

11821
17A



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**"CONTROL DE FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. PHASEOLI CON
ACEITES ESENCIALES IN VITRO"**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :
INGENIERO AGRICOLA
P R E S E N T A :
ARTURO GUZMÁN GUZMÁN

ASESOR : DRA. ROSA NAVARRETE MAYA

CUAUTITLAN IZCALLI EDO. DE MEX.

2003



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.

PAGINACIÓN DISCONTINUA

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

B



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

C. P. A. N.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

" Control de *Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli* con Aceites
Esenciales in Vitro "

que presenta El pasante: Arturo Guzmán Guzmán
con número de cuenta: 9012758-6 para obtener el título de :
Ingeniero Agrícola

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuatitlán Izcalli, Méx. a 13 de febrero de 2003

PRESIDENTE

Dra. Rosa Navarrete Maya

VOCAL

Biol. Elva Martínez Holguín

SECRETARIO

M.C. Ma. del Yazmín Cuervo Usan

PRIMER SUPLENTE

Ing. Javier Carrillo Salazar

SEGUNDO SUPLENTE

Dr. Jesús Jaime Guerra Santos

Dedicatorias

A Dios por darme la oportunidad de vivir.

En memoria a mi padre, quien por sus sencillez y humildad siguen vivo en el corazón de cada uno de los miembros de esta familia:

Federico.

A mi madre, mujer incansable quien me dio la oportunidad de ver la vida de modo diferente:

Amalia

Gracias por tu tenacidad para enfrentar las adversidades de la vida, por dedicar tu tiempo a la formación de cada uno de tus hijos, gracias por ese amor que ha sido un aliento de confianza en mi y que sin tu apoyo no hubiera podido lograr lo que ahora soy.

A mis hermanas: Rosario, Patricia y Cele por su cariño, apoyo y confianza para lograr un objetivo más en mi vida.

A cada uno de mis sobrinos por ser la alegría de esta familia.

D

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por darme la oportunidad de pertenecer a ella y prepararme profesionalmente.

A la carrera de Ing. Agrícola, que me ha dado más de lo que esperaba y formo en mi un compromiso con la sociedad la cual espero retribuir muy pronto.

A la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua por abrirme sus puertas.

A la Dra. Rosa Navarrete Maya por su amistad y colabora con sus conocimientos para el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. José Luis Ibañez González por su valiosa cooperación.

Al Ing. Jorge Navarrete Maya por sus consejos.

A los profesores:

M. C. Yazmin Cuervo Usan.

Biol. Elva Martínez Holguín.

Ing. Edgar Ornelas Díaz.

Ing. Javier Carrillo Salazar.

Dr. Jesús Jaime Guerra Santos.

Por sus recomendaciones para el enriquecimiento de este trabajo.

A quienes me han brindado su amistad: Alma, Yazmin, Laura, Lorena, M. Carmen, Gabriel, Rogelio, F. Acevedo, F. Helguera, Oscar, Cristina, Karla, Jesús, Chepe, Pedro, Héctor, Marcel, Leonardo, Xelstin, Margarita, Alejandra, a la generación 20 ava.

“ POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU ”

CONTENIDO

	Pag.
Indice de cuadros.	III
Indice de figuras.	IV
RESUMEN.	V
I.- INTRODUCCIÓN.	1
1.2.- Objetivos.	2
1.2.1- Objetivo general.	2
1.2.2.- Objetivos particulares.	2
II.- REVISIÓN DE LITERATURA.	3
2.1. El cultivo de frijol <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	3
2.1.1. Antecedentes del frijol.	3
2.1.2. Situación actual del frijol a nivel nacional.	3
2.1.3. Clasificación y descripción botánica del frijol.	6
2.1.4. Requerimientos del cultivo.	7
2.1.5. Ciclo biológico.	8
2.1.6. Fenología.	8
2.1.6.1. Fase vegetativa.	9
2.1.6.2. Fase reproductiva.	10
2.1.7. Hábitos de crecimiento.	10
2.1.8. Plagas y enfermedades.	11
2.2. Marchitamiento o amarillamiento por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> .	11
2.2.1. Clasificación <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> .	11
2.2.2. Antecedentes.	12
2.2.3. Epidemiología.	12
2.2.4. Sintomatología.	12
2.2.5. Mecanismos de control.	13
2.3. El uso de plantas por el hombre.	13
2.3.1. Antecedentes.	13
2.3.2. Las plantas como productos agropecuarios.	14
2.3.3. Aceites esenciales.	14
2.3.4. Transformación.	15

2.4. Alelopatía.	15
2.4.1. Antecedentes.	15
2.4.2. Definición.	16
2.4.3. Organismos productores de alelosubstancias.	16
2.4.4. Acción sobre microorganismos.	17
2.4.5. Naturaleza química.	18
2.4.6. Clase de compuestos alelopáticos.	18
2.4.7. Compuestos fenólicos en plantas.	19
2.4.8. Biosíntesis de compuestos fenólicos en plantas.	21
2.4.9. Defensa por sustancias químicas generadas por la planta.	21
2.4.10. Modos de liberación.	22
III.- MATERIALES Y METODOS.	24
3.1.- Aceite esenciales.	24
3.2.- Microorganismo.	24
3.3.- Crecimiento micelial.	24
3.4.- Diseño experimental.	25
3.5.- Desarrollo del hongo.	25
3.6.- Prueba de fototoxicidad.	26
3.7.- Caracterización de aceites.	26
IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	27
4.1.- Inhibición del crecimiento de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> .	27
4.2.- Desarrollo de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> .	35
4.3.- Prueba de germinación estándar de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	37
4.4.- Principios activos.	40
V.-CONCLUSIONES.	46
VI.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.	47
VII.- ANEXOS.	52

INDICE DE CUADROS

Cuadro.	Titulo.	Pag.
1.	Principales estados productores de frijol en México.	4
2.	Etapas fenológicas del cultivo del frijol.	9
3.	Efecto de organismos productores de alelosubstancias.	16
4.	Principios activos utilizados contra <i>Fusarium moniliforme</i> .	17
5.	Aceites esenciales utilizados en el control de diversos patógenos.	17
6.	Principales compuestos alelopáticos.	18
7.	Arreglo de los diferentes tratamientos.	25
8.	Resultados de la primera evaluación de inhibición del crecimiento en cm ² de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> concentración media (2,500 ppm).	28
9.	Resultado de la segunda evaluación de inhibición del crecimiento en cm ² de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> concentración baja (1,250 ppm).	30
10.	Resultado de la tercera evaluación de inhibición del crecimiento en cm ² de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> concentración alta (3,750 ppm).	32
11.	Resultados del conteo de macro y microconidios de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> desarrollados en PIDA tratado con aceites esenciales a una concentración de 2,500 ppm.	35
12.	Resultados del conteo de macro y microconidios de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> desarrollados en PIDA tratado con aceites esenciales a una concentración de 1,250 ppm.	36
13.	Resultados de la pruebas de germinación estándar de frijol, en toallas absorbentes, tratada con aceites inhibidores de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> .	38
14.	Resultados de peso seco de la prueba de germinación estándar de frijol, en toallas absorbentes, tratado con aceites inhibidores de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> .	39
15.	Resultados de la caracterización de principios activos por cromatografía de gases/masas.	40

INDICE DE FIGURAS

Figura	Titulo	Pag.
1.	Superficie sembrada y cosechada de frijol durante los años (1990-1999).	5
2.	Producción de frijol durante los años 1990 a 1999.	6
3.	Vías a través de las cuales se liberan los agentes alelopáticos al entorno.	23
4.	Grafica de inhibición de crecimiento en cm ² de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> en la concentración media (2,500 ppm).	29
5.	Grafica de inhibición de crecimiento en cm ² de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> en la concentración baja (2,500 ppm).	31
6.	Grafica de inhibición de crecimiento en cm ² de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> en la concentración alta (2,500 ppm).	33
7.	Cromatograma de gases/masa de orégano, con cavacrol como principio activo predominante del aceite.	41
8.	Cromatograma de gases/masa de hierbabuena, con mentona como principio activo predominante del aceite.	42
9.	Cromatograma de gases/masas de tomillo, con carvacrol como principio activo predominante del aceite.	43
10.	Cromatograma de gases/masas de clavo, con eugenol como principio activo predominante del aceite.	44

RESUMEN

Entre los patógenos que afectan al frijol se encuentran *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *F. solani* f. sp. *phaseoli* y *Rhizoctonia solani*, los cuales inducen las pudriciones de las semillas y de las raíces de frijol. Estos hongos tienen una amplia distribución en las regiones productoras de frijol en el país. Entre las estrategias para el manejo de estos patógenos están: las prácticas culturales, el control químico, el uso de variedades resistentes y el control biológico. El uso de agroquímicos se ha vuelto de gran importancia al tratar de incrementar la productividad de los cultivos, sin embargo, el uso constante de estos productos puede originar resistencia en los patógenos, y por su toxicidad pueden ocasionar daños a la salud y/o al ambiente. Una alternativa es el control biológico, en donde destacan el uso de extractos, residuos y aceites de vegetales con propiedades antagonicas, fungistáticas o fungicidas. En esta investigación se planteó como objetivo general evaluar el efecto de 11 aceites vegetales sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, "in vitro", en el laboratorio de Micología de Ingeniería Agrícola de la FES Cuautitlan (UNAM), así mismo se plantearon los siguientes objetivos particulares: 1) evaluar diferentes concentraciones de los aceites vegetales y determinar la óptima para inhibir el crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* "in vitro"; 2) evaluar el desarrollo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* "in vitro", en los aceites que presenten crecimiento y 3) evaluar la fitotoxicidad de los aceites esenciales en plántulas de frijol. Observamos que dos aceites inhibieron completamente el crecimiento del hongo, cuatro aceites fueron fungistáticos en las dosis baja o media, pero fungicidas en la alta. También se observó que cuatro de los aceites fueron promotores del crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. En el testigo el crecimiento del hongo fue óptimo. Los efectos de los aceites hacia las estructuras de reproducción del hongo fueron visibles, presentando un mayor número de éstos en concentración baja y menor en la concentración alta. Por los resultados obtenidos concluimos que es posible controlar el crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* con aceites esenciales, debido al grado de concentración de uno o varios principios activos como carvacrol en orégano y tomillo, mentona en hierbabuena y eugenol en clavo. Además estos aceites no presentaron fitotoxicidad hacia las semillas y plántulas de frijol. El uso de aceites esenciales es una ventaja ecológica porque su degradación es más fácil, tanto en las plantas como en el suelo, lo que no sucede con los agroquímicos.

I.- INTRODUCCIÓN.

En el ecosistema natural existía un equilibrio debido a la gran diversidad de especies vegetales, el cual ha sido alterado en gran medida por la agricultura moderna que mantiene monocultivos además; por el uso de agroquímicos para el control de plagas y enfermedades, con lo que se trata de incrementar la productividad de los cultivos. Sin embargo, el uso constante de estos productos puede ocasionar daños a la salud y al ambiente. En nuestro país la producción de frijol, se ve disminuida en su rendimiento por *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, el cual causa pudriciones radiculares, disminuyendo así el vigor y desarrollo del cultivo. Esta enfermedad se presenta como un serio problema en zonas productoras como: Veracruz, Tamaulipas, Durango, Zacatecas, Sinaloa, Guanajuato y centro de Chiapas, estados donde prevalecen temperaturas de 20 a 28 °C y periodos de sequía durante el ciclo de cultivo. Para combatir a este patógeno se desinfectan las semillas antes de realizar la siembra utilizando fungicidas, lo cual sólo, brindará protección durante el desarrollo de las plántulas, en las etapas fenológicas de germinación (V0) y en la 1ª hoja trifoliada (V3). En la actualidad se han reportado estudios sobre el uso de plantas para el control de diversas enfermedades, donde se han utilizado sus extractos, residuos y aceites, obteniendo respuestas favorables, y hoy se sabe, de un gran número especies de plantas: aromáticas, medicinales, hortalizas y leguminosas, que por sus características químicas tienen la capacidad de: atraer, estimular, repeler e inhibir a los microorganismos. Esta interacción entre plantas y microorganismos, nos permite seleccionar las plantas aromáticas para observar sus efectos sobre el crecimiento y desarrollo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* "in vitro". El uso de estas plantas en el control de plagas y enfermedades puede reducir los problemas de contaminación y abatir los costos de producción en México. Las plantas en sus células son capaces de producir millares de moléculas diferentes, que se agrupan en dos grandes grupos funcionales: los metabolitos primarios y los secundarios. El primero comprende todas las moléculas implicadas directamente en la estructura y la funcionalidad de una célula (glúcocidos, lípidos, aminoácidos y ácidos nucleicos); el segundo, a los productos finales del metabolismo, conocidos como constituyentes químicos y/o los responsables de los efectos terapéuticos, que se conocen como constituyentes activos, que pueden ser una sustancia aislada o una mezcla de principios activos.

Con base en los antecedentes de la producción de metabolitos secundarios en las plantas y el uso de aceites de diversas especies aromáticas en el control de enfermedades, se realizó una investigación para conocer el efecto de algunos aceites sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, que es un inductor de las pudriciones de raíz en frijol.

1. 2.- OBJETIVOS.

1. 2.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de 11 aceites vegetales sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, "in vitro".

1. 2. 2. OBJETIVOS PARTICULARES

Evaluar diferentes concentraciones de los aceites vegetales y determinar la óptima para inhibir el crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* "in vitro".

Evaluar el desarrollo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* "in vitro", en los aceites que presenten crecimiento.

Evaluar la fitotoxicidad de los aceites esenciales en plántulas de frijol.

II.- REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1. El Cultivo del frijol.

2.1.1. Antecedentes del frijol.

El frijol (*Phaseolus vulgaris*, L.) es de origen mexicano, los restos más antiguos de esta planta ya domesticada, se encontraron en las cuevas de Coxcatlán, en el Valle de Tehuacán, Puebla y datan de 4,975 a. c. Debido a la gran variedad arqueológica de *Phaseolus vulgaris* L., y a su grado de endemismo, se ha sugerido una domesticación en Mesoamérica a partir de una especie ancestral, dicha especie era polimórfica, estaba ampliamente distribuida y fue llevada a Europa por los españoles y portugueses en el siglo XVI. Antes de que llegaran los conquistadores a México, la base de la dieta de los indígenas era el maíz y otros cultivos, entre los cuales se encontraba el frijol. En la época precolombina el frijol sustentó la alimentación popular, se conocía con los nombres de: ETL (náhuatl), TATSUNITL (purépecha), X-KALIL-BUL (maya), y BI-ZAAHUL (zapoteco). En la actualidad el frijol en estado seco y fresco se usa principalmente en guisos (Ortiz, 1998; SAGAR, 1998).

2.1.2. Situación actual del frijol a nivel nacional.

La actividad productiva del frijol es relevante para el país debido a que es fuente de empleo e ingreso de un amplio sector de la población rural; además de ser una garantía de seguridad alimentaria, vía autoconsumo. Se considera que el frijol y el maíz aportan prácticamente la totalidad de las proteínas vegetales que consumen principalmente los estratos sociales de bajos ingresos de la ciudad y del campo, lo que ocasiona que exista una gran demanda de este grano.

Por la superficie que ocupa a nivel nacional, la actividad económica que genera y el volumen del grano que se consume por persona, el frijol es el segundo cultivo más importante en México después del maíz. Se cultiva en todos los estados del país, aunque existen algunos que destinan mayor superficie con marcada diferencia en los rendimientos

Para su cultivo destacan las regiones templadas semiáridas y las cálidas con invierno seco, tanto por la superficie sembrada como por el volumen de producción. En México el frijol se produce en los ciclos agrícolas: primavera-verano y otoño-invierno. En el primero se siembra la mayor superficie siendo los principales estados productores: Zacatecas, Durango, Chihuahua, San Luis Potosí y Guanajuato, con 77 % de la superficie total y el 75 % de la producción (Cuadro 1) (SAGARPA, 2000).

Cuadro 1. Principales estados productores de frijol en México (miles de hectáreas).

