
15TQ-16TQ	*1.125	0.964809

15TQ-19QE	*2.5625	0.964809
15TQ-1TL	*1.8375	0.915298
15TQ-22QP	*1.9875	0.915298
15TQ-23QP	*2	0.964809
15TQ-26QL	*1.8125	0.915298
15TQ-27QL	*1.4875	0.915298
15TQ-30PL	*2.1875	0.915298
15TQ-32EL	*1.4375	0.915298
15TQ-3TL	*2.10417	1.04211
15TQ-4TL	*1.7875	0.915298
15TQ-6TP	*2.1875	0.964809
15TQ-8TP	*1.6875	0.964809
16TQ-19QE	*1.4375	0.964809
16TQ-30PL	*1.0625	0.915298
16TQ-36	*-1.0375	0.915298
16TQ-6TP	*1.0625	0.964809
19QE-27QL	*-1.075	0.915298
19QE-32EL	*-1.125	0.915298
19QE-35	*-2.049	0.915298
19QE-36	*-2.475	0.915298
19QE-7TP	*-1.95	0.964809
1TL-35	*-1.324	0.862951
1TL-36	*-1.75	0.862951
1TL-7TP	*-1.225	0.915298
22QP-35	*-1.474	0.862951
22QP-36	*-1.9	0.862951
22QP-7TP	*-1.375	0.915298
23QP-35	*-1.4865	0.915298
23QP-36	*-1.9125	0.915298
23QP-7TP	*-1.3875	0.964809
23QP-35	*-1.4865	0.915298
23QP-36	*-1.9125	0.915298
23QP-7TP	*-1.3875	0.964809
26QL-35	*-1.299	0.862951
26QL-36	*-1.725	0.862951
26QL-7TP	*-1.2	0.915298
27QL-35	*-0.974	0.862951
27QL-36	*-1.4	0.862951
30PL-35	*-1.674	0.862951
30PL-36	*-2.1	0.862951
30PL-7TP	*-1.575	0.915298
32 EL-35	*-0.924	0.862951
32EL-36	*-1.35	0.862951
35-3TL	*1.59067	0.99645
35-4TL	*1.275	0.862951
35-6TP	*1.674	0.915298
35-8TP	*1.174	0.915298
36-3TL	*2.01667	0.99645

36-4TL	*1.7	0.862951
36-6TP	*2.1	0.915298
36-8TP	*1.6	0.915298
3TL-7TP	*-1.49167	1.04211
4TL-7TP	*-1.175	0.915298
6TP-7TP	*-1.575	0.964809
7TP-8TP	*1.075	0.964809

*Indica diferencia estadística significativa

Apéndice 3. Comparación en el tiempo para las poblaciones totales de bacterias y hongos

3.1. Bacterias Bosque de *Abies religiosa* *in vitro*

3. AB_TRAT * HORAS

Medida: MEASURE_1

AB_TRAT	HORAS	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
				Límite inferior	Límite superior
BACTERICIDA	1 *	12.667	3.071	6.260	19.073
	2	24.333	2.326	19.481	29.186
E	1	34.000	3.071	27.593	40.407
	2	25.667	2.326	20.814	30.519
L	1	28.333	3.071	21.927	34.740
	2	20.000	2.326	15.148	24.852
P	1	16.333	3.071	9.927	22.740
	2	10.667	2.326	5.814	15.519
Q	1	14.667	3.071	8.260	21.073
	2	9.000	2.326	4.148	13.852
QE	1	7.667	3.071	1.260	14.073
	2	-3.55E-15	2.326	-4.852	4.852
T	1	27.667	3.071	21.260	34.073
	2	16.333	2.326	11.481	21.186
TE	1	6.000	3.071	-.407	12.407
	2 *	3.553E-15	2.326	-4.852	4.852
testigo	1	57.000	3.071	50.593	63.407
	2	57.000	2.326	52.148	61.852
TQ	1	3.000	3.071	-3.407	9.407
	2	9.881E-15	2.326	-4.852	4.852

* Indica diferencia estadística significativa

3.2. Bacterias zona de cultivo *in vitro*

2. directo C. * TIEMPO

Medida: MEASURE_1

directo C.	TIEMPO	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
				Límite inferior	Límite superior
BACTERICIDA	1 *	24.333	4.412	15.130	33.537
	2	163.000	4.549	153.512	172.488
E	1 *	68.333	4.412	59.130	77.537
	2	43.667	4.549	34.179	53.155
L	1 *	50.000	4.412	40.797	59.203
	2	24.333	4.549	14.845	33.821
P	1 *	65.333	4.412	56.130	74.537
	2	32.000	4.549	22.512	41.488
Q	1 *	47.667	4.412	38.463	56.870
	2	24.333	4.549	14.845	33.821
QE	1	5.333	4.412	-3.870	14.537
	2	.000	4.549	-9.488	9.488
T	1 *	60.667	4.412	51.463	69.870
	2	40.667	4.549	31.179	50.155
TE	1	3.667	4.412	-5.537	12.870
	2	.000	4.549	-9.488	9.488
TESTIGO	1	271.333	4.412	262.130	280.537
	2	271.333	4.549	261.845	280.821
TQ	1	3.667	4.412	-5.537	12.870
	2	1.707E-15	4.549	-9.488	9.488