Estado	Año agrícola			
	1990	1993	1997	1999
Nacional	1 287	1 288	965	1 081
Sub-total	959	1 260	714	845
Zacatecas	486	313	233	218
Sinaloa	99	170	180	264
Durango	111	176	42	85
Nayarit	51	102	73	83
Chihuahua	89	149	83	86
Chiapas	38	60	65	77
Guanajuato	85	56	38	32
Otros	328	262	251	236

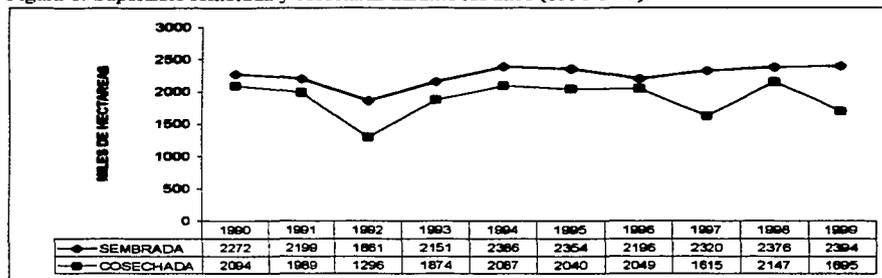
TESIS CON
DE ORIGEN

Fuente: SAGARPA, 2000.

En la región cálida con invierno seco se produce frijol bajo condiciones de riego y humedad residual, donde se obtiene un mayor rendimiento unitario en menor superficie, destacando como productores los estados de Sinaloa y Nayarit, que aportan en conjunto el 76 % de la producción nacional en el ciclo otoño-invierno. Cabe señalar que tanto en Zacatecas como en Durango, su producción corresponde íntegramente al ciclo primavera-verano, mientras que la de Sinaloa corresponde al de otoño-invierno. Zacatecas es el estado productor más importante de frijol a nivel nacional, con una producción promedio de 339 mil toneladas, promedio que se ha visto afectado por una marcada tendencia a la baja; el segundo estado productor es Sinaloa, con un volumen promedio de 171 mil toneladas, con clara tendencia al alza, seguido de Durango con 122 mil toneladas. Aunados a Zacatecas, Sinaloa y Durango, los estados de Chihuahua y Nayarit conforman las cinco entidades con mayor producción de frijol en México. A nivel nacional, en el decenio 1990-1999, la superficie sembrada con frijol se mantuvo relativamente estable, alrededor de los 2 millones de hectáreas en promedio. Sin embargo, en los últimos tres años ha presentado un crecimiento moderado pero, constante.

La mayor superficie cosechada se registró en los años 1990, 1994 y 1998, con una superficie de dos millones cien mil hectáreas aproximadamente, y una producción de un millón trescientos mil toneladas en promedio. Debido al buen régimen de lluvias y a los precios competitivos y rentables al productor, se logró alcanzar la autosuficiencia en el frijol para estos años. Para 1993, 1997 y 1999 (Figura 1), la superficie cosechada se mantuvo en los 2 millones de hectáreas aproximadamente, a pesar de que la superficie siniestrada fue mayor que en otros años de la década, debido a los problemas de sequías e inundaciones (SAGARPA, 2000).

Figura 1. Superficie sembrada y cosechada durante los años (1990-1999).



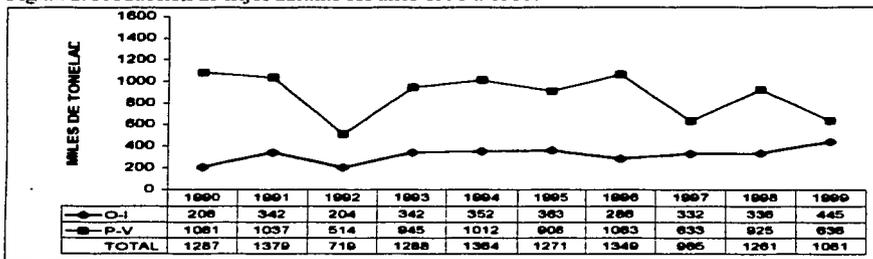
Fuente: SAGARPA, 2000.

Los bajos rendimientos unitarios obedecieron a una serie de factores biológicos y meteorológicos que incidieron fuertemente sobre el cultivo entre los que destacan las sequías en sus diferentes modalidades como el retraso del temporal de lluvias y la insuficiente precipitación pluvial, así como el ataque de plagas y enfermedades. Aunado a lo anterior, los suelos de algunas regiones productoras son deficientes en nitrógeno y fósforo, elementos indispensables para el adecuado desarrollo y producción del frijol.

De acuerdo al régimen hídrico, el comportamiento del rendimiento en áreas de temporal ha dependido, en gran medida, de los efectos climatológicos adversos que merman la productividad, como es el caso de las sequías y las heladas, mientras que en las áreas de riego, los mayores rendimientos han jugado un papel preponderante en cuanto a los niveles de producción alcanzados. La principal entidad federativa en que el frijol se produce bajo estas condiciones es Sinaloa, durante el ciclo de otoño-invierno. El rendimiento promedio bajo condiciones de temporal en los estados como Zacatecas, Chihuahua y Durango, se ubicó en los últimos años, en 512 kg/ha aproximadamente, mismo que resulta distante del rendimiento mínimo de 600 kg/ha del promedio nacional (Figura 2) (SAGARPA, 2000).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 2. Producción de frijol durante los años 1990 a 1999.



Fuente: SAGARPA, 2000.

El aumento de los rendimientos y la productividad en el cultivo de frijol se consideran como el determinante principal para asegurar beneficios económicos al productor dedicado a este cultivo; ésto en relación a la apertura comercial de productores agropecuarios procedentes de mercados internacionales, en donde la calidad y el precio están determinados por el bajo costo de producción (SAGARPA, 2000).

2.1.3. Clasificación y descripción botánica del frijol

Reino Vegetal
 División Tracheofita
 Clase Angiospermae
 Subclase Dicotiledoneae
 Orden Rosales
 Familia Leguminosae
 Subfamilia Papilionoidae
 Tribu Phaseolae
 Subtribu Phaseolinae
 Género *Phaseolus*
 Especie *Phaseolus vulgaris* Linneo.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Fuente: Ortiz, 1998.

El frijol pertenece a la familia de las leguminosas, es una planta herbácea anual; la raíz es pivotante, ramificada en su origen, con presencia de nódulos bacterianos; el tallo es epigeo, corto y robusto o de guía y voluble, con pubescencias cortas y rígidas. Las hojas, excepto las dos primeras cotiledonares, tienen nervadura reticulada, son compuestas, alternas, pecioladas, de color verde claro, trifoliadas y provistas de estípulas persistentes. Las flores son hermafroditas, "amariposadas", agrupadas en racimos; el fruto es una vaina verdadera, de un carpelo carnoso y dehiscente, las semillas generalmente son de diferentes colores, desde blanco hasta negro, pasando por el crema, amarillo, rosa y rojo, la forma puede ser de forma, plana o de bola (Ortiz, 1998).

El frijol es una planta C-3 que realiza fotosíntesis mediante el ciclo de Calvin. Forma nódulos en las raíces que le permiten la fijación biológica del nitrógeno atmosférico. Es predominantemente autógama, aunque presenta un cierto porcentaje de polinización cruzada y tiene un hábito de crecimiento controlado genéticamente, pero puede ser modificado por el ambiente (Meneses *et al.*, 1996).

2.1.4. Requerimientos del cultivo.

El frijol se cultiva principalmente con el fin de obtener producción de semilla seca, y en menor proporción para producción de vaina o frijol ejotero. Este cultivo es vulnerable a diversos factores como son: sequías, heladas tempranas y lluvias en exceso; así como al ataque de plagas y enfermedades. El impacto de estos factores depende de la variedad de que se trate, ya que el frijol desde sus primeras etapas de domesticación se ha cultivado bajo el régimen de temporal. Su crecimiento puede ser determinado o indeterminado y tiene la capacidad de retener la humedad durante su proceso de crecimiento si hay deficiencias hídricas, además de recuperar sus funciones al reanudarse la disponibilidad de líquidos. Su resistencia a la sequía, cambia a través de las etapas fenológicas debido a su resistencia ontogénica (Ortiz, 1998).

Los requerimientos del frijol, determinantes en la producción y que se necesita sean proporcionados para producir de manera eficiente son:

Clima.- El frijol común tienen un desarrollo en regiones templadas y tropicales aunque también se cultiva en zonas semiáridas y áridas, en temperaturas de 15 a 27 °C, siendo la óptima de 20 a 25 °C; temperaturas menores de 0 °C dañan a las plantas, y en mayores de 30 °C se detiene el crecimiento. Es una planta de día corto, ya que los días largos, retrasa la floración en la planta. Le favorecen las lluvias abundantes entre los 1000 y 1500 mm anuales en promedio, aunque las más

adecuadas para temporal son de 300 a 500 mm. y en riego se requiere de 8,000 m³/ha. Esta especie no es resistente a las heladas y a las lluvias excesivas durante la floración, provocando la caída de las flores (Ortiz, 1998).

Suelo.- Se cultiva en suelos cuya textura varía de franco-limosa a ligeramente arenosa, pero tolera bien los suelos franco-arcillosos, crece en suelos con pH entre 5.5 a 7.0 y con una conductividad eléctrica de hasta 1 milimohos/cm. Más allá de esta conductividad hay problemas de toxicidad y requiere pequeñas cantidades de nitrógeno, fósforo y potasio. Esta planta, al ser una leguminosa, posee la capacidad de asimilar nitrógeno atmosférico por medio de los nódulos bacterianos (*Rhizobium sp.*) de sus raíces y, por lo tanto, las necesidades de nitrógeno de la planta de frijol son menores que en las plantas de cereales. Los suelos pesados, húmedos y fríos, causan que el crecimiento sea lento. Los suelos con alto contenido de materia orgánica pueden favorecer un excesivo crecimiento vegetativo de la planta, en perjuicio de la producción de semillas o vainas y en los suelos ligeros se obtiene una producción temprana, pero más reducida (Ortiz, 1998; SAGAR, 1998).

2.1.5. Ciclo biológico.

El ciclo biológico del frijol es de 80 días en las variedades precoces (canarios, pintos y ojo de cabra) del tipo determinado, hasta 180 días en las variedades trepadoras, cultivadas en asociación con maíz y otros cultivos, en altitudes intermedias, con buena disponibilidad de humedad (Escalante y Kohashi, 1993; Ortiz, 1998).

2.1.6. Fenología.

Para comparar el comportamiento agronómico de una variedad sembrada en diferentes ambientes, debemos basarnos en sus etapas fenológicas más que en la edad cronológica (Ortiz, 1998).

La duración de las etapas de desarrollo del frijol está influenciada por el genotipo (variedad), hábito de crecimiento, clima, fertilidad del suelo, radiación solar y fotoperiodo. Las diferentes etapas de desarrollo del frijol han sido definidas en fases vegetativas y reproductivas (Cuadro 2) (Escalante y Kohashi, 1993).

2.1.6.1.-Fase Vegetativa.

Etapa V0 de germinación. Es la reanudación del crecimiento del embrión. Se considera como inicio de la etapa V0, el día en que la semilla tiene a su disposición suficiente humedad para emerger y consecuentemente, iniciar la germinación.

Etapa V1 de emergencia. Esta etapa se inicia cuando en el 50% de la población esperada en un cultivo, los cotiledones aparecen al nivel del suelo, enseguida de que emerge el gancho plumular.

Etapa V2 de hojas primarias. Cuando el 50 % de las plantas muestran las hojas primarias, que son simples y están en posición opuesta en el nudo 2, están completamente desplegadas. El desarrollo continúa con la expansión de las hojas primarias y de los folíolos de las hojas compuestas o trifoliadas, mismos que se encuentran plegados; su desarrollo posterior implica la continuación de su expansión y despliegue.

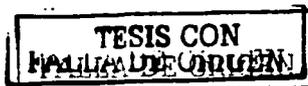
Etapa V3 de primera hoja trifoliada. Cuando la planta presenta la primera hoja trifoliada completamente abierta y ubicada en un plano.

Etapa V4 de tercera hoja trifoliada. Cuando la tercera hoja compuesta se encuentra completamente desplegada y los folíolos se localizan en un solo plano. En esta etapa la tercera hoja trifoliada continúa con la expansión y el crecimiento de las siguientes hojas compuestas así como del tallo. (Escalante y Kohashi, 1993; Ortiz, 1998).

Cuadro 2. Etapas fenológicas del cultivo del frijol.

FASE	P	ETAPAS
VEGETATIVA	V0	Germinación
	V1	Emergencia
	V2	Hojas primarias
	V3	1°. Hoja trifoliada
	V4	2°. Hoja trifoliada
REPRODUCTIVA	R5	Pre-floración
	R6	Floración
	R7	Formación de vainas
	R8	Llenado de vainas
	R9	Maduración

Fuente: Escalante y Kohashi, 1993, Ortiz, 1998.



2.1.6.2.- Fase reproductiva.

Etapa R5 de prefloración. Aparición en las plantas del primer botón o del primer racimo.

Etapa R6 de floración. Cuando la planta presenta la antesis de la primera flor (la primera flor abierta). Las flores permanecen frescas, turgentes y poseen la coloración característica de la especie, lo cual sucede solamente el mismo día de la antesis. Al siguiente día se tornan flácidas, marchitas y cambian de color. Tres o cuatro días después de la antesis, la corola se marchita y puede estar colgando, próxima a desprenderse o puede haberse desprendido, dejando visible la vaina joven.

Etapa R7 de formación de vainas. Cuando la planta presenta la primera vaina con la corola de la flor colgada o desprendida. Esto sucede alrededor de tres o cuatro días después de la antesis.

Etapa R8 de llenado de las vainas. Cuando la planta empieza a llenar la primera vaina, debido a que se inicia un crecimiento acelerado de las semillas, las cuales alcanzan su máximo peso, alrededor de 40-45 días después de la antesis. La semilla tiene un color verde, en la etapa R8 adquiere el color característico de la variedad.

Etapa R9 de maduración, se caracteriza por la decoloración y el secado de las vainas. En un cultivo, el inicio de esta etapa se considera cuando la primera vaina inicia el proceso citado en el 50% de las plantas. Al final del ciclo la planta ha perdido todos los folíolos, quedando algunas veces el raquis unido a los tallos y las vainas unidas a la plantas (Escalante y Kohashi, 1993; Ortiz, 1998).

2.1.7. Hábitos de crecimiento.

Las variedades de frijol presentan dos hábitos de crecimiento: el determinado y el indeterminado. El frijol se clasifica de acuerdo al hábito de crecimiento con base en los siguientes caracteres: a) al tipo de desarrollo de la parte terminal del tallo, determinado o indeterminado, b) al número de nudos, c) a la longitud de los entrenudos y la altura de la planta, d) a la aptitud para trepar y e) al grado y tipo de ramificación, se incluye aquí el concepto de "guía" definido como la parte de tallo y/o ramas que sobresalen por encima del cultivo (Ortiz, 1998).

Las plantas de hábito de crecimiento determinado o tipo de mata, se caracterizan porque son arbustivas y presentan en la etapa de floración, además de racimos axilares, el racimo terminal del tallo principal y en las ramificaciones, lo cual ocasiona la detención del crecimiento vegetativo. En las plantas de hábito de crecimiento indeterminado, el ápice del tallo y de las ramas presenta yemas vegetativas, y los racimos son solamente axilares. En este hábito de crecimiento, puede ocurrir que por los factores ambientales adversos tanto el tallo principal como las ramas crezcan en forma limitada y con apariencia de tipo de mata o arbusto (Escalante y Kohashi, 1993, Ortiz, 1998).

Todas las plantas de hábito de crecimiento indeterminado continúan creciendo durante la etapa de floración. Entre los mejoradores de frijol, esta clasificación está muy difundida y es la manera cómo identifican de que tipo son los materiales genéticos que evalúan, seleccionan, cruzan y liberan como variedades mejoradas. Sin embargo, el tipo de crecimiento es una característica que puede sufrir cambios de una localidad a otra dependiendo de los factores ambientales, o bien en una misma localidad, cambiando la densidad de población (Escalante y Kohashi, 1993; Ortiz, 1998).

2.1.8. Plagas y enfermedades.

Las plagas que dañan las hojas, las vainas y las semillas de frijol son: la conchuela (*Epilanchna varivestis*), la chicharrita (*Aceratogalia sanguinolenta*), el picudo del ejote (*Chalcodermus aenus*), los minadores de las hojas (*Liriomyza huidobrensis*), la mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) y los gorgojos (*Acanthoscelides obtectus* y *Zabrotes subfascinatus*) que atacan al frijol almacenado (SARH, 1992).

En lo que respecta a las enfermedades que atacan al frijol, las causadas por hongos son: la antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*), la roya o chahuxtle (*Uromyces appendiculatus* var. *appendiculatus*), las pudriciones de raíz ocasionadas por *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* spp; las ocasionadas por bacterias como el tizón común (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*) y el tizón de halo (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*); entre las virales están el virus del mosaico amarillo del frijol (VMA) y el virus del mosaico dorado del frijol (VMD). También las hay inducidas por nemátodos como el agallador (*Meloidogyne incognita*). Todas estas son las que ocasionan los principales daños (SARH, 1992; Ortiz, 1998; SAGAR, 1998).

2.2. Marchitamiento o amarillamiento por *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

2.2.1. Clasificación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Clase: Deuteromycetos.

Subclase: Hyphomycetidae.

Orden: Moniliales.

Familia: Moniliaceae.

Género y especie: *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*

Fuente. Campos, 1991, SARH, 1992.

2.2.2. Antecedentes.

La producción de frijol en nuestro país se ve disminuida en su rendimiento por *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, el cual causa pudriciones radiculares, disminuyendo así el vigor y desarrollo de dicho cultivo. Esta enfermedad se presenta como un serio problema en zonas productoras como: Veracruz, Tamaulipas, Durango, Zacatecas, Sinaloa, Guanajuato y centro de Chiapas, estados donde prevalecen temperaturas de 20 a 28 °C y periodos de sequía durante el ciclo del cultivo. Para combatir a este patógeno, se desinfectan las semillas utilizando fungicidas antes de realizar la siembra; sin embargo, sólo da protección durante el desarrollo de las plántulas en las etapas fenológicas de germinación (V0) a la 1ª. hoja trifoliada (V3). El uso de fungicidas se ha vuelto un factor de gran importancia al tratar de incrementar la productividad de los cultivos; sin embargo el uso constante de estos productos puede originar resistencia en los patógenos, y por su toxicidad pueden ocasionar daños a la salud y/o al ambiente (Campos, 1991; SARH, 1992).

2.2.3 Epidemiología.

Este patógeno se caracteriza por la producción de abundante micelio, conidióforos ramificados y tres tipos de esporas asexuales que son los microconidios, los macroconidios y las clamidosporas. Estas últimas se producen en forma abundante en los tejidos de la planta y son las estructuras que permiten la supervivencia del hongo en el suelo por largos periodos. El ataque del hongo generalmente se inicia cerca del extremo apical de la raíz aunque también pueden penetrar a través de heridas que se produzcan en otras partes de la raíz, o del tallo. El patógeno puede diseminarse por medio de residuos de cosechas que estén infectados, o bien por suelo infectado que llega a contaminar las semillas. Se conocen a fecha nueve razas fisiológicas de éste patógeno (Campos, 1991; SARH 1992).

2.2.4. Sintomatología.

La infección se efectúa en el hipocotilo y en la raíz, primero en forma de manchas rojizas, cuando la plántula tiene de 8 a 15 días de nacida; a medida que la enfermedad avanza, las lesiones se unen y se tornan de color café-rojizo, extendiéndose hasta el cuello de la raíz. Los síntomas del daño se inician con un amarillamiento de las hojas inferiores de la planta, que progresa hacia la parte superior de la misma, produciendo un envejecimiento prematuro de las hojas. El hongo produce un taponamiento del sistema vascular, siendo esta la razón del amarillamiento y envejecimiento de las hojas. Las plantas afectadas generalmente se marchitan y posteriormente mueren; las plantas que sobreviven llegan a producir muy pocas vainas (Campos, 1991; SARH 1992).

2.2.5 Mecanismos de control.

Para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* es necesario realizar una buena planificación previa al establecimiento del cultivo; para ello es recomendable realizar labores culturales de control, como una nivelación para evitar excesos de humedad en el suelo y eliminar residuos de cosechas para evitar el desarrollo del hongo. Es recomendable realizar una buena fertilización para favorecer un crecimiento vigoroso del cultivo, además de utilizar variedades resistentes a la enfermedad. En terrenos con problemas críticos de *F. oxysporum*, es necesario hacer una rotación de cultivos con cereales por períodos largos de tiempo (5 años), lo cual permite reducir la cantidad de inóculo y, consecuentemente, la severidad de la enfermedad.

También es necesario desinfectar las semilla antes de realizar la siembra, utilizando fungicidas (control químico); la cual sólo dará protección contra el patógeno, en el desarrollo de las plántulas en las etapas fenológicas de germinación (V0) y la 1ª hoja trifoliada (V3).

Para obtener mejores resultados se sugiere que se implemente un manejo integrado, combinando las metodologías ya indicadas (control cultural y químico), esto con el fin de evitar que se presente un daño crítico del patógeno en la siembra de frijol (Campos, 1991; SARH, 1992).

2.3. El uso de plantas por el hombre.

2.3.1 Antecedentes.

Las plantas son esenciales en la vida del hombre y han sido utilizadas por él desde tiempos muy remotos, a partir de la recolección para su alimentación; además de darle diversos usos como: medicinales, para la obtención de fibras y madera, para conservación y aromatización de alimentos, en droguería y en la cosmetología.

Del uso de las plantas medicinales y aromáticas se tienen antecedentes de que al menos 2.500 años a. c., los sumerios y acadios contaban con un herbario en el cual tenían unas 250 especies medicinales y varios fármacos de origen vegetal. China en esta época ya trataba afecciones pulmonares, circulatorias y otras dolencias utilizando plantas con propiedades medicinales.

En cuanto a la extracción de esencias de plantas aromáticas y su uso, existen un gran número de escritos y dibujos que muestran la existencia de civilizaciones muy antiguas que ya realizaban esta práctica. Se sabe que al menos desde el siglo XXV a. c., en Egipto ya se obtenía aceite de cedro por destilación utilizando un alambique. A partir del siglo XIX, con la aplicación del microscopio y

la química analítica, se desarrollaron técnicas y métodos de extracción, separación, aislamiento e identificación de aceites esenciales así como de los principios activos de las plantas; la destilación de aceites de especies vegetales ya se practicaba en China, India y Persia desde hace milenios. (Fundación Martínez E. A., 1999, Muñoz, 2000).

2.3.2. Las plantas como productos agropecuarios.

De acuerdo a los diversos usos que tienen las diferentes especies vegetales se pueden clasificar en dos grupos:

1.-Planta entera o partes de la misma, en fresco o desecadas.

2.-Extractos, aceites esenciales y oleoresinas obtenidas como primera transformación de las plantas.

Estos grupos forman parte de la materia prima para la industria, alimentaria, farmacéutica, perfumería-cosmética y química (fitosanitaria), que son los principales destinos de las plantas.

De acuerdo al grado de proceso, transformación o preparación existen cuatro grupos de productos principales.

1.- Material vegetal en fresco.

2.- Gránulos secos, planta entera o parte de ella, preferentemente desecada.

3.- Aceites esenciales, productos de la destilación de las plantas aromáticas.

4.- Extractos de base, como resultado del proceso de extracción de los principios activos.

En la agricultura los principios activos pueden tener un amplio rango de acción en el control fitosanitario utilizándolos como: herbicidas, insecticidas, fungicidas, nematocidas, y acaricidas (Fundación Martínez, 1999; Muñoz, 2000).

2.3.3 Aceites esenciales.

Los aceites esenciales, son un líquido contenido en pequeñas cantidades en diferentes partes de la planta, son sustancias aromáticas extraídas de flores, frutos, hierbas, maderas y raíces; Estas sustancias aromáticas con diversas propiedades, se extraen por diversos métodos, siendo la destilación por arrastre de vapor el más utilizado (Fundación Martínez E. A., 1999, Muñoz, 2000).

Desde el punto de vista químico son sustancias constituidas por átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno, generalmente en mezclas complejas de hasta más de 100 componentes; además, estos comprenden la más extensa cantidad de agentes alelopáticos como: fenoles, derivados del ácido benzoico, derivados del ácido cinámico, quinonas, cumarinas, flavonoides y taninos (Valencia, 1995; Sampietro, 1999).

2.3.4. Transformación.

El cultivo de plantas aromáticas y medicinales implica necesariamente una transformación del producto verde. Esta transformación puede ser por destilación y por secado.

La destilación es el proceso de transformación mediante el cual se obtienen los aceites esenciales. La producción de aceite esencial depende de la especie, la variedad, las condiciones de cultivo y ambientales a las que han estado sometidos los cultivos, los años de cultivo y de las propias características de la destilación. La destilación es un proceso físico muy sencillo y el sistema más común utilizado, es por arrastre de vapor de agua. Este sistema no necesita de instalaciones muy sofisticadas y tiene un rendimiento muy alto obteniéndose una calidad de esencias muy buena.

El secado es el proceso de transformación por el cual se obtienen plantas o partes de la planta seca. El objetivo de este proceso es doble; por un lado, se pretende estabilizar y conservar las mismas propiedades y principios activos que contiene la planta fresca, y por otro, evitar procesos físico-químicos de degradación del material. Por eso, el material debe secarse hasta un contenido de humedad entre el 10% y el 11% (Fundación Martínez E. A, 1999; Muñoz, 2000).

2.4. Alelopatía

2.4.1 Antecedentes.

En el ambiente existen una gran diversidad de especies vegetales que se regulan entre sí y/o a otros organismos, por medio de la producción y liberación de repelentes, atrayentes, estimulantes e inhibidores químicos. A esta interacción que se da entre planta-planta, planta-vertebrado, planta-insecto y planta-microorganismos se le denomina alelopatía, sus efectos pueden ser en beneficio o perjuicio, efectos que están regidos por manifestaciones de mayor o menor grado, según sean las características de los organismos involucrados. Los vegetales cuentan con numerosas rutas de biosíntesis, de las cuales sintetizan y acumulan en sus órganos una gran variedad de metabolitos secundarios, estas sustancias se denominan aleloquímicos y el fenómeno en el cual están involucradas se designa con el nombre de aleloquimia (Martínez, 1996; Sampietro, 1999).

2.4.2 Definición.

En el siglo I a. c. Plinio el viejo en su Historia Natural es el primero en observar lo que sucede con los vegetales en su entorno. Decandolle en 1832, hace referencia de lo que sucede en el trigo y en las judías al exponerlos a extractos y exudados de otras especies, y es hasta 1937, que Molisch define el término alelopatía (del griego allelo = uno al otro, del griego phatos = sufrir; efecto injurioso de uno sobre otro), para referirse a los efectos perjudiciales o benéficos que son liberados por una planta y que ejercen su acción en otra. Es en 1984 que la bióloga Elroy L. Raice, amplía esta definición en la que incluye a microorganismos como hongos y bacterias. Los compuestos citados que desencadenan el proceso se denominan, agentes o sustancias alelopáticas

La alelopatía es pues la interacción de las relaciones entre las plantas que al producir y liberar ciertas sustancias favorecen el desarrollo de plantas y/o inhiben la germinación de otras, así como el uso de las mismas para evitar el ataque de diferentes plagas y enfermedades a las que pueden ser susceptibles. (Martínez, 1996; Sampietro, 1999).

2.4.3. Organismos productores de alelosustancias.

En la actualidad se han identificado alelosustancias, producidas y liberadas por organismos, destacando los fenoles y sus derivados, entre los que se encuentran una diversidad de sustancias sintetizadas con fines presuntamente alelopáticos (Cuadro 3).

Cuadro 3. Efecto de organismos productores de alelosustancias.

Organismo	Alelosustancia	Efecto
Hongos. Algas.	Fenoles, isoprenoides, compuestos nitrogenados.	No determinado.
Líquenes	Poliacetatos.	Antibacteriana
Helechos	Fenoles	Inhibir la germinación en diferentes semillas.
Monocotiledóneas y dicotiledóneas.	Fenoles, ácidos grasos, alcaloides, isoprenoides, etc.	Autotoxicidad, antibiótica, fungicida, insecticida, médica, inhibidor, promotor y/o retardador en la germinación de algunas semillas.

Fuente. Avila, 1998.

Como se observa, las especies vegetales tienen la capacidad de ejercer efectos, tanto positivos o negativos, sobre otras plantas, animales y/o microorganismos, por la producción de alelosustancias que se produce en diferentes partes de la planta y se liberan al medio ambiente.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN.

2.4.4. Acción sobre microorganismos.

Al hablar sobre la acción en hongos y bacterias debe diferenciarse entre las sustancias atrayentes, segregadas por las raíces en el suelo, y las sustancias directamente orientadas al beneficio o perjuicio de los microorganismos, esta última acción, por parte de las plantas, puede interpretarse tanto como una forma de competencia frente a otros vegetales, o de evitar infecciones de hongos y/o bacterias.

Es necesario aclarar que no todos los principios activos de las plantas tienen un efecto alelopático, sobre todo aquellos compuestos que actúan como estimulantes de la germinación de propágulos de hongos patógenos y como atrayentes de nemátodos (Avila, 1998), (cuadro 4).

Cuadro 4. Principios activos utilizados contra *Fusarium moniliforme*.

Aceite esencial	Principio activo	Efecto
Tomillo (<i>T. vulgaris</i>)	Timol	
Hierbabuena (<i>M. piperita</i>)	Mentol	
Orégano (<i>O. vulgare</i>)	Timol	Fungicida
Canela (<i>C. zeylanicum</i>)	Aldehído cinámico	
Clavo (<i>S. aromaticum</i>)	Eugenol	
Eucalipto (<i>E. globulus</i>)	Cineol	Estimulante de crecimiento

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Fuente: Montes *et al.*, 1998.

En los microorganismos se observan tres posibles casos de aleopatía: 1) sustancias que afectan sólo a microorganismos, 2) sustancias que afectan sólo a la planta, 3) sustancias que afectan a ambos (Avila, 1998).

En el cuadro 5 se indican algunos aceites empleados para el control en diversos patógenos.

Cuadro 5. Aceites esenciales utilizados en el control de diversos patógenos.

Patógeno.	Especie vegetal.
<i>Aspergillus flavus</i> .	Clavo, orégano, canela, eucalipto, albahaca y epazote.
<i>Fusarium moniliforme</i> .	Romero, clavo, laurel, orégano, canela hierbabuena, eucalipto, clavo, epazote y albahaca.
<i>Fusarium oxysporum f. sp lycopersicum</i> . <i>F. oxysporum f. sp. conglutinans</i> . <i>Gibberella fujikuroi</i> .	Pasto limón, tomillo, cebolla, orégano, clavo, pimienta gorda y mejorana.

Fuente: Montes *et al.*, 1998.

2.4.5. Naturaleza Química.

Las células vegetales son capaces de producir una gran diversidad de moléculas diferentes, agrupadas en dos grandes grupos funcionales: el grupo de los metabolitos primarios y el de los metabolitos secundarios. El primero abarca todas las moléculas implicadas directamente en la estructura y la funcionalidad de una célula (glúcocidos, lípidos, aminoácidos y ácidos nucleicos) y el segundo a los productos finales del metabolismo, conocidos como constituyentes químicos que son responsables de los efectos terapéuticos se conocen como constituyentes activos, pudiendo ser, alcaloides, glicósidos, enzimas, hormonas, vitaminas, o una mezcla de principios que incluye a: aceites fijos, grasa, ceras, aceites volátiles, resinas, oleorresinas, gomorresinas y/o bálsamos (Valencia, 1995).

2.4.6. Clases de compuestos alelopáticos.

En los años 60, gracias a los avances tecnológicos como el análisis cromatográfico, se logró identificar casi la totalidad de los componentes de las plantas conocidos como metabolitos secundarios, de los que se han identificado tres grandes grupos con propiedades alelopáticas, con base en las moléculas de las que proceden, llamadas "bisagras" que son: fenoles, isoprenoles y alcaloides (cuadro 6). Estos compuestos comprenden sustancias de naturaleza muy diversa, siendo en ocasiones difícil, su clasificación en un grupo u otro; con frecuencia son sustancias fenólicas con anillos aromáticos y la clasificación atiende a la característica química más notable (Valencia, 1995; Martínez, 1996).

Cuadro 6. Principales compuestos alelopáticos.