* Indica diferencia estadística significativa

3.3. Bacterias suelo Bosque de *Abies religiosa*

2. S_tratamiento * TIEMPO

Medida: MEASURE_1

S_tratamiento	TIEMPO	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
				Límite inferior	Límite superior
BACTERICIDA	1	155.000	9.004	136.219	173.781
	2	179.000	8.015	162.282	195.718
E	1	85.667	9.004	66.885	104.448
	2	100.000	8.015	83.282	116.718
EQ	1	48.333	9.004	29.552	67.115
	2	189.333	8.015	172.615	206.051
L	1	48.333	9.004	29.552	67.115
	2	53.667	8.015	36.949	70.385
P	1	28.333	9.004	9.552	47.115
	2	166.000	8.015	149.282	182.718
Q	1	31.000	9.004	12.219	49.781
	2	66.333	8.015	49.615	83.051
T	1	69.000	9.004	50.219	87.781
	2	192.000	8.015	175.282	208.718
TE	1	34.333	9.004	15.552	53.115
	2	60.333	8.015	43.615	77.051
TESTIGO	1	72.000	9.004	53.219	90.781
	2	151.667	8.015	134.949	168.385
TQ	1	32.333	9.004	13.552	51.115
	2	180.667	8.015	163.949	197.385

* Indica diferencia estadística significativa

3.4 Bacterias suelo cultivo

2. BACT_SUELO_C * TIEMPO

Medida: MEASURE_1

BACT_SUELO_C	TIEMPO	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
				Límite inferior	Límite superior
BACTERICIDA	1	119.333	9.722	99.053	139.614
	2	174.000	20.029	132.221	215.779
E	1	100.000	9.722	79.720	120.280
	2	147.000	20.029	105.221	188.779
L	1	79.333	9.722	59.053	99.614
	2	141.000	20.029	99.221	182.779
P	1	77.333	9.722	57.053	97.614
	2	103.333	20.029	61.554	145.113
Q	1	71.000	9.722	50.720	91.280
	2	103.667	20.029	61.887	145.446
QE	1 *	69.667	9.722	49.386	89.947
	2	151.667	20.029	109.887	193.446
T	1	85.333	9.722	65.053	105.614
	2	133.000	20.029	91.221	174.779
TE	1 *	84.667	9.722	64.386	104.947
	2	179.333	20.029	137.554	221.113
TESTIGO	1 *	137.333	9.722	117.053	157.614
	2	249.333	20.029	207.554	291.113
TQ	1 *	48.333	9.722	28.053	68.614
	2	127.000	20.029	85.221	168.779

* Indica diferencia estadística significativa

3.5. Hongos suelo de Bosque de *Abies religiosa*

2. suelo abies * TIEMPO

Medida: MEASURE_1

suelo abies	TIEMPO	Media	Error tıp.	Intervalo de confianza al 95%.	
				Límite inferior	Límite superior
E	1	7.333	3.721	-.428	15.095
	2	11.333	2.747	5.604	17.063
FUNGICIDA	1 *	155.000	3.721	147.239	162.761
	2	179.000	2.747	173.270	184.730
L	1	11.000	3.721	3.239	18.761
	2	6.667	2.747	.937	12.396
P	1	5.000	3.721	-2.761	12.761
	2	8.667	2.747	2.937	14.396
Q	1	1.667	3.721	-6.095	9.428
	2	10.000	2.747	4.270	15.730
QE	1	10.000	3.721	2.239	17.761
	2	10.333	2.747	4.604	16.063
T	1	9.000	3.721	1.239	16.761
	2	11.333	2.747	5.604	17.063
TE	1	3.000	3.721	-4.761	10.761
	2	4.667	2.747	-1.063	10.396
TESTIGO	1	40.667	3.721	32.905	48.428
	2	43.667	2.747	37.937	49.396
TQ	1	4.333	3.721	-3.428	12.095
	2	1.195E-14	2.747	-5.730	5.730

* Indica diferencia estadística significativa

3.6. Hongos suelo de cultivo

2. HONGOS C * TIEMPO

Medida: MEASURE_1

HONGOS C	TIEMPO	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
				Límite inferior	Límite superior
E	1	18.000	4.006	9.645	26.355
	2	26.333	6.346	13.095	39.572
FUNGICIDA	1 *	119.333	4.006	110.978	127.689
	2	174.000	6.346	160.761	187.239
L	1	19.333	4.006	10.978	27.689
	2	19.000	6.346	5.761	32.239
P	1	17.333	4.006	8.978	25.689
	2	17.000	6.346	3.761	30.239
Q	1	5.333	4.006	-3.022	13.689
	2	9.667	6.346	-3.572	22.905
QE	1	17.000	4.006	8.645	25.355
	2	22.333	6.346	9.095	35.572
T	1	19.333	4.006	10.978	27.689
	2	26.667	6.346	13.428	39.905
TE	1	19.333	4.006	10.978	27.689
	2	25.667	6.346	12.428	38.905
TESTIGO	1	40.667	4.006	32.311	49.022
	2	43.667	6.346	30.428	56.905
TQ	1	16.000	4.006	7.645	24.355
	2	30.333	6.346	17.095	43.572

* Indica diferencia estadística significativa