Grupo	Compuestos	Subgrupos
Fenoles	Timol	Ácido cinámico. Cumarinas.
y	Ácido gálico	Derivados antocianicos.
derivados	Ácido siríngico.	Flavonoides. Taninos. Alcaloides.
Terpenos	Limoneno, pineno	

Fuente. Avila, 1998.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.4.7. Compuestos fenólicos en plantas.

Los compuestos fenólicos abarcan un gran número de sustancias que poseen un anillo aromático unido a uno o más sustituyentes hidroxilos (-OH). Los fenoles suelen ser más hidrosolubles y, por tanto quedan incluidos en la solución del suelo; algunos son responsables de las coloraciones amarillas frecuentes en las plantas, como los antocianos, los flavonoles o los aromáticos; otros pueden formar taninos (te, madera de encina y castaño), que actúan como herbicidas eficaces. Se sabe que estos compuestos fenólicos se encuentran universalmente en todos los órganos de las plantas (raíz, tallo, hoja, flor y fruto).

La actividad fisiológica de los compuestos fenólicos de las plantas es muy diversa. Algunos de ellos pueden actuar en la fisiología de las plantas que los contienen, otros juegan un papel importante en la ecología, como por ejemplo, compuestos que tienen la capacidad de inhibir la germinación de semillas, el proceso de transporte de las membranas y de algunos tipos de hormonas de crecimiento; los fenoles que absorben luz ultravioleta pueden desempeñar algún tipo de función al guiar a los insectos en la polinización de flores, ciertas plantas parecen tener resistencia a los ataques de hongos como resultado del contenido de fenoles, aunque en ocasiones no hay ninguna relación. Hay constituyentes fenólicos que son repelentes o tóxicos a los herbívoros, mientras que otros afectan la reproducción de los roedores; la fuerte acción irritante de la hiedra venenosa, del sumac y de otros miembros de las Anacardiáceas se debe a la presencia de orto difenoles con largas cadenas insaturadas. Irritantes similares, pero menos poderosos, se encuentran en los frutos de *Ginkgo biloba* y en la raíz de ginger. Los compuestos fenólicos se dividen en varias categorías que incluyen a los flavonoides, taninos, ligninas y ácido salicílico (CIQA, 1985; Valencia, 1995).

Los flavonoides, químicamente derivan de la benzo-pirona, que se encuentra en las vacuolas de las células, en mayor o menor concentración, y son los pigmentos, generalmente hidrosolubles, responsables de las coloraciones amarillas de muchas plantas. Han sido descritos más de 3000 flavonoides, por lo que se considera como el grupo más grande de compuestos fenólicos vegetales y es el que más se ha estudiado dentro de los metabolitos secundarios. Los flavonoides están divididos en varias clases que incluyen: antocianinas, chalconas y flavonoles. Los pigmentos en las flores actúan como señales visuales para atraer aves y abejas polinizantes. Los flavonoides desempeñan un papel de gran importancia en las relaciones ecológicas, como medio de defensa de las plantas contra otros organismos: herbívoros y microorganismos patógenos, ya que muchos de ellos son tóxicos para animales y otras plantas, o al menos repelentes. (Seigler, 1998; Michel, 1999).

Los taninos son un grupo de constituyentes fenólicos de las plantas, poseen sabor astringente y la propiedad de convertir la piel en cuero. Están ampliamente distribuidos en las plantas y generalmente se localizan en partes específicas, en la corteza, frutos, tallos u hojas, en donde se presentan en concentraciones relativamente altas. Los taninos forman parte de los compuestos que mayor importancia han tenido en la evolución de las plantas, especialmente las arborescentes, debido a que desempeñan en forma efectiva un papel muy importante en la protección de la planta contra el ataque de vertebrados, insectos herbívoros, organismos patógenos como hongos, bacterias y virus. Su sabor astringente es el que repele a los insectos, reptiles, pájaros y otros animales. Los taninos se encuentran secuestrados en las vacuolas para proteger a los otros componentes celulares (CIQA, 1985; Valencia, 1995; Seigler, 1998).

Las ligninas se encuentran en la pared celular, más que en las vacuolas, como en el caso de los flavonoides. Las ligninas son polímeros formados por tres tipos de monómeros: p-cumaril, coniferil y alcoholes sinapílicos. La cantidad relativa de cada monómero difiere significativamente, dependiendo de dónde se forma la lignina (gimnospermas, angiospermas leñosas o pastos). La mayor importancia de la lignina es la fuerza compresiva y la rigidez que brinda a la pared celular. También impermeabiliza la pared celular, facilita el transporte vertical de agua en las células del xilema y limita el movimiento del agua hacia afuera. Además, ayuda a las células que conducen el agua a resistir la tensión generada por la misma. Este compuesto fenólico juega un papel importante, por su formación en respuesta a varios tipos de daños y ataques por hongos. La llamada "lesión de lignina" protege la planta del ataque de hongos, incrementando la resistencia de las paredes a la penetración mecánica, protegiéndola de la actividad enzimática fúngica y reduciendo la difusión de las enzimas y toxinas del hongo a la planta. Esto ha sugerido que la lignina puede funcionar primero como un agente antifúngico y antibacteriano, y sólo después asume un papel en el transporte de agua y como soporte mecánico en la evolución de las plantas terrestres.

El ácido salicílico, ingrediente activo de la aspirina, fue primeramente conocido por sus propiedades analgésicas. Recientemente, sin embargo, se ha descubierto el modo de acción de este ácido fenólico en el tejido vegetal: es esencial para el desarrollo de la resistencia sistémica adquirida, inducida o provocada. Dicha resistencia se desarrolla en respuesta a un ataque localizado por bacterias, hongos o virus patógenos, dando como resultado que otras porciones de la planta sean provistas de una protección de larga duración contra el mismo patógeno u otro relacionado (Seigler, 1998; Michel, 1999).

2.4.8. Biosíntesis de compuestos fenólicos en plantas.

La mayoría de los agentes alelopáticos son metabolitos secundarios que pueden ser sintetizados por dos vías metabólicas, ya sea del acetato-mevalonato o del ácido shikímico, o por la combinación de ambas rutas de biosíntesis. De la ruta metabólica del acetato-mevalonato son sintetizados los terpenos, esteroides y ácidos orgánicos solubles en agua. De la vía metabólica del shikímico provienen los fenoles simples, el ácido cinámico, coumarinas, taninos hidrolizables y condensados. Un caso particular es el de los flavonoides en cuya síntesis participan metabolitos de las dos rutas. La concentración de estos compuestos en los tejidos varía según el ritmo de biosíntesis, almacenamiento y degradación, así como por los balances internos de reguladores del crecimiento vegetal y otros factores bióticos y abióticos. Los compuestos secundarios no son de valor ni esenciales en la supervivencia de la planta, por ello se les da esta clasificación, y surgen del metabolismo primario por una extensión o por una reacción lateral de una ruta metabólica esencial. En otras palabras, se puede esperar que los aminoácidos primarios, purinas, ácidos grasos o intermediarios de su síntesis, pueden generar a los metabolitos secundarios acumulados por las plantas y microorganismos, y se cree que ha ocurrido alguna evolución bioquímica (Martínez, 1996., Sampietro, 1999)

2.4.9. Defensa por sustancias químicas generada por la planta.

Los patógenos penetran a los tejidos y las células de las plantas cuando no se genera ningún tipo de barrera estructural y, sin embargo, el patógeno no ocasiona la propagación o daño. Esto demuestra que existen otros mecanismos de defensa a través de sustancias químicas, como la síntesis que genera la misma planta sólo durante o a continuación de una invasión patogénica. Algunos de los agentes químicos producidos de esa forma se hallan en concentraciones lo bastante altas como para inhibir el desarrollo de los hongos y bacterias que, por lo tanto, son incapaces de infectar a la planta. Se han identificado más de 10,000 productos químicos que intervienen en la defensa de las plantas, siendo en su mayoría de naturaleza fenólica, como los ácidos clorgénico y caféico, los productos de la oxidación de los compuestos fenólicos y las fitoalexinas que, en su mayoría, también son compuestos fenólicos .

Las fitoalexinas son sustancias tóxicas que la planta produce sólo después de haber sido estimulada por algún microorganismo fitopatógeno (hongos, bacterias, virus y nemátodos), o bien después de haber sufrido daños causados por agentes químicos o mecánicos. Las fitoalexinas se producen por las células sanas adyacentes a las células necróticas y/o dañadas, en respuesta a las

sustancias que difunden a partir de las células afectadas. En las fitoalexinas que se han estudiado, se incluyen a la faseolina y a la quevitona en frijol, la pisatina en chicharo, la gliceolina en soya, alfalfa y trébol, la risitina en papa, el gospol en algodón y el capsidiol en chile (Agrios, 1995., Michel, 1999).

2.4.10. Modos de liberación.

El modo de liberación de las sustancias alelopáticas depende de su naturaleza química, y de las zonas en donde son almacenados y sintetizados por las células de la planta. Las formas de liberación de estas sustancias regularmente se lleva a cabo por volatilización y por exudados de las raíces, pero éstas no son las únicas formas. Las formas de liberación son:

Volatilización. Esta se da en plantas que producen terpenoides, como es el caso de especies aromáticas, entre las que se encuentra un gran número de compuestos volátiles con capacidad alelopática. Estos compuestos poseen la capacidad de adsorción a las partículas del suelo, lo que permite que la toxicidad de éstos permanezca por varios meses en suelo. De las más de 25 sustancias volátiles identificadas, tres de ellas constituyen más del 70 % del total producido

El polen. El polen actúa como inhibidor de la fecundación cuando éste entra en contacto con los estigmas de plantas competidoras. También entre las gramíneas se ha descrito una acción alelopática de los granos de polen que inhiben la fecundación de flores competidoras. Se conocen los casos de *Parthenium hysterophorus* L. y de *Phleum pratense* L.

Lixiviación. En el follaje de las plantas se sintetizan y secretan sustancias que con la lluvia son arrastradas al suelo. De esta forma se liberan una gran cantidad de compuestos fenólicos, terpenos y alcaloides. El lixiviado de semillas y hojas tiene efectos tóxicos sobre plantas silvestres y cultivadas. El nogal, el plátano y el eucalipto tienen efectos tóxicos

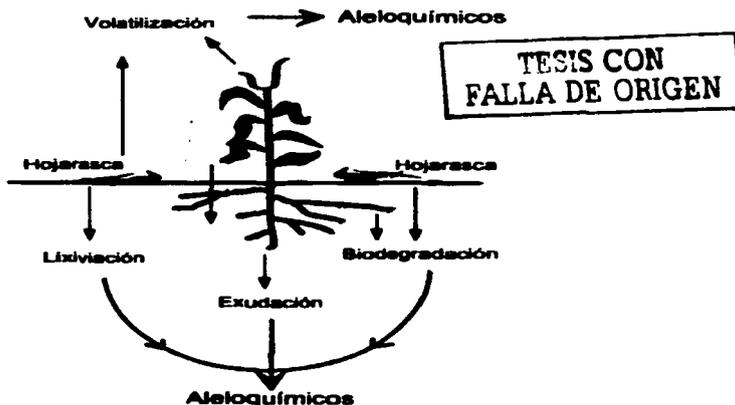
Exudación de las raíces. Esta es una forma frecuente de liberar sustancias alelopáticas, se sabe que algunas reducen la germinación de semillas, el crecimiento de raíces y brotes, la incorporación de nutrientes y la nodulación. Entre las especies cultivadas que presentan estas características se pueden citar entre otros: centeno, avena, cebada, maíz, tomate y pepino. La mayoría de los compuestos alelopáticos conocidos son de exudados radiculares.

Exudados de semillas. Durante la germinación, las semillas exudan sustancias con propiedades alelopáticas que pueden tener efectos sobre la misma, o inhibir la germinación en otras semillas, además pueden ser estimulantes de la nodulación bacteriana en chícharo. Entre los exudados se pueden encontrar sustancias volátiles

Descomposición de residuos vegetales. En este proceso, la planta libera una gran cantidad de sustancias alelopáticas que, al entrar en contacto con el suelo, sufren frecuentemente transformaciones realizadas por la microflora del mismo, que pueden originar productos con actividad biológica mayor que sus precursores. Pueden inhibir la germinación, el crecimiento y la productividad de diversos cultivos, así como a ciertas malezas (Avila, 1998., Sampietro, 1999).

A continuación se ilustran diferentes formas de liberación de sustancias alelopáticas (figura 3).

Figura 3. Vías a través de las cuales se liberan los agentes alelopáticos al entorno.



III.- MATERIALES Y METODOS.

El presente proyecto se realizó en las instalaciones del laboratorio de Micología de Ingeniería Agrícola de la FES Cuautitlán (UNAM).

3.1.- Aceites esenciales.

Se eligieron los siguientes aceites: romero (*Rosmarinus officinalis*), orégano (*Oreganum vulgare*), hierbabuena (*Mentha piperita*), eucalipto (*Eucalyptus globulus*), laurel (*Lisea glaucenscens*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*), clavo (*Syzygium aromaticum*), tomillo (*Teuocium vulgare*), toronja (*Citrus paradisis*), pimienta (*Piper nigrum*) y mejorana (*Origanum mejorana*) los cuales se obtuvieron en la empresa Aceites y Esencias S.A.

3.2.- Microorganismos.

Se utilizó una cepa monospórica de *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli* aislada de frijol cultivado en el CEVAMEX-INIFAP, Texcoco, Edo. de México proporcionada por la Dra. Rosa Navarrete Maya. Del aislamiento monospórico preservado en tubos de ensaye, se realizaron transferencias a medio de cultivo, papa-dextrosa-agar (PDA) para reactivar su crecimiento manteniéndolo a 25° C.

3.3.- Crecimiento micelial.

En el presente trabajo se partió de una dosis de 2,500 ppm de aceite que muestra ser la concentración media de inhibición en *Fusarium moniliforme*, utilizada por Montes *et al.*, 1998. Por ello con cada aceite, se realizaron pruebas con tres dosis: 2,500 (media), 1,250 (baja) y 3,750 ppm (alta), con 4 repeticiones por tratamiento.

En una caja de Petri con medio nutritivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA), se agregó y esparció el aceite con un triángulo de cristal esterilizado, para después colocar en el centro un disco micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, de 0.7 cm. Esto se repitió para cada una de las repeticiones y por tratamiento. Al testigo sólo se le agregó el disco micelial al centro de la caja Petri. Las cajas fueron selladas para evitar una posible contaminación de aromas, las cajas se incubaron a 25° C y cada tres días se midió el crecimiento micelial del hongo en cm. Posteriormente se calculó la superficie cubierta por el hongo, hasta que en el 50 % de las cajas de los tratamientos el hongo había cubierto totalmente la superficie.

3.3.1- Diseño experimental.

A continuación se muestra el arreglo de los tratamientos con los 11 aceites. El orden en que se acomodaron las cajas Petri, fue en charolas con 4 repeticiones por tratamiento, en un arreglo completamente al azar, obteniendo lo siguiente (Cuadro 7):

Cuadro 7. Arreglo de los diferentes tratamientos.

Tratamiento	Repetición I	Repetición II	Repetición III	Repetición IV
Hierbabuena 1	Mejorana 5	Laurel 3	Eucalipto 2	Laurel 3
Eucalipto 2	Hierbabuena 1	Canela 9	Hierbabuena 1	Clavo 4
Laurel 3	Toronja 11	Tomillo 8	Toronja 11	Romero 6
Clavo 4	Canela 9	Orégano 7	Tomillo 8	Canela 9
Mejorana 5	Eucalipto 2	Toronja 11	Mejorana 5	Hierbabuena 1
Romero 6	Pimienta 10	Hierbabuena 1	Orégano 7	Pimienta 10
Orégano 7	Romero 6	Clavo 4	Canela 9	Mejorana 5
Tomillo 8	Testigo 12	Eucalipto 2	Laurel 3	Testigo 12
Canela 9	Laurel 3	Pimienta 10	Romero 6	Eucalipto 2
Pimienta 10	Clavo 4	Romero 6	Pimienta 10	Tomillo 8
Tomillo 11	Tomillo 8	Mejorana 5	Clavo 4	Oronja 11
Testigo 12	Orégano 7	Testigo 12	Testigo 12	Orégano 7

Los resultados se analizaron mediante el análisis de varianza completamente al azar, y la separación de medias con la prueba múltiple de Duncan, por medio del programa estadístico para microcomputadoras MSTATC (Freed, *et al.*, 1991)

3.4.- Desarrollo del hongo.

Para calcular el desarrollo del hongo se realizó el conteo de esporas/ml. Se utilizó una cámara de conteo (hematocímetro), realizando 3 repeticiones por tratamiento. De aquellos tratamientos que presentaron crecimiento micelial (cuadro 8 y 9), se tomaron 3 discos del cultivo 0.7 mm, los que fueron colocados en tubos de ensaye con agua destilada, previamente esterilizada. De los tubos de ensaye se tomó una muestra de la suspensión con una pipeta estéril de 1 ml, para aplicarla en la ranura al centro del margen de una de las cámaras, cubierta con un portaobjetos, para ser observada en un microscopio compuesto a 400 aumentos y realizar el conteo de macro y microconidios. El hematocímetro esta dividido en 9 cuadros principales (C.P) [de los cuales se cuenta arbitrariamente el contenido de cinco, los cuatro de la esquina y el central (A, B, C, D y E)] como el tamaño de los conidios es pequeño, se utilizó el central que está dividido en 25 cuadrados secundarios de 0,2 mm por lado, de los cuales cada uno está dividido a su vez en 16 cuadrados menores de 0,05 mm por

lado. Se eligieron 5 de éstos al azar y se contaron los conidios presentes en ellos. La concentración se calcula así: número de conidios en C.P central x 10,000 = número/cc (French y Hebert, 1982). Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza completamente al azar.

3.5.- Prueba de fitotoxicidad.

Con los aceites que inhibieron el crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* en la concentración de 1,250 ppm (orégano, tomillo) y 2,500 ppm (hierbabuena, clavo y canela), se realizaron pruebas de germinación estándar (Moreno, 1996) de frijol en toallas absorbentes estériles para detectar la fitotoxicidad de dichos aceites al frijol.

Tratamiento a la semilla. Se utilizaron 20 semillas de frijol variedad Negro Durango por tratamiento con 3 repeticiones; las semillas fueron tratadas por inmersión en aceite, para después ser colocadas con pinzas estériles, sobre toallas de papel absorbente estéril en una tira adhesiva colocada en la línea central y se cubrieron con otra toalla; se enrollaron y sujetaron con una liga. Posteriormente se sumergieron en agua estéril y se colocaron verticalmente en charolas herméticas, las cuales se mantuvieron a una temperatura de 25 °C durante 20 días. La primera evaluación se realizó a los 10 días después de la siembra y la segunda a los 20 días. Esto se repitió para cada uno de los tratamientos, así mismo se tuvieron dos testigos, en uno de ellos se pusieron, 0.2 gr de trigo inoculado con *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* para conocer la patogenicidad del hongo sobre el frijol y en el segundo sólo se colocó el frijol en toallas sin ningún tratamiento.

Las toallas fueron colocadas en charolas con 3 repeticiones por tratamiento en un arreglo de bloques al azar. Los resultados se analizaron mediante el análisis de varianza completamente al azar (Little y Hills 1989), y la separación de medias con la prueba múltiple de Duncan, por medio del programa estadístico para microcomputadoras MSTATC (Freed *et al*, 1991).

3.6.- Caracterización de aceites.

De los aceites que inhibieron el crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* en la concentración (1,250 y 2,500 ppm), se eligieron: orégano, tomillo hierbabuena y clavo respectivamente (cuadro 10 y 11) para realizar la identificación del principio activo predominante en cada uno de estos aceites, utilizando la técnica de cromatografía de gases y espectrometría de masas. De cada uno de los aceites se tomó una alícuota de 5 microlitros del aceite/1 ml de metanol para ser aplicada en el inyector del cromatógrafo el cual utiliza un gas de arrastre (helio), pasando por una columna capilar, conectada de la línea de transferencia, directamente a la trampa iónica

ensamblada en el espectrómetro de masas. La primera separación se efectúa por cromatografía de gases por afinidad y/o peso molecular y ésta fluye a la trampa iónica, donde las moléculas son ionizadas por bombardeo de electrones, los cuales son analizados de acuerdo a sus radios de carga de masas, y detectados por un multiplicador de electrones que produce una señal, proporcional al número de iones detectados. Esta señal es recibida y amplificada por el sistema electrónico, de ahí se pasa al sistema de datos para su procesamiento y se muestra en la pantalla. Para la identificación de los componentes de estos aceites se correlacionaron los resultados del espectrómetro de masas con los bancos de datos de las bibliotecas NIST 92 y LIBR-TR (general y específica para terpenos respectivamente); además, se realizó un análisis de los espectros de masa para corroborar los resultados (Gordon, 1984).

IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

De acuerdo a la literatura consultada, se refiere que las plantas poseen numerosas rutas de biosíntesis, en la cuales sintetizan y acumulan en sus órganos una gran variedad de metabolitos secundarios, y se sabe que muchos juegan un papel importante en las interacciones complejas entre organismos vivos en el entorno natural (Sampietro, 1999). Entre ellos existen sustancias que producidas por una planta, le proporcionan beneficios al provocar determinados efectos sobre otras plantas, animales o microorganismos. Por ello, con los resultados obtenidos, se puede decir que el uso de aceites vegetales representa una alternativa en el control *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, causante de pudriciones radiculares en frijol, ya que los aceites inhibieron su crecimiento (cuadro 8, 9, 10).

4. 1. - Inhibición del crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Al realizar el análisis de varianza se encuentran diferencias significativas, como se muestra en el cuadro 8 y 1-7 del anexo. En este cuadro podemos observar que los aceites con hierbabuena, clavo, orégano, tomillo y canela, a una concentración de 2,500 ppm son excelentes inhibidores del crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* durante todo el periodo de evaluación. No así la pimienta y toronja que resultaron ser promotores del crecimiento, ya que a partir del 3° día, al igual que el testigo, el patógeno ya presentaba un crecimiento. También podemos observar claramente que a partir del 9° día después de la siembra que el tratamiento con pimienta promovió el crecimiento del hongo, luego de que fuera el primero en cubrir la caja Petri. Otros aceites que también tuvieron el mismo comportamiento fueron: eucalipto al 11° día, mejorana al 13° día, romero y toronja al 15° día. En laurel, aunque hubo crecimiento, éste fue de lento desarrollo, pero se observa que a partir del 13°

día éste se dispara. El testigo tuvo el crecimiento normal esperado, ya que a partir del 3° día presentó crecimiento y su desarrollo fue lento hasta el 15° día en que finalizó la evaluación, sin llegar a cubrir la superficie total de la caja. En cuadro 28, de anexos se muestran las propiedades y principios activos de los aceites.

Cuadro 8. Resultados de la primera evaluación de inhibición del crecimiento en cm² de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* a una concentración media (2,500 ppm).

Aceites	Días						
	3	5	7	9	11	13	15
Hierbabuena	1.00 c	1.00 d	1.00 e	1.00 f	1.00 f	1.00 d	1.00 d
Eucalipto	1.00 c	2.76 bc	9.87 b	23.59 b	48.78 a	48.78 a	48.78 a
Laurel	1.00 c	1.00 d	1.42 de	5.23 e	7.52 e	18.95 c	31.17 b
Clavo	1.00 c	1.00 d	1.00 e	1.00 e	1.00 f	1.00 d	1.00 d
Mejorana	1.00 c	1.00 d	2.92 d	11.74 d	28.02 bc	48.78 a	48.78 a
Romero	1.00 c	1.28 d	5.66 c	12.71 d	25.63 c	42.41 b	48.78 a
Orégano	1.00 c	1.00 d	1.00 e	1.00 f	1.00 f	1.00 d	1.00 d
Tomillo	1.00 c	1.00 d	1.00 e	1.00 f	1.00 f	1.00 d	1.00 d
Canela	1.00 c	1.00 d	1.00 e	1.00 f	1.00 f	1.00 d	1.00 d
Pimienta	1.55 a	7.56 a	22.22 a	48.78 a	48.78 a	48.78 a	48.78 a
Toronja	1.54 a	12.24 c	9.42 b	19.50 c	31.68 b	45.32 ab	48.78 a
Testigo	1.35 b	3.49 b	5.72 c	11.01 d	12.29 d	15.35 c	19.00 c
Dms	0.0785	0.862	1.730	3.991	3.913	5.027	2.635

Cada valor es media de cuatro repeticiones, valores con distinta letra indican diferencias estadísticas significativa (P<0.05).

Para ejemplificar estos resultados, a continuación se muestra la figura 4, en donde se observa el comportamiento de los aceites sobre el crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*; en donde tomillo resultó ser un excelente inhibidor del crecimiento del hongo durante el periodo de evaluación, efecto que no se presenta en pimienta que es estimulante del hongo ya que en el día 9 después de la siembra, éste cubrió el área total de la caja Petri. Este mismo comportamiento lo presentan los aceites de eucalipto, mejorana y romero que lo hacen a los 11, 13, y 15 días respectivamente, en comparación con el testigo que sólo cubrió un 40 % de la caja Petri.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

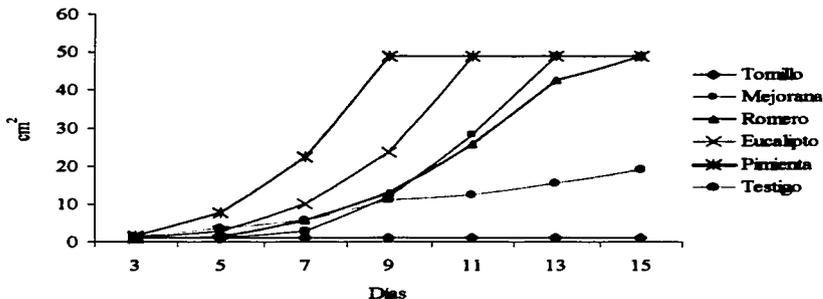


Figura 4. Grafica de inhibición del crecimiento en cm² de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, concentración media (2,500 ppm).

Con la finalidad de obtener la concentración óptima, de acuerdo a los resultados de la concentración inicial (2,500 ppm) se tomó la decisión de evaluar dos concentraciones más, disminuir a 1,250 ppm (dosis baja), y aumentar hasta 3,750 ppm (dosis alta) para determinar su actividad sobre *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, donde se obtuvieron los siguientes resultados, que se muestran en los cuadros en los cuadros 9 y 10 respectivamente

Los análisis de varianza muestran diferencias estadísticas significativas (cuadros 8 al 14 del anexo), las cuales se confirman al realizar la prueba de múltiple de Duncan para la diferencias de medias. En la concentración de 1,250 ppm sólo orégano y tomillo mostraron el mismo comportamiento que en la dosis media 2,500 ppm, al inhibir el crecimiento del patógeno. En el caso de hierbabuena se retardó el crecimiento del patógeno, que a partir del 11° día después de la siembra tuvo crecimiento, a los 15 días muestra un crecimiento de 17 % en comparación con el testigo. En clavo y en canela, hubo un crecimiento lento ya que a partir de los días 5° y 7°, a los 15 días sólo hubo un crecimiento de 7 % en comparación con el testigo, respectivamente. En laurel, el crecimiento se presentó en el 7° día con un 18 % de desarrollo con respecto al testigo a los 15 días al finalizar la evaluación (cuadro 9).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 9. Resultados de la segunda evaluación de inhibición del crecimiento en cm² de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* a una concentración baja (1,250 ppm).

Aceites	Días						
	3	5	7	9	11	13	15
Hierbabuena	1.00 c	1.00 d	1.00 e	1.00 e	1.21 d	1.67 de	4.72 cd
Eucalipto	1.20 abc	2.67 cd	10.41 cd	25.34 c	44.07 b	48.78 a	48.78 a
Laurel	1.00 c	1.00 d	1.04 e	1.10 e	1.77 d	2.55 c	5.05 c
Clavo	1.00 c	1.03 d	1.15 e	1.68 e	1.66 d	1.96 cd	2.38 de
Mejorana	1.24 abc	3.53 d	12.91 c	30.09 b	41.41 b	48.78 a	48.78 a
Romero	1.31 ab	2.78 cd	8.93 d	24.25 c	42.10 b	48.78 a	48.78 a
Orégano	1.00 c	1.00 d	1.00 e	1.00 e	1.00 d	1.00 e	1.00 e
Tomillo	1.00 c	1.00 d	1.00 e	1.00 e	1.00 d	1.00 e	1.00 e
Canela	1.00 c	1.00 d	1.22 e	1.70 e	1.79 d	1.81 cd	2.14 c
Pimienta	1.15 bc	22.22 a	48.78 a	48.78 a	48.78 a	48.78 a	48.78 a
Toronja	1.49 a	19.48 b	31.68 b	45.32 a	48.78 a	48.78 a	48.78 a
Testigo	1.29 abc	2.98 cd	9.86 d	11.79 d	16.74 c	21.81 b	27.16 b
DMS	0.307	2.013	2.88	3.845	4.214	0.849	2.453

Cada valor es media de cuatro repeticiones, valores con distinta letra indican diferencias estadísticas significativa ($P < 0.05$).

En el caso de pimienta y toronja, éstos estimularon el crecimiento del hongo, ya que en menor tiempo que el testigo, a los 7 y 11 días, respectivamente cubrieron las cajas Petri; en eucalipto, mejorana y romero, el hongo presentó crecimiento a partir del 13° día. En estos aceites, al igual que en el testigo, a partir del 3° día después de la siembra el patógeno empezó a crecer (cuadro 9).

En la figura 5 observamos que tomillo, aún en esta dosis, conserva su propiedad de inhibidor del crecimiento del *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, por otro lado, pimienta este acelera el desarrollo del hongo ya que en el día 7 cubrió el área de la caja Petri, siguiéndole eucalipto, mejorana y romero que lo hacen al 13° día, en comparación con el testigo que solo cubrió el 50 % del área de la caja Petri.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

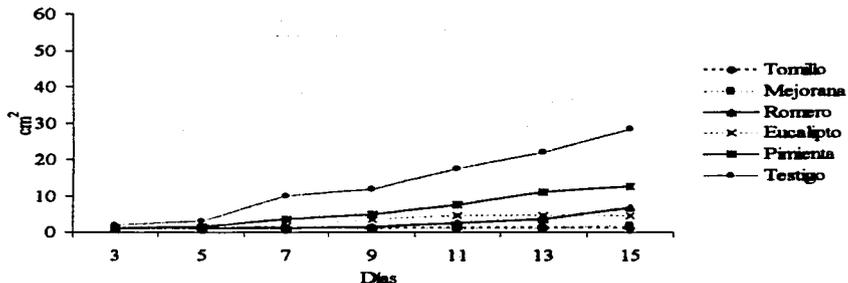


Figura 5. Grafica de inhibición del crecimiento en cm^2 de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* a una concentración baja (1,250 ppm).

Los análisis de varianza muestran diferencias estadísticas significativas (cuadro 15-21 anexo 1), las cuales se confirman al realizar la prueba múltiple de Duncan para las diferencias de media (cuadro 10). Aquí se observa que con pimienta y con toronja el crecimiento del hongo se presentó al 5° día después de la siembra, sin llegar a cubrir la caja Petri, como en las dosis media y baja. En eucalipto y romero el crecimiento se presentó al 7° día, manteniendo un desarrollo lento con relación al testigo, de 16 y 23 % respectivamente, al finalizar la evaluación. En mejorana el crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, se presentó hasta el 13° día con un 6 % de desarrollo en comparación con el testigo al finalizar la evaluación. Los aceites de hierbabuena, laurel, clavo, orégano, tomillo y canela inhibieron el crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* y sólo en toronja el crecimiento fue mayor que en el testigo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 10. Resultados de la tercera evaluación de inhibición del crecimiento en cm^2 de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* a una concentración alta (3,750 ppm).

Aceites	Días						
	3	5	7	9	11	13	15
Hierbabuena	1.00 b	1.00 b	1.00 d	1.00 c	1.00 e	1.00 c	1.00 c
Eucalipto	1.00 b	1.00 b	1.67 cd	1.83 c	4.54 d	4.54 c	4.54 c
Laurel	1.00 b	1.00 b	1.00 d	1.00 c	1.00 e	1.00 c	1.00 c
Clavo	1.00 b	1.00 b	1.00 d	1.00 c	1.00 e	1.00 c	1.00 c
Mejorana	1.00 b	1.00 b	1.00 d	1.00 c	1.00 e	1.19 c	1.91 c
Romero	1.00 b	1.00 b	1.22 d	1.65 c	2.45 de	3.54 c	6.60 bc
Orégano	1.00 b	1.00 b	1.00 d	1.00 c	1.00 e	1.00 c	1.00 c
Tomillo	1.00 b	1.00 b	1.00 d	1.00 c	1.00 e	1.00 c	1.00 c
Canela	1.00 b	1.00 b	1.00 d	1.00 c	1.00 e	1.00 c	1.00 c
Pimienta	1.00 b	1.37 b	3.34 b	4.76 b	7.59 c	10.85 b	12.64 b
Toronja	1.00 b	1.48 b	2.87 bc	4.98 b	12.09 b	19.69 a	30.78 a
Testigo	1.79 a	2.98 a	9.86 a	11.79 a	17.24 a	21.81 a	28.16 a
DMS	0.244	0.455	1.207	1.615	2.363	4.629	6.213

Cada valor es media de cuatro repeticiones, valores con distinta letra indican diferencias estadísticas significativa ($P < 0.05$).

En esta figura 6 se observa que estos aceites son susceptibles a ser utilizados como una forma de control biológico contra *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* ya que al aumentar la concentración de estos aceites, que resultaron ser estimulantes en la concentración de 1,250 y en 2,500 ppm, inhibirán el desarrollo del hongo a una concentración mayor de 3,750 ppm, ya que sólo pimienta alcanza un 43 % de crecimiento, en relación al testigo. Así mismo los aceites de mejorana, eucalipto y romero presentan un crecimiento muy ligero de 6, 16 y 23 % respectivamente, al finalizar la evaluación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

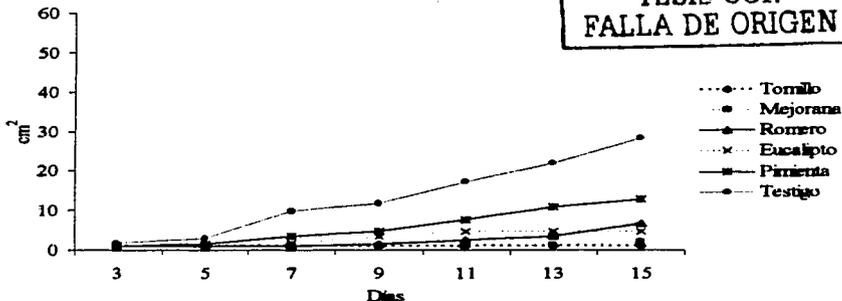


Figura 6. Grafica de inhibición de crecimiento en cm^2 de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. concentración baja (3,750 ppm).

Maruzzella y Balter en 1959, mostraron la posibilidad de utilizar aceites esenciales en el control de fitopatógenos. Particularmente se usaron los aceites de: tomillo, clavo, pimienta gorda y mejorana contra *F.oxysporum* f. sp. *lycopersi*, *F. oxysporum* f. sp. *conglutinans* y *F. moniliforme*. Los resultados de este trabajo coinciden con la actividad de tomillo y clavo al inhibir el crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, por lo que podemos considerarlos como fungicidas. En el caso de pimienta y mejorana, sólo hubo una reducción en el crecimiento al aumentar la dosis del aceite hasta 3,750 ppm.

A partir de los resultados del presente trabajo, se observa que la dosis mínima de inhibición fue de 1,250 ppm, actuando el orégano y tomillo como fungicidas; éste mismo efecto lo presentan los aceites de hierbabuena, clavo y canela en la dosis media 2,500 ppm, y en la dosis alta 3,750 se suma laurel. Estos resultados son similares a los indicados por Montes (1998) respecto a la inhibición de *Fusarium moniliforme*, en una concentración media de 2,500, mientras que en tomillo se logró en una dosis 300 ppm menor que la empleada en este trabajo. Con el aceite de laurel, solo hubo una reducción del crecimiento de *F. moniliforme* a una dosis de 10,000 ppm; por el contrario, en el presente trabajo se logró inhibir totalmente el crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* a una dosis de 3,750 ppm, lo que demuestra un grado de susceptibilidad de este patógeno a los principios activos del aceite (cuadro 13). También se sabe que clavo, orégano y canela inhiben el desarrollo de *Aspergillus flavus* en maíz (Montes, 2000). Respecto al tomillo se sabe, que tiene

efecto fungicida, además de su capacidad alelopática sobre otras plantas Fujii, *et al.* (1991). Estos mismos autores indican la actividad alelopática de hierbabuena al inhibir la germinación de lechuga, pero sin efecto sobre *F. oxysporum* sp. En este trabajo si mostró actividad fungicida sobre *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* al utilizarlo a una dosis media 2,500 ppm.

Como ya se ha indicado, los principios activos de estas especies y muchas más, son en su mayoría fenoles (flavonoides, taninos, ligninas, ácido salicílico, etc.) que provienen del metabolismo secundario, (Sampietro, 1999). Se sabe que algunos de estos compuestos son utilizados como mecanismo de defensa contra el ataque de patógenos al encontrarse en concentraciones bastante altas, inhibiendo así muchas de la enzimas hidrolíticas, incluyendo las pectolíticas, que son las enzimas de la maceración de los fitopatógenos (Agris, 1995).

Los aceites esenciales, por ser compuestos con núcleos aromáticos (Valencia, 1995), pueden ser adsorbidas por las arcillas y la materia orgánica del suelo, pero si la adsorción es muy fuerte puede incluso dificultar la degradación por parte de los microorganismos, como sucede con los plaguicidas, debido a las cargas de sus grupos iónicos, caso que no suele presentarse en las alelosubstancias (Avila, 1998). Por lo ya mencionado, se puede afirmar que estos aceites son una alternativa de control de fitopatógenos y especialmente de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, causante de pudriciones radiculares en frijol. Campos (1991), indica que el periodo de infección del patógeno se inicia desde la siembra hasta que la plántula de frijol tiene de 8 a 15 días de nacida. Por lo tanto, podemos afirmar que los aceites de orégano y tomillo en la dosis baja son los que presentan mejores resultados para inhibir el crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* y ser recomendados para el control de este patógeno, ya que brindará protección al cultivo durante el periodo de infección. Los aceites que en dosis media y alta actuaron como fungicidas, pueden también ser utilizados en el control contra *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, pero esto aumentaría los costos de producción y lo que se quiere es una eficiencia a un menor costo posible.

En el caso de la mejorana en dosis alta (3,750 ppm) y hierbabuena en dosis baja (1,250 ppm) que retardaron el crecimiento en el 11° y 9° día respectivamente, se consideran fungistáticos al retardar el crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, por lo que pueden ser recomendados para el control, ya que éstos puede brindar protección durante el periodo de infección.

4. 2.- Desarrollo de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

En los cuadros 11 y 12 se observa que la producción de macro y micro conidos, que son estructuras de reproducción del hongo, se ve afectada de acuerdo a la concentración y tipo del aceite.

Cuadro 11. Resultados del conteo de macro y microconidios de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* desarrollados en PDA tratado con aceites esenciales a una concentración de 2,500 ppm.

Aceite	Macroconidios/ml	Microconidios/ml
Eucalipto	40 bc	16.7 bc
Laurel	70 ab	40 b
Mejorana	50 ab	107.5 a
Romero	10 c	56 b
Pimienta	60 ab	40 bc
Toronja	90 a	20 bc
Hierbabuena	0.0 c	0.0 c
Testigo	37.5 bc	52.5 b
DMS	4.327	3.775

Cada valor es media de cuatro repeticiones, valores con distinta letra indican diferencias estadísticas significativa ($P < 0.05$).

En el cuadro 11 se observa que el tratamiento con mejorana permitió la más alta producción de microconidios, en la concentración media y en la concentración baja aumentó 5 veces en comparación con el testigo, pero hubo una reducción de macroconidios. Pimienta en la concentración media permitió el desarrollo de microconidios en mayor cantidad que en el testigo; en la concentración baja los microconidios aumentaron 4 veces más que el testigo. No así los macroconidios, aunque presentes en los dos tratamientos, fueron menores en la concentración baja en comparación con el testigo. En eucalipto solo permitió una alta producción de microconidios en la concentración baja (1,250 ppm) que fue muy alta en comparación con el testigo; no así en la concentración media, donde la producción de macroconidios fue ligeramente mayor en comparación con el testigo. En laurel se presentaron microconidios en las dos concentraciones, siendo mayor la cantidad en la de 1,250 ppm, y menor en la de 2,500 ppm, en comparación con el testigo. En este tratamiento los macroconidios se presentaron sólo en la concentración de 2,500 ppm y su cantidad fue superior al testigo. En la toronja se presentaron microconidios en la concentración baja más que en el testigo, no así en la de 2,500 ppm, en donde además se presentaron macroconidios, siendo mayor la cantidad que el testigo (cuadros 11 y 12).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Con la hierbabuena que en la concentración media fue inhibidor de *F.oxysporum* f. sp. *phaseoli*, en concentración baja se presentó una producción alta de microconidios en comparación con el testigo.

Lo anterior, indica que todos los aceites evaluados a baja concentración permitieron el desarrollo de micro conidios en mayor cantidad que el tratamiento testigo (cuadro 12). La respuesta de una mayor y/o menor producción de macroconidios y microconidios en los diferentes tratamientos y concentraciones, es una respuesta de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* hacia los diferentes componentes presentes en los aceites. Estos efectos de los principios activos utilizados contra microorganismos se deben a la cantidad presente en el aceite, donde uno o dos son predominantes, siendo éstos los responsables de efectos alelopáticos, no así los compuestos que se encuentran en menor cantidad, ya que, para lograr tal efecto es necesario aumentar la concentración. Por ejemplo, el caso de linalol y cineol presentes en *O. basilicum* de los cuales, el primero tuvo efecto fungicida contra *Fusarium moniliforme*, y el segundo estimuló su esporulación aún en una concentración de 10,000 ppm (Montes, 1998). En el caso del orégano mexicano (*Lippia graveolens*) sus principales compuestos son carvacrol y timol que son de naturaleza fenólica y son los responsables de actividades fungicidas y bactericidas, siendo más drástica la fungicida (Díaz, 2000).

Cuadro 12. Resultados del conteo de macro y microconidios de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* desarrollados en PDA tratado con aceites a una concentración de 1,250 ppm.

Aceite	Macroconidios/ml	Microconidios/ml
Eucalipto	0.0 c	170 cd
Laurel	0.0 c	180 cd
Mejorana	10 bc	620 a
Pimienta	30 b	220 c
Toronja	0.0 c	370 b
Hierbabuena	0.0 c	90 de
Testigo	37.5 a	52.5 e
DMS	1.087	10.63

Cada valor es media de cuatro repeticiones, valores con distinta letra indican diferencias estadísticas significativa ($P < 0.05$).

Es importante recordar que los primeros estudios realizados sobre efectos alelopáticos (Molish, 1937) se dio de planta-planta (Plinio siglo 1. a. c), al observar lo que sucedía con los vegetales en su entorno, hoy se sabe que hay especies con la capacidad de estimular, retrasar e inhibir la germinación, lo que se da por la producción y liberación de compuestos fenólicos (flavonoides, taninos, ligninas, fitoalexinas), que resultan del metabolismo secundario, de evitar el ataque de diferentes plagas y enfermedades a las que pueden ser susceptibles (Maldonado, et al.

1985). Por ejemplo, se sabe que la hierbabuena es un inhibidor en la germinación de lechuga, pero sin efecto contra *Fusarium oxysporum*, al utilizarlo como extracto (Fujii *et al.*, 1991). Sin embargo ésta especie al utilizarla como aceite mostró efecto fungicida a una concentración de 2,500 ppm contra *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* (cuadro 10), la diferencia puede ser que en el extracto la concentración de los compuestos puede variar de acuerdo a la etapa de desarrollo y al momento de la recolección, no así en los aceites donde sus compuestos mantiene sus características. Este mismo autor indica la actividad fungicida de tomillo además de su capacidad alelopática sobre otras plantas.

Es por ello que se realizaron pruebas de germinación estándar en frijol para determinar que los aceites que fueron inhibidores de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* (cuadro 13 y 14), no sean fitotóxicos y/o alteren el desarrollo de dicho cultivo, lo que sería un problema si se presentara con alguno de los aceites, lo que no permitiría su uso como una forma de control biológico sobre pudriciones radiculares en frijol.

4. 3.- Prueba de germinación estándar de *Phaseolus vulgaris* L.

De las pruebas de germinación estándar se obtuvieron los siguientes resultados.

Campos, 1991 indica que las plantas de frijol atacadas por *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* en campo, desarrollan raíces adventicias como mecanismo de resistencia; este efecto también se observa en la prueba de germinación estándar, donde claramente el desarrollo del hipocotilo y epicotilo se ven afectadas por el patógeno, ya que el primero presenta una longitud menor y mayor grosor en comparación con el testigo absoluto, respectivamente. El aumento en el grosor del hipocotilo se da como una respuesta o mecanismo de resistencia del frijol, hacia el ataque del patógeno. En el caso del epicotilo los efectos son claramente visibles ya que el desarrollo, tanto en su longitud como en grosor, son en un 75 y 64 % menores que en el testigo absoluto respectivamente (cuadro 13).

Cuadro 13. Resultados de la pruebas de germinación estándar de frijol en toallas absorbentes con aceites inhibidores de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* (F.o.p).

Aceite	Longitud de Hipocótilo	Grosor de Hipocótilo	Longitud de Epicótilo	Grosor de Epicótilo	% de Germ.	% de Plantas anormales
Orégano	111.4 b	4.392 ab	31.66 b	2.971 a	100	13
Canela	105.9 bc	3.713 b	24.79 cd	2.257 d	100	10
Clavo	98.97 cd	4.115 ab	22.18 d	2.468 cd	95	25
Tomillo	124.4 a	3.779 b	43.73 a	2.562 c	100	5
Hierbabuena	124.4 a	4.285 ab	43.16 a	2.890 ab	100	13
Testigo absoluto	113.9 b	4.280 ab	29.09 bc	2.657 bc	100	18
Testigo + F.o.p.	91.34 d	4.550 a	10.32 e	1.702 e	95	36
DMS	9.313	0.717	6.408	0.301		

Cada valor es medias de 20 repeticiones por tratamiento, valores con distinta letra indican diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$).

En la prueba de germinación estándar de frijol que se realizó con los aceites inhibidores de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* en la concentración de 1,250 y 2,500 ppm, se observan efectos alelopáticos en el desarrollo del hipocotilo y epicotilo, lo que se debe a la estructura de los fenoles presentes en los aceites que tienen un efecto como reguladores del crecimiento (cuadro 13). Por ejemplo, se encontró que en *Pisum sativum* los 4-hidroxi flavonoides aumentan la actividad enzimática, mientras que los 3- o 4- hidroxi flavonoides son inhibidores (CIQA., 1985). En este ensayo no se encontró inhibición del crecimiento, sólo en los tratamientos con clavo y canela que presentaron una ligera disminución en el desarrollo del hipocotilo y epicotilo, en comparación con el testigo absoluto. Los tratamientos con tomillo y hierbabuena fueron los que presentaron un mayor desarrollo en longitud de hipocotilo y epicotilo en comparación con el testigo absoluto, pero en grosor sólo en hierbabuena conservó esta característica. Un caso particular se presenta en orégano en donde sólo la longitud del hipocotilo presentó un desarrollo estadísticamente igual al testigo absoluto y en los demás casos: de longitud de epicotilo, grosor de epicotilo y hipocotilo, fueron superiores a éste. De estos resultados podemos resumir que los aceites de orégano en la concentración de 1,250 ppm y de hierbabuena en 2,500 ppm, son los aceites que presentan mejores resultados posiblemente se deba al contenido de fenoles los responsables de estimular o promover el crecimiento en el frijol.

En el cuadro 13, se observa que de los tratamientos con aceite sólo clavo presenta un 95 % de germinación y 25 % de plantas anormales, que es ligeramente mayor que el testigo absoluto. Para el caso del testigo más *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, se presenta un 95 % de germinación, pero una vez más se observan los efectos del patógeno sobre el desarrollo del frijol ya que es el tratamiento que

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

presenta el mayor porcentaje de plantas anormales con respecto al testigo absoluto. Los demás tratamientos tuvieron un 100 % de germinación, además de presentar plántulas anormales en menor porcentaje que el testigo absoluto, 13 % en orégano y hierbabuena, 10 y 5 % plántulas anormales en canela y tomillo, respectivamente. De acuerdo a los datos que se muestran, podemos afirmar una vez más que los efectos alelopáticos no son de importancia en el porcentaje de germinación y de plántulas anormales en frijol, como para dejar de recomendarlos como una forma de control de pudriciones radiculares.

Cuadro 14. Resultados de peso seco de plántulas, de la prueba de germinación estándar de frijol en toallas absorbentes con aceites inhibidores de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Acetate	Promedio
Orégano	3.970 ab
Canela	4.121 ab
Clavo	4.074 ab
Tomillo	4.036 ab
Hierbabuena	3.876 b
Testigo + <i>F.oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> .	3.820 b
Testigo absoluto	4.314 a
DMS	0.377

Cada valor es medias de 3 repeticiones por tratamiento, valores con distinta letra indican diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$).

En este cuadro observamos diferencias en relación al cuadro 13, en donde los tratamientos con orégano y hierbabuena fueron estimulantes en el desarrollo del frijol; ésto se esperaría también en su peso seco, pero en este caso son los tratamientos que presentan menor peso en comparación con el testigo absoluto. En el caso de canela y clavo que fueron los tratamientos que presentaron menor desarrollo de hipocotilo y epicotilo, y en peso seco, son los que más se acercan al testigo absoluto, junto con tomillo que en la longitud de hipocotilo y epicotilo fue uno de los que presentó mayor desarrollo en la prueba de germinación estándar. En el tratamiento con *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, su efecto de patogenicidad se sigue presentando ya que es el que tiene menor peso seco en comparación con el testigo absoluto y de los diferentes tratamientos.

Los efectos mostrados en el desarrollo de hipocotilo, epicotilo y peso seco por los tratamientos en la prueba de germinación estándar de frijol, no son de consideración como para dejar de recomendarlos como una alternativa biológica contra *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, debido a que no tuvieron efecto fitotóxico sobre las estructuras esenciales de frijol, ya que las plántulas presentaron

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

una raíz primaria vigorosa, con un hipocótilo bien desarrollado, sin lesiones, con cotiledones completos, epicótilo con dos hojas primarias y yema terminal intacta a lo que se define como plántulas normales (Moreno, 1996).

4. 4.- Principios activos.

La caracterización de los aceites se llevó a cabo en la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua, con apoyo del equipo de Biotecnología a cargo del Dr. José Luis Ibañez González. De la caracterización se obtuvieron los siguientes resultados.

Cuadro 15. Resultados de la caracterización de principios activos por cromatografía de gases/masas.

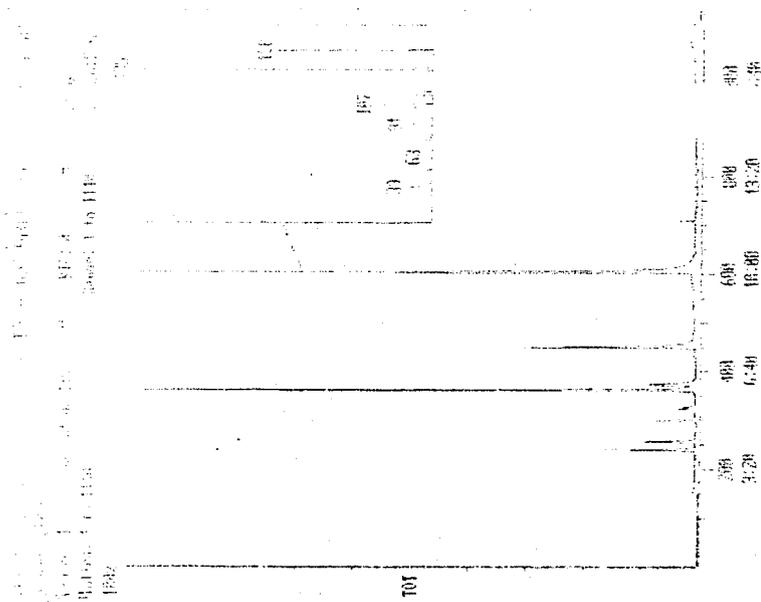
Aceites	Principio activo predominante.
Orégano	Carvacrol
Tomillo	Carvacrol
Hierbabuena	Mentona
Clavo	Eugenol

Determinados por el autor.

El aceite de orégano fue el primero en ser inyectado a 20 microlitros/1 ml de metanol al cromatografo de gases/masas, y por su alto grado de concentración éste saturó los aparatos de lo que se deduce que la pureza de los aceites es muy alta. Para evitar la saturación se hicieron diluciones de 5 microlitros/1 ml de metanol, con la cual se logró la identificación de los principios activos predominante en cada aceite, como se muestra en el cuadro 15. Con objeto de ejemplificar el análisis secuencial de los aceites evaluados, se presenta el análisis espectral correspondiente de cada principio activo, que se identifica en los recuadros de cada uno de los cromatogramas, en las Figuras 7, 8, 9 y 10 .

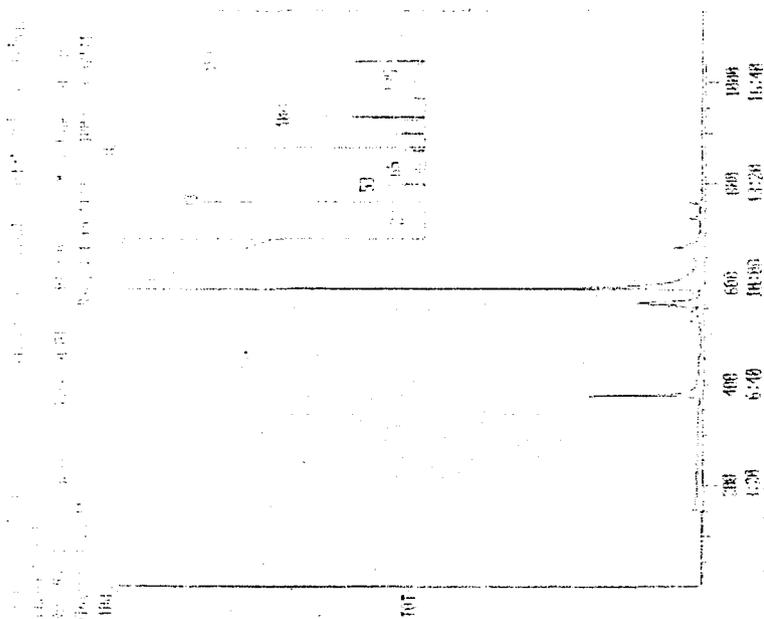
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 7. Cromatograma de gases/masa de orégano, con cavacrol como principio activo predominante del aceite.



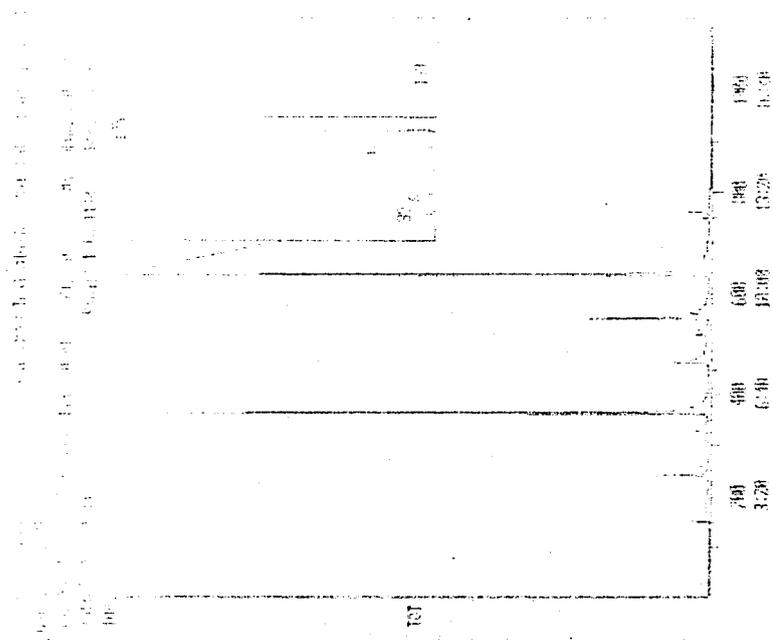
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 8. Cromatograma de gases/masas de hierbabuena, con mentona como principio activo predominante del aceite.



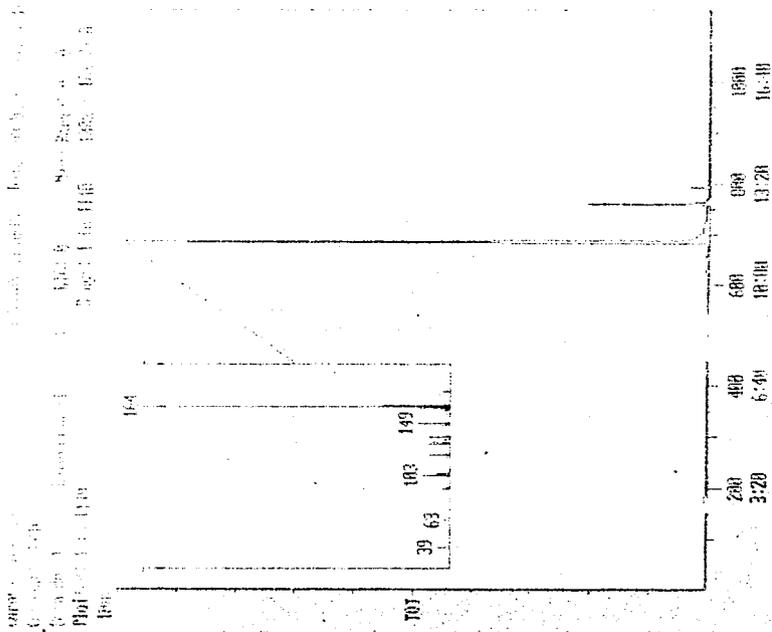
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 9. Cromatograma de gases/masa de tomillo, con carvacrol como principio activo predominante de la aceite.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 10. Cromatograma de gases/masas de clavo, con eugenol como principio activo predominante del aceite.



ESTADO CON
FALLA DE ORIGEN

Los aceites contienen varios principios activos, pero uno o dos de ellos es predominante, tal es el caso del carvacrol que es predominante en *Limpian graveolens* (orégano mexicano) que se sabe que tiene efecto biocida sobre: *Rhizoctonia* spp., *Sclerotium cepivorum*, *Fusarium oxysporum*, *Gloeosporium* spp., *Pseudomonas cepacea* y *Erwinia amylovora* (Díaz, 2001). Este principio activo se encontró también en dos de los aceites evaluados en este trabajo (orégano y tomillo), lo que explica el por qué éstos presentan un efecto fungicida sobre *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Lo cual reafirma que estos aceites tienen un alto potencial para ser usados como una forma de control biológico sobre diferentes microorganismos. En el caso del clavo hay coincidencia en eugenol, principio activo utilizado por Montes (1998), que indica que inhibió el crecimiento de *F. moniliforme*. En la década de 1988-1998 se realizaron un gran número de investigaciones sobre la actividad antimicrobiana de aceites (cuadro 27, anexos) donde *Tymus vulgaris* y *Mentha piperita* con mentona como principio activo, fueron los más activos sobre los microorganismos evaluados (Seigler, 1998) estos aceites, en el presente trabajo actuaron como fungicidas contra *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Además se caracterizaron sus principios activos predominantes, donde hay coincidencia con la mentona que inhibió a *F. moniliforme* (Montes, 1998) y probablemente también sea éste el que actuó sobre el patógeno en estudio.

Por lo ya mencionado, podemos decir que los aceites de orégano, tomillo, hierbabuena, clavo y canela presentan aleopatía sobre *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, al inhibir su crecimiento por efecto de los principios activos. Por lo tanto, podemos afirmar que la utilización de estos aceites así como sus principios activos predominantes, son una excelente forma de control biológico, no sólo de hongos fitopatógenos sino además de otros microorganismos patógenos.

Como un mecanismo de defensa contra microorganismos y después de ser invadidas, las plantas producen sustancias tóxicas que en su mayoría son de origen fenólicos (fitoalexinas) (Agrios, 1995). En el caso del frijol se han encontrado fitoalexinas como la faseolina y la ceviotona en respuesta al ataque de *F. oxysporum*, f. sp. *phaseoli* y *Monilinia fruticola* (Kuc et al, 1985), con estas sustancias producidas por la misma planta contra estos patógenos y si además se le adicionan los aceites, que se sabe que por sus compuestos fenólicos son inhibidores de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, la planta tendrá mayor protección contra este patógeno al tener un alto contenido de fenoles que son inhibidores de enzimas de microorganismos.

Una ventaja ecológica, al utilizar los productos del metabolismo secundarios producidos por las especies vegetales, es que se degradan fácilmente tanto en las plantas como en el suelo, lo que no sucede con los agroquímicos que, a pesar de ser más potentes, son más resistentes a la degradación y por lo tanto persisten en el medio ambiente. Por lo ya mencionado y los resultados que se muestran en el presente trabajo, las especies vegetales son una excelente alternativa para ser utilizadas como bioplagicidas (Michel, 1999).

V.-CONCLUSIONES

Con los resultados del presente trabajo se puede concluir que los aceites de orégano (*O. vulgare*), tomillo (*T. vulgaris*), hierbabuena (*M. piperita*), clavo (*S. aromaticum*), canela (*C. zeylanicum*) y laurel (*L. glaucenscens*) mostraron tener un efecto fungicida al inhibir el crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli in vitro*.

De las tres concentraciones evaluadas (2,500, 1,250 y 3,750 ppm), los tratamientos en que se presentaron los mejores resultados con efectos fungicidas fue en la concentración de 1,250 ppm donde sólo orégano (*O. vulgare*) y tomillo (*T. vulgaris*) actuaron como inhibidores de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli in vitro*.

Los responsables de los efectos alelopáticos de inhibición del crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* son por los principios activos presentes en los aceites, como: el carvacrol en orégano y tomillo, la mentona en hierbabuena y el eugenol en clavo, los cuales han sido caracterizados y utilizados de forma individual, obteniendo excelentes resultados al inhibir el desarrollo de microorganismos.

No se presentó fitotoxicidad en el desarrollo de frijol al tratar las semillas con los aceites esenciales, ya que en sus órganos esenciales no se encontraron anomalías, por lo tanto los aceites de: orégano, tomillo, hierbabuena, canela y clavo, pueden ser utilizados sin ningún problema como fungicida contra pudriciones radiculares.

VI.-Referencias bibliográficas.

Abawi, G. S. and M. A. Pastor-Corrales, 1990. Root Rots of Bean in Latin American and Africa: Diagnosis research methodologies and management strategies. Centro Internacional de Agricultura tropical (CIAT) Cali, Colombia. p. 68-77

Agrios, N. G. 1991. Manual de enfermedades de las plantas. Editorial Limusa. México. p. 201-221.

Agrios, G. N 1995. Fitopatología. Editorial Uteha, Noriega editores. Segunda edición México. p. 107-116.

Apoyos y Servicios Comercialización Agropecuaria. 1997. Claridades Agropecuarias. El frijol en México: relato de una diversidad. Mario Barreiro Perea. (ed). México. p. 44.

Bae 51. Alelopátia <http://www.ciedperu.org/bae/b51c.htm>

Campos, A. J. 1991. Enfermedades del frijol. Editorial Trillas. México. p. 131.

Centro de investigación en química aplicada. 1985. Los productos de las plantas: una visión integral. Editor Rolando Maldonado García. Saltillo Coah. p. 77-78, 93-101.

Domínguez G. F. 1998. Plagas y enfermedades de las plantas cultivadas. Ediciones Mundi-Prensa. México. p.373-374

Dofnu C. 1985. Las semillas y sus usos. AGT. Editor. México. p. 9-17.

Díaz G. R. I. 2001. Elucidación estructural de los componentes del aceite esencial de orégano (*Lippia graveolens*), sus propiedades antimicrobianas y sus variaciones por condiciones abióticas. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihua. México. p. 130.

Escalante, E. J. A. y J. Kohashi. 1993. El rendimiento y crecimiento del frijol. Manual para toma de datos. Colegio de Postgraduados. Montecillos, México. p. 84.

Escalante, E. J. A. y J. Kohashi. 1993. El rendimiento y crecimiento del frijol. Manual para toma de datos. Colegio de Postgraduados. Montecillos, México. p. 84.

Fujii, Y; Furukawa, M; Hayakawa, Y; Sugahar, K; Shibuya, T. 1991. Survey of Japanese medicinal plants for the detection of allelopathic proiperites-Weed Research. Tokio. Absattract. p. 36-42.

Fundación Martínez E. A. 1999. Las plantas de extractos. Base para un plan de desarrollo del sector. Ediciones Mundi Prensa. España. p. 539.

French , E. R. y T. T. Hebert. 1982. Métodos de investigación Fitopatológicas. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. Costa Rica. p. 118-123

Freed, R. S. P. Eisensmith, S. Goetz, D. Reicosky, V.W. Smail, and P. Wolber. 1991. MSTAT-C. A microcomputer program for design, management, and análisis of agronomic research experiments. Michigan State Univerisity.

Gordon M. 1984. Practical aspects of gas chromatography/ mass spectrometry. A wiley interscience publication. p. 33-111.

García R. H. 1995. Plantas curativas mexicanas. Editorial Panorama. Tercera Reimpresión. México. p. 263.

Guzmán, L. B. 1995. Enfermedades de las plantas cultivadas. Editorial Universidad Católica de Chile. Chile. Pag. 423-434.

Herbone J. B. 1989. Methods in plant biochemistry. Academic press limited. p. 1-12.

Hoagland E. R. Allelopathic interactions of plants and pathogens. Rrecent Advances in Allelopathy Vol. I. A Science for the Future. P. 423-430 .

Kohashi, S. J. 1996. Aspectos de la morfología y fisiología del frijol *Phaseolus vulgaris* L. y su relación con el rendimiento. Editado por el Colegio de Posgraduados. Montecillos, México. p. 42.

Little, M. T., y F. J. Hills 1989. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Editorial Trillas. Segunda Edición. México. P. 72.

López, T. M. 1995. Resistencias de las plantas. Editorial Trillas. México. p. 82-93.

Llayudó i Á. E. 1998. Relaciones químicas: una revisión a las alelosustancias vegetales. Editorial Oikos-Tau España. p. 154.

Maruzzela, J. C. and Balter, J. 1959. The action of essential oils on phytopathogenic fungi. Plant Dis.Rep. 43: 1143-1147.

Martínez S. U. 1996. Alelopatía. Escuela de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca. <http://mailweb.udlap.mx/~aleph/alephzero6/alelopatia.html>, e-mail utm@dca.cu.uabjo.mx

Messiaen, C. M. 1995. Enfermedades de las hortalizas. Ediciones Mundi Prensa. México. p. 275-288.

Meneses, R., H. Waaijenberg y L. Pierola. 1996. Las leguminosas en la Agricultura Boliviana. Proyecto. Rhizobiología. Bolivia. p. 227-236.

Moreno M. E. 1996. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Universidad Nacional Autónoma de México. p. 395.

Montes R. and Carvajal M. *Aspergillus* control in maize with plant essential Oils. Roцент Advances in Allelopathy Vol. I. A Science for the Future. p. 463-469.

Montes B. R., Bravo L. L., y Bermúdez T. K. 1998. Inhibición del crecimiento micelial y esporulación de *Fusarium moniliforme* Sheld. Mediante aceites esenciales vegetales y algunos de sus componentes químicos. Rev. Mex. de Fitopatología 16 (1): 18-23

Montes B. R. 2000. Plantas medicinales como alternativa de control de enfermedades de vegetales. Resumen del XIV Congreso internacional de medicina tradicional y alternativas terapéuticas. México. p.153-154.

Michel, W. 1999. Functions of plant secondary metabolites and their exploitation in biotechnology. Annual plant reviews, vol III. Sheffield Academic Press Ltd. England. p. 362.

Muñoz, L. F. de B. 2000. Plantas medicinales y aromáticas. Ediciones Mundi-Prensa. España. p. 365.

Ortiz, V. M. 1998. El frijol en el estado de Zacatecas. Gobierno del Estado de Zacatecas. México.

Philip, G. J. 1982. Estrategias de adaptación de las plantas. Edi. Limusa. México. p. 202-203.

Pazmiño A. 1999. Alelopatía. Escuela de Agronomía de La Universidad de Chile. <http://www.es-mas.com.cl/categorias/cnaturales/alelopatia.htm>.

Peter B. 1999. Natural products from plants. Crc pres. p. 18-25.

Romero, C. S. 1998. Hongos fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo. Edo. De México. p. 311-316.

Romero De V. A. 1985. Productos de la flora mexicana. Editorial Limusa. México. p. 35-38, 49-50.

Rojas G. M. 1993. Fisiología Vegetal Aplicada. Cuarta edición. Editorial McGraw-Hill. México. p. 91-93

Sampietro R. A 1999. Alelopatía: concepto, características, metodología de estudio e importancia. Universidad Nacional de Tucumán Ayacucho. Argentina. <http://fai.unne.edu.ar/biologia/alelopatia/alelopatia.htm>

Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 1992. Guía fitosanitaria para el cultivo del frijol. Serie Vegetal. Sistema Producto Frijol. México. p. 1-18

Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicas. 1992. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. México.

Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural 1998, Situación Actual y Perspectivas de la Producción de frijol en México 1990-1998. Juan Manuel Galarza Mercado (ed). México. p. 1-8.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo, Rural, Pesca y Alimentación. 2000. Situación Actual y Perspectivas de la Producción de Frijol en México 1999-2000. Publicado y editado por el Centro de Estadísticas Agropecuarias CEA. México. p. 1-22.

Seigler S. D. 1998. Plant secondary metabolism. Kluber Academic Publishers. p. 759.

Untitled Document. Alelopátia. <http://www.buenasondas.org/alelopatia.htm>

Valencia O. C. 1995. Fundamentos de fitoquímica. Editorial Trillas. Primera edición. México. p. 235.

Webcolombia. Plantas alelopaticas. [htt: //www. webcolombia. com/alelopatia/htm](http://www.webcolombia.com/alelopatia/htm)

VII.- Anexo.

Anexo 1. Análisis de Varianza del proyecto.

Cuadro 1. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Media (2,500 ppm). 1ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramos.	11	1.404	0.128	45.838	2.08	
Error	36	0.100	0.003			0.0000
Total	47	1.504				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 2. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Media (2,500 ppm). 2ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramos.	11	162.460	14.769	40.845	2.08	
Error	36	13.017	0.362			0.0000
Total	47	175.477				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 3. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Media (2,500 ppm). 3ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramos.	11	1757.428	159.766	109.833	2.08	0.0000
Error	36	52.367	1.455			
Total	47	1809.794				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 4. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Media (2,500 ppm). 4ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramos.	11	8770.075	797.280	102.959	2.08	0.0000
Error	36	278.772	7.744			
Total	47	9048.846				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 5. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Media (2,500 ppm). 5ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramos.	11	15290.622	1390.057	186.695	2.08	0.0000
Error	36	268.041	7.446			
Total	47	15558.663				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Cuadro 6. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Media (2,500 ppm). 6ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	11	21454.425	1950.402	160.062	2.08	0.0000
Error	36	438.670	12.185			
Total	47	21893.095				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 7. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Media (2,500 ppm). 7ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	11	23128.671	2102.606	622.907	2.08	
Error	36	121.517	3.375			0.0000
Total	47	23250.188				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 8. Análisis de varianza para de la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración BAJA (1,250 ppm). 1ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	11	1.243	0.113	2.469	2.08	
Error	36	1.648	0.046			0.0203
Total	47	2.891				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 9. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Baja (1,250 ppm). 2ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	11	2475.923	225.084	114.177	2.08	
Error	36	70.969	1.971			0.0000
Total	47	2546.892				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 10. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración baja (1,250 ppm). 3ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	11	9823.947	893.086	220.773	2.08	
Error	36	145.630	4.045			0.0000
Total	47	9969.577				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Cuadro 11. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración baja (1,250 ppm). 4ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	11	14447.462	1313.406	182.700	2.08	
Error	36	258.798	7.189			0.0000
Total	47	14706.260				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 12. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración baja (1,250 ppm). 5ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	11	21041.187	1912.835	221.522	2.08	
Error	36	310.859	8.635			0.0000
Total	47	21352.046				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 13. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Baja (1,250 ppm). 6ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	11	24231.900	2202.900	6272.611	2.08	
Error	36	12.643	0.351			0.0000
Total	47	24244.543				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 14. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Baja (1,250 ppm). 7ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	11	23209.298	2109.936	721.440	2.08	
Error	36	105.286	2.925			0.0000
Total	47	23314.584				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 15. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Alta (3,750 ppm). 1ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	11	2.301	0.209	7.312.	2.08	
Error	36	1.030	0.029			0.0000
Total	47	3.331				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 16. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Alta (3,750 ppm). 2ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramos.	11	14.434	1.312	12.970	2.08	
Error	36	3.642	0.101			0.0000
Total	47	18.076				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 17. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Alta (3,750 ppm). 3ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramos.	11	288.913	26.265	37.080	2.08	
Error	36	25.500	0.708			0.0000
Total	47	314.412				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 18. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Alta (3,750 ppm). 4ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramos.	11	459.139	41.740	32.895	2.08	
Error	36	45.680	1.269			0.0000
Total	47	504.818				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 19. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Alta (3,750 ppm). 5ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramos.	11	1275.007	115.910	42.700	2.08	
Error	36	97.723	2.715			0.0000
Total	47	1372.730				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 20. Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Alta (3,750 ppm). 6ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramos.	11	2572.487	233.862	22.447	2.08	
Error	36	375.055	10.418			0.0000
Total	47	2947.542				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

TUBO CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 21 Análisis de varianza para la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Concentración Alta (3,750 ppm). 7ª Evaluación.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	11	5156.582	468.780	24.976	2.08	
Error	36	675.704	18.770			0.0000
Total	47	5832.587				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 22. Análisis de varianza de la pruebas de germinación estándar de frijol en toallas absorbentes con aceites inhibidores de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. (Longitud de epicótilo).

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	6	47409.321	7901.553	17.917	2.17	
Error	413	182137.346				0.0000
Total	419	229546.667				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 23. Análisis de varianza de la pruebas de germinación estándar de frijol en toallas absorbentes con aceites inhibidores de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. (Longitud de Hipocótilo).

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	6	55084.142	9180.690	13.635	2.17	0.0000
Error	413	278082.705	673.324			
Total	419	333166.874				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 24. Análisis de varianza de la pruebas de germinación estándar de frijol en toallas absorbentes con aceites inhibidores de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. (Grosor de Hipocótilo).

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	6	34.976	5.829	1.461	2.17	
Error	413	1648.365	3.991			0.1904
Total	419	1683.341				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 25. Análisis de varianza de la pruebas de germinación estándar de frijol en toallas absorbentes con aceites inhibidores de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. (Longitud de epicótilo).

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	6	50236.62	8372.760	26.259	2.17	
Error	413	131685.348	318.851			0.0000
Total	419	181921.910				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

FALLA DE ORIGEN

Cuadro 26. Análisis de varianza de la pruebas de germinación estándar de frijol en toallas absorbentes con aceites inhibidores de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. (Grosor de epicótilo).

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	6	66.094	11.016	15.636	2.17	
Error	413	290.967	0.705			0.0000
Total	419	357.061				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 27. Análisis de varianza de peso seco de la germinación estándar de frijol en toallas absorbentes con aceites inhibidores de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	5	0.332	0.066	1.491	2.81	
Error	12	0.535	0.045			0.0000
Total	17	0.868				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 28. Análisis de varianza del conteo de macroconidios de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* desarrollados en PDA tratado con aceites a una concentración de 2,500 ppm.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	7	1037.844		15.523	2.25	
Error	120	1146.125	9.551			0.0000
Total	127	2183.969				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 29. Análisis de varianza del conteo de microconidios de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* desarrollados en PDA tratado con aceites a una concentración de 2,500 ppm.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	7	1100.219	7.174	21.623	2.25	
Error	120	872.250	7.262			0.0000
Total	127	1972.469				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 30. Análisis de varianza del conteo de macroconidios de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* desarrollados en PDA tratado con aceites a una concentración de 1,250 ppm.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	7	36766.117	5252.302	91.302	2.09	
Error	120	6923.063	57.692			0.0000
Total	127	43689.180				

La f de tablas esta dada con un error del 0.05

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 30. Análisis de varianza del conteo de microconidios de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* desarrollados en PDA tratado con aceites a una concentración de 1,250 ppm.

Fuente de Variación	G. de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calc.	F Tablas	Prob.
Tramtos.	7	210.5	30.071	49.859	2.09	
Error	120	72.375	0.603			0.0000
Total	127	282.875				

La F de tablas esta dada con un error del 0.05

Cuadro 27. Aceites esencial con actividad antimicrobiana.

<i>Abies alba</i>	<i>Cochleospermum regium</i>	<i>Jasona candicans</i>	<i>Piper angustifolia</i>
<i>Achillea fragrantissima</i>	<i>Cortandrum sativum</i>	<i>Jasona montana</i>	<i>Pogostemon patchouli</i>
<i>Aegle marmelos</i>	<i>Cymbopogon citratos</i>	<i>Melaleuca alternifolia</i>	<i>Publicaria undiculata</i>
<i>Ageratum conyzoides</i>	<i>Cymbopogon flexuosus</i>	<i>Mentha arvensis</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
<i>Allium sativum</i>	<i>Cymbopogon martin</i>	<i>Mentha piperita</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
<i>Artemisia parviflora</i>	<i>Cymbopogon winterianus</i>	<i>Micromeria thymifolia</i>	<i>Salvia officinalis</i>
<i>Artemisia rhoxburghiana</i>	<i>Daucus carota</i>	<i>Nigella sativum</i>	<i>Sauraje montana</i>
<i>Bystrpogon pubmosus</i>	<i>Ellialteria cardamomum</i>	<i>Ocimum gratissimum</i>	<i>Sideritis clandestina</i>
<i>Calamintha nepeta</i>	<i>Eucaliptios spp.</i>	<i>Ocimum basilicum</i>	<i>Sideritis spylea</i>
<i>Cinnamomum camphora</i>	<i>Eucaliptios citriodora</i>	<i>Perlargonium graveolens</i>	<i>Syzygium aromaticum</i>
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	<i>Helichrysum amorginum</i>	<i>Picea abies</i>	<i>Tymus vulgaris</i>
<i>Citrus aurantium</i>	<i>Helichrysum italicum</i>	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Tymus masticina</i>

Fueme: MICHEL W, 1999. Subrayados: aceites empleados en este trabajo.

Cuadro 28. Características de las especies utilizadas en este trabajo.

Especie	Propiedades terapéuticas	Principios activos
Hierbabuena	Antifúngicas, germicida, antivirales, antiséptica etc.	Aceite esencial (1-3%), rico en mentol y mentona.
Eucalipto	Antiinflamatorias, expectorantes, balsámica, hipoglucémicas, etc.	Aceite esencial (0.5-3.5%) su componente primordial es eucaliptol.
Laurel	Reumatismo, neuralgias, trastornos urinarios.	Aceite etérico, pinenos, aldehído benzoico y cinámico.
Clavo	Estimulante, antiseptico.	Aceite esencial (14-21%).
Mejorana	Espasmolíticas, sedantes, estimulantes, digestivas, antioxidantes.	Aceite esencial (0.7-3%), rico en hidrocarburos terpénicos, linalol etc.
Romero	Analgésica, antiinflamatorias, diurética, protector hepático etc.	Aceite esencial (0.5-2.5%), alfa-pineno, canfeno, cineol, alcanfor, etc.
Orégano	Calmantes, astringente, tónicas, Sedantes, etc.	Aceite esencial (0.5-0.4%) rico en timol y/o carvacrol, contiene también pineno, sesquiterpenos, etc.
Tomillo	Antioxidante, antiespasmódica, cicatrizante, digestiva, estomacales, etc	Aceite esencial (0.5-2.5%) rico en timol y carvacrol contiene además geraniol, terpineol linalol.
Pimienta	Bronquitis, diurética, digestión, induce la menstruación.	Aceite esencial (2.5%) alcaloides, piperina, y piperetina.
Canca	Astringente, germicida.	Aceite esencial con (60-70%) de aldehído cinámico.

Fuente: Fundacion Martin E. A. 1999; Muñoz F, 2000.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN