



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA SUR  
ÁREA DE CONOCIMIENTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGRONOMÍA

**TESIS**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE PLANTAS  
MEDICINALES DE BAJA CALIFORNIA SUR CONTRA *Fusarium oxysporum* EN  
ALBAHACA (*Ocimum basilicum* L.)**

QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**MAESTRO EN DESARROLLO AGROPECUARIO DE ZONAS ÁRIDAS**

PRESENTA:

**FRANCISCO NIETO NAVARRO**

DIRECTOR INTERNO:

**M. EN C. JORGE MANUEL AGÚNDEZ ESPINOZA**

DIRECTOR EXTERNO:

**DR. RAMÓN JAIME HOLGUÍN PEÑA**

LA PAZ, B. C. S., OCTUBRE DE 2012



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA SUR  
ÁREA DE CONOCIMIENTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGRONOMÍA

**TESIS**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE PLANTAS  
MEDICINALES DE BAJA CALIFORNIA SUR CONTRA *Fusarium oxysporum* EN  
ALBAHACA (*Ocimum basilicum* L.)**

**QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MAESTRO EN DESARROLLO AGROPECUARIO DE ZONAS ÁRIDAS**

PRESENTA:

**FRANCISCO NIETO NAVARRO**

DIRECTOR INTERNO:

**M. EN C. JORGE MANUEL AGÚNDEZ ESPINOZA**

DIRECTOR EXTERNO:

**DR. RAMÓN JAIME HOLGUÍN PEÑA**

LA PAZ, B. C. S., OCTUBRE DE 2012

## ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

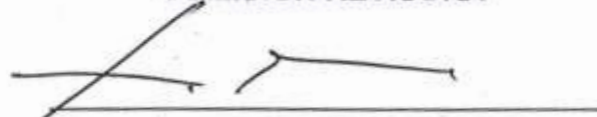
En la ciudad de La Paz, Baja California Sur, siendo las 12:00 horas del día 28 del mes de junio de 2012, los miembros de la Comisión Revisora de la tesis:

### **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE PLANTAS MEDICINALES DE BAJA CALIFORNIA SUR CONTRA *Fusarium oxysporum* EN ALBAHACA (*Ocimum basilicum* L.)”,**

presentada por el alumno **NIETO NAVARRO Francisco** aspirante al grado de Maestro en Desarrollo Agropecuario de Zonas Áridas,

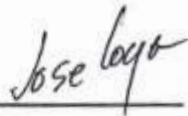
manifestaron su **APROBACIÓN PARA LA IMPRESIÓN**, en virtud de haber satisfecho los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

#### COMISIÓN REVISORA



**M. en C. Jorge Manuel Agúndez Espinoza**

**Presidente**



**PhD. José G. Loya Ramírez**

**Secretario**



**Dr. C. Jorge Arnoldo Villegas Espinoza**

**Vocal**



## **AGRADECIMIENTOS:**

A la Universidad Autónoma de Baja California Sur, que como institución me ha proporcionado los medios y la infraestructura necesaria para mi superación académica.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, por las facilidades y el financiamiento otorgados.

A mis directores, M. en C. Jorge Manuel Agúndez Espinoza y Dr. Ramón Jaime Holguín Peña, por su gran apoyo y valiosa dirección en el trabajo de investigación.

Al Ing. Juan de Dios Duarte Osuna, Jefe del Departamento Académico de Agronomía, por su gran apoyo y las facilidades otorgadas para la realización de este posgrado.

Al Ing. Martín Guadalupe de Jesús Aguilar García, Técnico Titular del Programa de Agricultura en Zonas Áridas del CIBNOR, S.C., por su valioso apoyo técnico y entrenamiento en el área de fitopatología.

A mis compañeros de la maestría: Martín, Rodolfo, Javier y Sandra, con quienes he compartido dos años y medio de mi vida y de quienes he aprendido mucho para ser mejor como profesional y como persona.

A la Dra. Rosalba Encarnación Dimayuga, por su apoyo, consejos y enseñanzas que me permitieron incursionar en el mundo de la investigación de las plantas medicinales de la región y cuyos estudios me dieron las bases para este trabajo de tesis.

A todos los maestros que en cada etapa de mi formación académica han ido forjando mi persona.

A todas y cada una de las personas que me alentaron y ayudaron en mi formación y en mis estudios de maestría. A todos GRACIAS.

## **DEDICATORIA**

**A la memoria de mi madre, María Concepción Navarro Jerez  
A mi padre, Juan José Nieto Sánchez, ejemplo de vida y apoyo incondicional  
A mis hermanos Jesús Nieto Navarro y Juan Ángel Nieto Navarro  
Al amor de mi vida, Karla Azucena Nieto Ramírez**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	vi
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	vii
<b>ÍNDICE DE GRÁFICAS</b>	ix
<b>RESUMEN</b>	x
<b>ABSTRACT</b>	xi
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
1.1. Objetivo general	3
1.2. ..Objetivos específicos	3
<b>II. HIPÓTESIS</b>	4
<b>III. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	4
<b>IV. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	8
4.1. Localización del área de estudio	8
4.2. Obtención de la cepa de <i>Fusarium oxysporum</i>	8
4.2.1. Diagnóstico de fusariosis en albahaca	10
4.2.2. Aislamiento del hongo	10
4.2.3. Identificación del agente causal	10
4.2.4. Comprobación de la patogenicidad del agente causal	11
4.2.4.1. Preparación del inóculo	12
4.2.4.2. Prueba de patogenicidad	12
4.3. Selección de plantas medicinales	12
4.4. Obtención de extractos por maceración y soxhlet	16
4.5. Inhibición <i>in vitro</i>	17
4.5.1. Método de difusión en agar	17
4.5.2. Método de dilución en agar	18
4.5.3. Determinación de la concentración inhibitoria media (CI <sub>50</sub> )	19
<b>V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	21
5.1. Obtención de la cepa de <i>Fusarium oxysporum</i>	21
5.1.1. Diagnóstico de fuariosis en albahaca	21
5.1.2. Aislamiento del hongo	21

5.2. Obtención de extractos	22
5.3. Inhibición <i>in vitro</i>	25
5.3.1. Método de difusión en agar	25
5.3.2. Método de dilución en agar	28
5.3.2.1. <i>Larrea tridentata</i>	28
5.3.2.2. <i>Hymenoclea monogyra</i>	31
5.3.2.3. <i>Lippia palmeri</i>	34
5.3.2.4. <i>Trixys peninsularis</i>	36
5.4. Determinación de la CI <sub>50</sub>	39
5.4.1. <i>Larrea tridentata</i>	39
5.4.2. <i>Hymenoclea monogyra</i>	41
5.4.3. <i>Lippia palmeri</i>	43
5.4.4. <i>Trixys peninsularis</i>	45
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	47
<b>VII. IMPACTO EN LOS INDICADORES DE DESARROLLO</b>	49
<b>VIII. LITERATURA CITADA</b>	50
<b>IX. ANEXOS</b>	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Localización de los laboratorios de Farmacognosia (UABCS) y Fitopatología (CIBNOR)	9
2	Coloración salmón (A) y malva (B) de la cepa aislada; morfología microscópica donde se observan las macroconidias (C), hifa, macroconidio y clamidiospora (D)	22



**ÍNDICE DE CUADROS**

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
1	Especies medicinales seleccionadas por su endemismo	13
2	Especies seleccionadas por su uso en la medicina tradicional de BCS	14
3	Especies medicinales seleccionadas por su actividad biológica reportada	15
4	Comparación de las características de la cepa aislada con respecto a la cepa de referencia de <i>Fusarium oxysporum</i>	21
5	Rendimiento de los extractos obtenidos según el solvente y método de extracción utilizado	23
6	Plantas con extractos activos contra <i>Fusarium oxysporum</i>	26
7	Promedio diario de crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> evaluado con extracto de <i>Larrea tridentata</i>	29
8	Porcentajes de inhibición micelial para <i>Larrea tridentata</i>	31
9	Promedio diario de crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> evaluado con extracto de <i>Hymenoclea monogyra</i>	32
10	Porcentajes de inhibición micelial para <i>Hymenoclea monogyra</i>	33
11	Promedio diario de crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> evaluado con extracto de <i>Lippia palmeri</i>	34

12	Porcentajes de inhibición micelial para <i>Lippia palmeri</i>	36
13	Promedio diario de crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> evaluado con extracto de <i>Trixis peninsularis</i>	37
14	Porcentajes de inhibición micelial para <i>Trixis peninsularis</i>	39

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

<b>Gráfica</b>		<b>Página</b>
1	Diámetro de crecimiento micelial diario de <i>Fusarium oxysporum</i> , evaluado con extracto de <i>Larrea tridentata</i>	30
2	Diámetro de crecimiento micelial diario de <i>Fusarium oxysporum</i> , evaluado con extracto de <i>Hymenoclea monogyra</i>	33
3	Diámetro de crecimiento micelial diario de <i>Fusarium oxysporum</i> , evaluado con extracto de <i>Lippia palmeri</i>	35
4	Diámetro de crecimiento micelial diario de <i>Fusarium oxysporum</i> , evaluado con extracto de <i>Trixis peninsularis</i>	38
5	Porcentaje de inhibición micelial del extracto de <i>Larrea tridentata</i> sobre <i>Fusarium oxysporum</i>	40
6	CI <sub>50</sub> de <i>Larrea tridentata</i> mediante el ajuste de la línea	40
7	Porcentaje de inhibición micelial del extracto de <i>Hymenoclea monogira</i> sobre <i>Fusarium oxysporum</i>	42
8	CI <sub>50</sub> de <i>Hymenoclea monogyra</i> mediante el ajuste de la línea	42
9	Porcentaje de inhibición micelial del extracto de <i>Lippia palmeri</i> sobre <i>Fusarium oxysporum</i>	43
10	CI <sub>50</sub> de <i>Lippia palmeri</i> mediante el ajuste de la línea	44
11	Porcentaje de inhibición micelial de extracto de <i>Trixis peninsularis</i> sobre <i>Fusarium oxysporum</i>	45
12	CI <sub>50</sub> de <i>Trixis peninsularis</i> mediante el ajuste de la línea	46

## RESUMEN

Se evaluó la actividad antifúngica *in vitro* de 166 extractos contra *Fusarium oxysporum*. los extractos fueron obtenidos de 47 especies de plantas medicinales de Baja California Sur y probados utilizando el método de difusión en agar. La cepa de prueba fue aislada de una planta de albahaca enferma de fusariosis e identificada mediante morfología macro y microscópica. 17 especies plantas resultaron positivas, con inhibiciones de crecimiento micelial que van del 7.4 al 53.6%. De éstas especies, *Larrea tridentata*, *Hymenoclea monogyra*, *Lippia palmeri* y *Trixis peninsularis* fueron analizadas por el método de dilución en agar. Los resultados del análisis PROBIT indicaron que la  $CI_{50}$  para esas especies fue: 141.72, 277.5, 161.15 y 1710.15 ppm., respectivamente. Estos resultados demuestran el potencial que las especies de plantas medicinales de Baja California Sur poseen como alternativa de control de hongos fitopatógenos.

**ABSTRACT**

In vitro anti-fungal activity of 166 extracts against *Fusarium oxysporum* was evaluated. The extracts were obtained from 47 medicinal plant species of Baja California Sur and tested using the agar dilution method. The test strain was isolated from a basil plant sick of fusarium wilt and identified by macroscopic and microscopic morphology. 17 plant species resulted positive with mycelial growth inhibition ranging from 7.4 to 53.6%, from these species, *Larrea tridentata*, *Hymenoclea monogyra*, *Lippia palmeri* and *Trixis peninsularis* were analyzed by the agar dilution method. The results from PROBIT indicate the  $CI_{50}$  for these three species were: 141.72, 277.5, 161.15 and 1710.15 ppm., respectively. These results demonstrate the potential of medicinal plants species of Baja California Sur as an alternative to control phytopathogenic fungi.

## I. INTRODUCCIÓN

La albahaca (*Ocimum basilicum*) es una planta utilizada popularmente como condimento, ya sea que se encuentre fresca o seca. Asimismo, tiene una gran importancia económica pues sus aceites se usan en la industria de perfumes, cosméticos y medicina tradicional (Reis *et al.*, 2008). En Baja California Sur (BCS), el 100% de su producción es exportada a Estados Unidos de América (USA por sus siglas en inglés), donde es muy demandada en la cocina gourmet. En 2010, la producción de albahaca en BCS fue de 627 toneladas (Beltrán *et al.*, 2010).

A nivel de campo, el cultivo de albahaca presenta diversos problemas de enfermedades fungosas causadas por *Cercospora ocimicola*, *Curvularia* sp, *Fusarium* sp. y *Alternaria* sp. (Koike *et al.*, 2007). Entre estas enfermedades, el marchitamiento ocasionado por *Fusarium oxysporum* se ha convertido en el mayor problema a causa de su naturaleza destructiva; actualmente, se encuentra diseminada en la mayoría de los países que cultivan esta planta debido a la importación de semillas contaminadas. Los primeros reportes de esta enfermedad aparecieron en Rusia, aunque también se sabe de casos en Francia, USA Italia e Israel. Una de las formas para combatirla es el uso de fungicidas químicos sintéticos gracias a su eficiencia en el combate del patógeno; sin embargo, esta forma de control se complica por el reducido número de fungicidas registrados para este cultivo (Reis *et al.*, 2008; Chiocchetti *et al.*, 1999), así como por los efectos negativos que su uso puede ocasionar.

La utilización excesiva de agroquímicos sintéticos puede traer consecuencias negativas, como son el incremento de los costos de producción, la contaminación química

de los campos de cultivo y agua, además de la presencia de residuos en las cosechas, lo que, en muchos casos, ocasiona serios daños a la salud humana. Este tipo de problemas se ha incrementado con el paso de los años, obligando a los investigadores a buscar nuevas alternativas para el control de hongos fitopatógenos, quienes han encontrado en las plantas una fuente prometedora de sustancias curativas (Cantrell *et al.*, 2005; Sharma y Kumar, 2009).

A lo largo de la historia de la civilización humana, el uso de plantas con fines terapéuticos o medicinales ha sido vital para su sobrevivencia. La observación y el empirismo han llevado al conocimiento sobre las propiedades medicinales de los recursos naturales que existen en diferentes regiones del mundo, lo que se conoce como medicina tradicional. Son estos recursos naturales los que han servido como base para estudios científicos que buscan nuevas moléculas activas (Rayavarapu y Kaladhar, 2011; Murugesan *et al.*, 2011).

Las moléculas activas provienen del metabolismo secundario de la planta, donde son sintetizadas como respuesta a los estímulos externos, muchas veces como defensa química frente al ataque de otras plantas, depredadores o condiciones climáticas adversas. BCS se encuentra en un lugar privilegiado para la producción de metabolitos novedosos en las plantas. Su situación geográfica, aislada del resto del continente, ha provocado un alto grado de endemismo vegetal, con su correspondiente riqueza en metabolitos secundarios que no se encuentran en otros lugares (Encarnación, 1996).

Considerando el grave daño que los hongos fitopatógenos ocasionan en los cultivos, así como los daños a la salud y al medio ambiente que provoca el uso indiscriminado de

químicos sintéticos, es necesario buscar alternativas naturales que sean efectivas y menos dañinas para el entorno. Afortunadamente, las plantas medicinales de BCS han demostrado ser una valiosa fuente de compuestos activos que pueden ser investigados para su aplicación en el control de los hongos fitopatógenos como *F. oxysporum*.

### **1.1. Objetivo general:**

Evaluar el potencial antifúngico de un grupo de plantas medicinales de BCS contra *F. oxysporum* en albahaca (*O. basilicum*).

### **1.2. Objetivos específicos:**

- Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum* asociado a la enfermedad.
- Determinar la actividad antifúngica de los extractos por el método de difusión en agar.
- Determinar la  $CI_{50}$ , de los extractos más activos, mediante análisis PROBIT.



## II. HIPÓTESIS

Las plantas medicinales de Baja California Sur presentan compuestos bioactivos antifúngicos contra *F. oxysporum*.

## III. REVISIÓN DE LITERATURA

En la actualidad, existen múltiples investigaciones enfocadas a la búsqueda de alternativas para el control de las enfermedades causadas por *Fusarium*, tanto en plantas como en humanos. Parte de estas investigaciones se ha centrado en el uso de extractos de plantas y compuestos activos que provienen de ellos. A continuación, se detallan algunos de estos trabajos.

Cantrell *et al.* (2005) realizaron un fraccionamiento biodirigido del extracto crudo hexano-acetato de etilo-agua de la parte aérea de *Haplophyllum sieversii*. Como resultado, se logró el aislamiento de cuatro alcaloides bioactivos conocidos como flindersina, anidroevoxina, haplamina y el lignano eudesmina. Fue evaluada la actividad de los cuatro compuestos en contra de *Colletotrichum fragariae*, *C. gloeosporioides*, *C. acutatum*, *Botrytis cinerea*, *F. oxysporum* y *Phomopsis obscurans* a una dosis de 50, 100 y 150 micro molar. De los cuatro compuestos, la flindersina fue la que mostró la actividad antifúngica más alta.

Por otra parte, Siva *et al.* (2008) probaron el efecto antifúngico de los extractos crudos de 20 especies de plantas medicinales utilizando agua, etanol y acetona como solventes. Concluyeron que todos los extractos al 50% de concentración fueron efectivos en la reducción del crecimiento micelial de *F. oxysporum*, sp., *Melongenae mauto e Ishigami*. De éstas, las cuatro más activas son: *Adhatoda vasica*, *Jatropha curcas*, *Sapindus*

*emarginatus* y *Vitex negundo*, a concentraciones de 10%, 20%, 30% y 40%. *J. curcas* mostró una inhibición del crecimiento micelial de 100% cuando se evaluó a 40% de concentración.

Fokialakis *et al.* (2006) evaluaron la actividad antifúngica de 30 especies de plantas de la flora griega, utilizando directamente ensayos bioautográficos contra tres especies de *Colletotrichum*. El extracto de diclorometano de *Echinops ritro* (*Asteraceae*) fue el más potente y su fraccionamiento biodirigido condujo al aislamiento de 8 tiofenos activos a 3 y 30 micro molar contra las tres especies de *Colletotrichum*: *C. acutatum*, *C. fragariae* y *C. gloeosporioides* y contra *F. oxysporum*, *Phomopsis viticola* y *P. obscurans*.

Por otra parte, Krauze y Wiwart (2003) evaluaron la actividad antifúngica de las biflavonas aisladas de *Taxus baccata* y *Ginkgo biloba*: 7-O-Mentometilflavona, bilobetin, ginkgetin, sciadopitysin y 2,3-dihidrosciadopitysin, contra *Alternaria alternata*, *Fusarium culmorum* y *Clodosporium oxysporum*. De éstas, la bilobetin exhibió una actividad antifúngica significativa, presentando valores de dosis con efecto al 50% (ED<sub>50</sub>) de 11, 14 y 17 µM.

Sharma y Kumar (2009) probaron el potencial antifúngico de diferentes extractos de *Capparis decidua*, *Lantana camara* y *Tridax procumbens*, a 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml y 10 mg/ml contra *F. oxysporum*. Los resultados demostraron que los flavonoides libres y esteroides de *T. procumbens* (flores) y los flavonoides de *C. decidua* (frutos y tallo) inhibieron al 100% la germinación de esporas del hongo.

Ochoa (2004) realizó una selección de plantas medicinales de BCS por su actividad antifúngica, utilizando la difusión en agar como método de prueba contra *Aspergillus niger*

y *F. oxysporum*. Examinó los extractos etanólicos de 22 especies y encontró actividad en los extractos de *Xanthium strumarium* y *Lophocereus schottii*.

De la misma manera, López *et al.* (2005) evaluaron el efecto inhibitorio de *Allium sativum*, *Larrea tridentata*, *Flourensia cernua*, *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum zeylanicum* y *Mangifera indica* sobre el crecimiento micelial de *F. oxysporum* sp. *lycopersici*, *Rhizoctonia solani* y *Verticillium dahliae*. Los extractos con mayor efecto inhibitorio, sobre las tres cepas de hongos, fueron los de clavo (*Syzygium aromaticum*), ajo (*Allium sativum*) y gobernadora (*Larrea tridentata*).

Por su parte, Subban *et al.* (2011) evaluaron el efecto antifúngico de 11 especies de plantas medicinales: *Aloe vera*, *Alpinia calcarata*, *Acalypha indica*, *Carum copticum*, *Leucas aspera*, *Ocimum sanctum*, *Piper betle*, *Phyllanthus niruri*, *Solanum trilobatum*, *Memycelon umbellatum* y *Tridax procumbens*, contra el hongo fitopatógeno *F. oxysporum*. El método utilizado fue el de difusión en agar, comprobando que *Memycelon umbellatum* fue el más activo con 21 mm de inhibición.

En su estudio, Takhi *et al.* (2011) evaluaron el potencial antimicrobiano y antifúngico de los compuestos fenólicos, alcaloides y aceites esenciales de *Datura stramonium*, *Peganum harmala*, *Ricinus communis*, *Nerium oleander*, *Citrullus colocynthis*, *Cleome arabica*, *Pistacia atlantica* y *Pistacia lentiscus*. Los aceites esenciales de *Pistacia atlántica* y *Pistacia lentiscus* mostraron una actividad inhibitoria contra *Escherichia coli* ATTC 25922, *Staphylococcus aureus* ATTC 43300 MRSA+, *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 27853, y *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* y *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Finalmente, Al-Mughrabi y Aburjai (2003) probaron la actividad antifúngica de 9 extractos de *Ferula hermonis* F. (*Umbelliferae*) contra *Alternaria solani*, *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp., *F. oxysporum*, *Mucor* sp., *Penicillium italicum*, *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Rhizopus stolonifer*, *Stemphylium solani* y *Verticillium dahliae*. Todos los extractos mostraron actividad en mayor o menor grado contra todas las cepas probadas; sin embargo, la actividad más potente que fue contra las cepas de *V. dahliae*, *P. italicum* y *R. stolonifer*.

## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Localización del área de estudio**

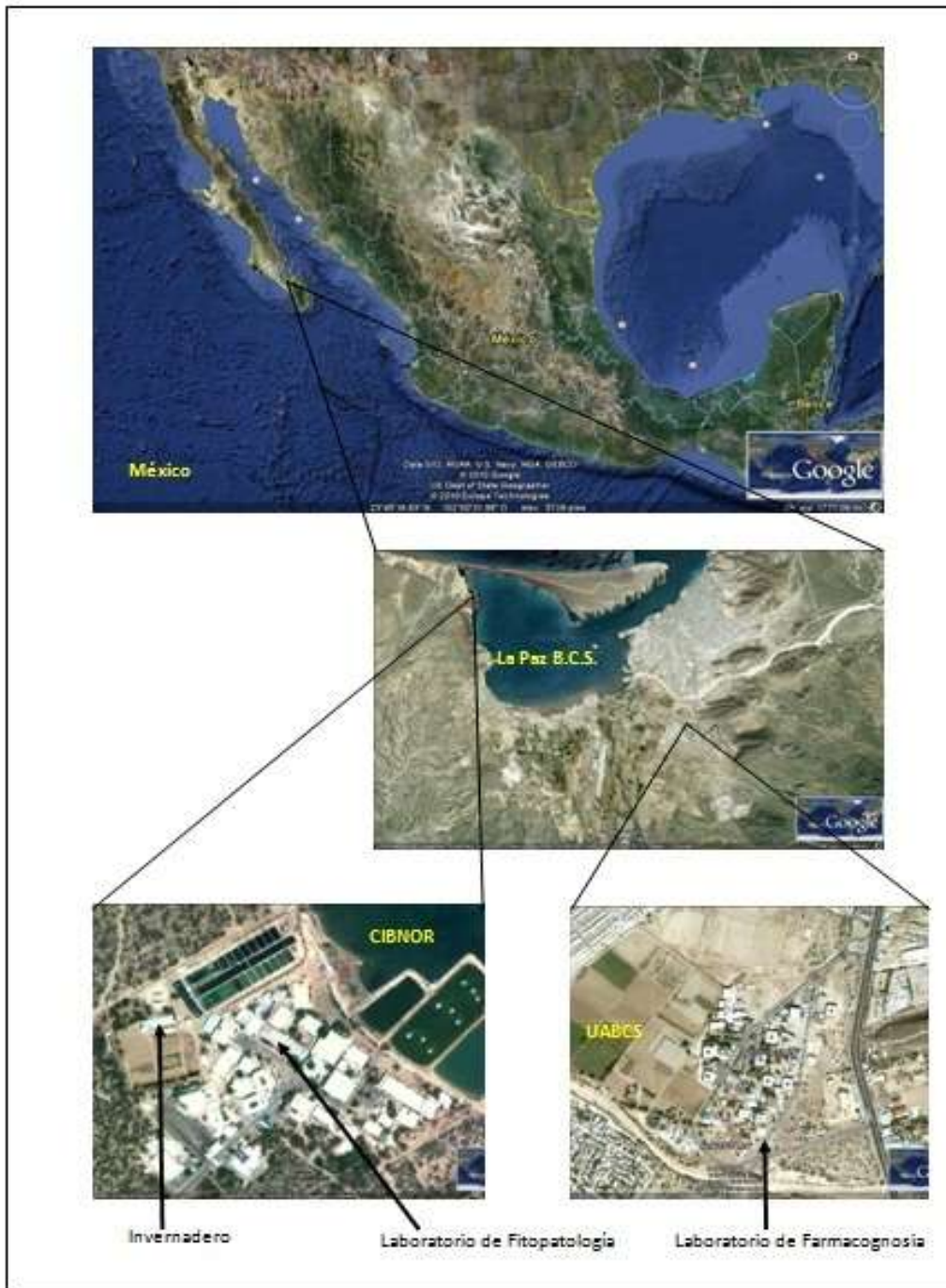
La presente investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Farmacognosia de la Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABCS) y de Fitopatología del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), así como en el invernadero del mismo Centro.

La UABCS se localiza a un costado de la carretera al sur, km 5.5, en la colonia El Mezquitito de la ciudad de La Paz, BCS, México. Sus coordenadas son 24°05'56.77" latitud norte y 110°18'17" longitud oeste, a una elevación de 29 metros sobre el nivel del mar (Figura 1).

Por su parte, el CIBNOR se encuentra ubicado en Mar Bermejo No. 195, colonia Palo de Santa Rita, también en la ciudad de La Paz. Sus coordenadas son 24°08'10.05" latitud norte y 110°25'35.24" longitud oeste, a una elevación de 6 metros sobre el nivel del mar (Figura 1).

### **4.2. Obtención de la cepa de *Fusarium oxysporum***

La cepa de *Fusarium oxysporum* utilizada en este estudio se aisló de una planta de albahaca infectada, la cual fue tomada en el predio El Trampuchete, Ejido El Pescadero, BCS.



**Figura 1. Localización de los laboratorios de Farmacognosia (UABCS) y Fitopatología (CIBNOR)**

Fuente: Google Earth, 2010

#### **4.2.1. Diagnóstico de fusariosis en albahaca**

*Fusarium oxysporum* provoca en el albahaca una enfermedad llamada marchitez del *Fusarium* o “fusariosis”, donde los síntomas característicos son: retraso del crecimiento, desarrollo retorcido y asimétrico, marchitamiento foliar y decoloración de los tejidos vasculares, que puede ir del rojo-marrón hasta casi negro (Koike *et al.*, 2007). Por medio de la detección de estos síntomas se logró la ubicación en campo de plantas de albahaca infectadas por *Fusarium*; posteriormente se realizó su colecta tomando la planta entera, incluyendo la raíz, trasladándola en bolsas de plástico debidamente etiquetadas al laboratorio para aislar el agente causal.

#### **4.2.2. Aislamiento del hongo**

La planta con síntomas de *Fusarium oxysporum* fue disectada con ayuda de un bisturí estéril. Porciones pequeñas de la base del tallo y raíz enfermos fueron extraídas y sumergidas en una solución desinfectante de hipoclorito de sodio al 5.25% durante un minuto. Después fueron sembradas en medios sólidos de agar papa dextrosa e incubadas a 25°C durante 72 horas para el desarrollo del hongo. Se realizaron resiembras sucesivas de la cepa para su purificación (Agrios, 2007).

#### **4.2.3. Identificación del agente causal**

Una vez obtenida la cepa pura a partir de las resiembras, se identificó el hongo para comprobar que, en efecto, era *F. oxysporum*. La cepa aislada correspondió a las características de *F. oxysporum* descritas en distintos estudios, de la siguiente manera:

- **Características de la colonia en PDA.** Colonia densa y flocosa color salmón pálido o micelio malva pálido. A menudo con esporodoquio color salmón, como una masa central o también como uno o dos anillos concéntricos pobremente definidos. En la parte trasera se observa una coloración central malva y a veces magenta oscuro (Pitt y Hocking, 2009).
- **Características morfológicas.** Conidióforos hialinos, simples y cortos o no muy bien diferenciados de las hifas, con esporas masivas en los vértices. Conidios hialinos de dos tipos: macroconidios en forma de barco, de 4 células, con un poco de disminución apical y células basales de gancho, y microconidios elipsoidales de una sola célula. Clamidiosporas color marrón, globosas y por lo general solitarias (Watanabe, 2002).
- **Dimensiones.** Macroconidia 29.1-45 X 2.9-4.7 mM; microconidia 6-15.8 X 1.9-3.7 mM; Clamidiosporas 10.2-15 mm (Watanabe, 2002).

#### **4.2.4. Comprobación de la patogenicidad del agente causal**

La cepa obtenida debe ser capaz de infectar una planta sana y provocar los mismos síntomas que se observaron en la planta donde, originalmente, se obtuvo el hongo; además, se debe poder aislar de esta nueva planta infectada por el mismo hongo, según lo describen los postulados de Koch. Para ello, se procedió a infectar plántulas de albahaca con la cepa de *Fusarium oxysporum* aislada.



#### **4.2.4.1. Preparación del inóculo**

Se preparó una suspensión de conidias a una concentración de  $1 \times 10^6$ , de acuerdo a lo descrito (Lichtenzveig *et al.*, 2006).

#### **4.2.4.2. Prueba de patogenicidad**

La plántula de 30 días de edad se extrajo de la charola de siembra, la raíz se lavó ligeramente con agua destilada y se cortó una pequeña porción apical de la raíz (aproximadamente 1 cm). A continuación, la raíz de la plántula fue sumergida en una suspensión de  $10^6$  conidias/ml de *F. oxysporum* durante 10 minutos (Reis *et al.*, 2008). Pasado el tiempo, las plántulas se sembraron en las macetas de unicel de 12 onzas y se taparon con bolsas plásticas para mantener las condiciones de humedad y temperatura necesarias para el óptimo desarrollo del hongo. Terminado este proceso, diariamente se realizó un monitoreo de la plántula para observar el desarrollo de la sintomatología de la enfermedad, en caso de existir.

### **4.3. Selección de plantas medicinales**

Las plantas para el estudio se dividieron en tres grupos y de acuerdo a ciertos criterios: el primero estuvo constituido por plantas 13 especies de medicinales endémicas de Baja California Sur (Encarnación, 1996) (Cuadro 1); el segundo lo integraron 27 especies de plantas que en la medicina tradicional son utilizadas para el tratamiento de enfermedades agudas, infecciones o antisépticos (Cuadro 2), y el tercero por siete especies de plantas cuya actividad antimicrobiana o antifúngica han sido reportadas (Cuadro 3). En total se

seleccionaron 47 plantas de la colección de plantas medicinales del Laboratorio de Farmacognosia del Departamento Académico de Agronomía de la UABCS, previamente desecadas y molidas. Las cuatro plantas que resultaron más activas fueron evaluadas nuevamente para obtener su  $CI_{50}$ .

**Cuadro 1. Especies medicinales seleccionadas por su endemismo.**

Nombre común	Nombre científico	Uso medicinal tradicional
Ramajo blanco	<i>Justicia palmeri</i>	Ponzoña y mordedura de víbora
Datiliyo	<i>Yucca valida</i>	Mordedura de víbora
Ciruelo cimarrón	<i>Cyrtocarpa edulis</i>	Dolor de muelas, desinfectante, mal de orín, dolor de riñón y mal de próstata
Apan	<i>Bebbia juncea</i>	Piquete de “bitache”, alacrán, víbora; cálculos
Lombroy colorado	<i>Jatropha vernicosa</i>	Diabetes, hemorroides, nube del ojo, algodoncillo y gastritis
Palo blanco	<i>Lysiloma candida</i>	Disentería, diabetes y desinflamar encías
Sanalotodo, hierba del cáncer, hierva de la fístula	<i>Acalypha comonduana</i>	Cáncer, fístulas, úlceras, parásitos, ampollas en la boca y diabetes
Hierba de la gangrena	<i>Hermannia palmeri</i>	Heridas que no quieren cerrar
Cola de zorra	<i>Haplopappus spinulosus</i>	Mal de orín
Santa Lucía	<i>Trixis peninsularis</i>	Dolor de estómago y diarrea, fiebre, vómito y parásitos
Oreganón	<i>Lippia formosa</i>	Tos, catarro y bronquitis
Copalquín	<i>Bursera filicifolia</i>	Pulmonía, heridas, llagas y úlceras del estómago.
Palo fierro	<i>Phithecellobium dulce</i>	Dolor de estómago y disentería, catarro y sinusitis, anginas, enfermedades vaginales y várices

Fuente: Encarnación, 1996.

**Cuadro 2. Especies seleccionadas por su uso en la medicina tradicional de BCS.**

<b>Nombre común</b>	<b>Nombre científico</b>	<b>Uso medicinal tradicional</b>
Guaco	<i>Wislizenia refracta</i>	Llagas, reumatismo, piquete de víbora, viuda negra, avispa, alacrán, insectos y mantarralla
Romerillo	<i>Hymenoclea monogyra</i>	Dolor de muela, parálisis y tétano
Romerillón, escoba amarga	<i>Baccharis</i> sp.	Reumatismo y parálisis
Hierva del venado, quelite	<i>Porophyllum gracille</i>	Paludismo, diarrea, cálculos renales, neumonía, tos y bronquitis
Istafiate	<i>Ambrosia psilostachya</i>	Para la intoxicación, diarrea, pasmo, asma, amibas, parásitos, dolor de estómago, empacho
Guatamote, huatamote	<i>Baccharis glutinosa</i>	Rabia, corazón, presión alta, caspa y tos
Parrandera	<i>Pectis hankeana</i>	Tos
Talayote, guirote	<i>Matelea cordifolia</i>	Piquete de animal venenoso
Raíz de jumete	<i>Asclepias subulata</i>	Llagas, jotes y piquete de víbora
Palo zorrillo	<i>Cassia emarginata</i>	Dolor de cabeza
Cardón, cardón pelón	<i>Pachycereus pringlei</i>	Diabetes, rabia, llagas, cicatrización de heridas y coagulación, tumores o cáncer estomacal, úlcera, fiebre y riñón
Pitahaya agria	<i>Stenocereus gummosus</i>	Piquete de víbora y mantarraya, baja presión, parásitos y colesterol
Deditos	<i>Euphorbia turicaule</i>	Mezquino, pie de atleta
Lombroy blanco	<i>Jatropha cinérea</i>	Mal de ojos, hemorroides, fuegos en la boca y algodoncillo
Golondrina	<i>Euphorbia nutans</i>	Piquete de animal ponzoñoso, conjuntivitis, parásitos, gonorrea, anginas e infecciones
Palo colorado, hierba colorada	<i>Colubrina glabra</i>	Pulmonía y anginas
Cardo, chicalote	<i>Argemone gracilenta</i>	Ojos infectados, ubre del ganado y diabetes
Guachichila	<i>Loeselia ciliata</i>	Influenza, gripe, malaria y problemas estomacales
Borraja	<i>Borago officinalis</i>	Sarampión, viruela, alfombrilla, gripe, tos, fiebre y dolor de cabeza
Gordolobo	<i>Anaphalis margaritacea</i>	Lombrices, tos, gripe, bronquitis, tosferina y nervios
Salvia real	<i>Hyptis tephrodes</i>	Sordera, dolor de oído y fiebre intestinal.

**Continuación Cuadro 2**

Zarza parrilla	<i>Polygonum lapathifolium</i>	Manchas de la piel, ataques, anemia, dolor de riñón, enfermedades venéreas y reumatismo.
Cacachila	<i>Colubrina glomerata</i>	Cicatrizante, diabetes, paludismo, dolor de estómago, tos y ciática
Choya	<i>Opuntia cholla</i>	Hepatitis, diarrea, concepción, riñón, postemillas, sarampión y presión
Mangle rojo	<i>Aviccenia nitida</i>	Fuegos de la boca, diarrea, anginas, tuberculosis, inflamación del intestino y enfermedades venéreas
Copal blanco	<i>Bursera epinnata</i>	Tos, gripe, bronquitis, latido y piquete de víbora
Copal colorado	<i>Bursera hindsiana</i>	Heridas infectadas o como cicatrizante, antiinflamatorio, piquete de víbora, alacrán o viuda negra

Fuente: Encarnación, 1996

**Cuadro 3. Especies medicinales seleccionadas por su actividad biológica reportada.**

<b>Nombre común</b>	<b>Nombre científico</b>	<b>Uso medicinal tradicional</b>	<b>Actividad reportada</b>
Gobernadora	<i>Larrea tridentada</i>	Reumatismo, mal de orín, abortivo, úlcera, gastritis, diabetes, presión, cálculos biliares, parásitos y gripe	Polifenoles, 95% de inhibición de extracto metanólico a 3000 ppm en 2 <sup>7</sup> esporas/ml de <i>F. oxysporum</i> (Díaz, 2009). Actividad antifúngica reportada contra 17 hongos (Lira, 2003)
Orégano	<i>Lippia palmeri</i>	Tos, gripe, bronquitis y amibas	93.8% de inhibición de crecimiento micelial de <i>F. oxysporum</i> a 1.15 µl/ml de aceite esencial en 10 <sup>5</sup> esporas/ml (Cueto <i>et al.</i> , 2010). Monoterpenos, sesquiterpenos y compuestos fenólicos. Actividad contra 4 bacterias G-negativas y 6 bacterias G-Positivas (Ortega <i>et al.</i> , 2011)
Oreganón	<i>Lippia formosa</i>	Tos, catarro y bronquitis	Actividad antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus Subtilis</i> y <i>Streptococcus faecalis</i> (Encarnación y Keer, 1990)

**Continuación Cuadro 3**

Tabardillo	<i>Calliandra californica</i>	Inflamación de próstata, fiebre, dolor de riñón, mal de orín, cálculos en hígado, calambres y dolor de muela	Diterpenoides tipo casano. Actividad citotóxica contra <i>Micobacterium tuberculosis</i> (Encarnación <i>et al.</i> , 2005)
Hierba del pasmo	<i>Haplopappus sonorensis</i>	Dolor de dientes, muelas y postemillas, tos, gripe, tétanos, mal olor de pies, pasmo, infecciones, corazón, reumas	Flavonas con actividad antimicobacteriana (Murillo <i>et al.</i> , 2003)
Guisapolon	<i>Xanthium strumarium</i>	Mal de orín y cálculos renales	Extracto etanólico activo contra <i>F. oxysporum</i> . 6 y 8 mg de extracto por MDA y $10^4$ esporas/ml de <i>F. oxisporum</i> (Ochoa, 2004)
Garambullo	<i>Lophocereus schottii</i>	Diabetes, presión, várices, úlceras, hernia, piquete de alacrán, reumas, riñones y llagas	Extracto etanólico activo contra <i>F. oxysporum</i> . 6 y 8 mg de extracto por MDA y $10^4$ esporas/ml de <i>F. oxysporum</i> (Ochoa, 2004)

**4.4. Obtención de extractos por maceración y soxhlet**

Para la extracción por maceración, se introdujeron 10 g de la planta seca y molida en un frasco de vidrio con tapa y se maceraron con 100 ml del solvente de extracción, a temperatura ambiente, durante 48 horas. En el caso de la extracción con soxhlet, 10 g de la planta seca y molida se introdujeron en un equipo soxhlet con 100 ml de EtOH, el cual fue calentado con ayuda de una mantilla regulable hasta la temperatura de ebullición del EtOH (78.4 °C), manteniéndose durante tres horas y repitiendo el procedimiento hasta en tres ocasiones para asegurar la máxima extracción. En ambos casos, la solución del extracto se evaporó en un rotavapor Buchi R-114 a presión reducida, a una temperatura controlada de 40 °C. El extracto libre de solvente se colocó en un vial previamente tarado y se colocó en

una estufa a vacío a 40 °C, hasta obtener un peso constante. Los solventes utilizados para las extracciones fueron diclorometano, acetona y etanol (Nieto, 2007).

#### **4.5. Inhibición *in vitro***

Para los estudios *in vitro* se utilizaron dos métodos. En la evaluación inicial se optó por el método de difusión en agar, tipo de ensayo que brinda una forma rápida y económica de obtener resultados cualitativos confiables. Una vez identificados los extractos más activos, éstos se evaluaron por el método de dilución en agar, técnica que permite disolver la muestra en el agar, por lo que su concentración es constante en toda la placa, permitiendo obtener resultados cuantitativos de la inhibición que el extracto causa sobre el crecimiento del hongo. Los datos obtenidos por este método fueron Analizados por PROBIT para calcular la  $CI_{50}$ .

##### **4.5.1. Método de difusión en agar**

Para realizar las pruebas de actividad antifúngica *in vitro* de los extractos, se utilizó el método de difusión en agar (MDA), utilizando *F. oxysporum* como microorganismo de ensayo. Todas las pruebas se corrieron por duplicado y se utilizaron controles negativos (etanol, diclorometano y acetona, según el caso) y controles positivos (antifúngicos comerciales).

El medio de cultivo utilizado para todas las pruebas fue agar papa y dextrosa (PDA), mismo que se preparó de acuerdo a las especificaciones del producto. Después de preparado el medio, se esterilizó durante 15 minutos a 15 lb/in<sup>2</sup> de presión (121.4 °C).

Posteriormente, fue vaciado en cajas Petri estériles (aproximadamente 15 ml por placa), donde se dejó solidificar y se incubó a 37 °C durante 24 horas como control de esterilidad. La cepa de *F. oxysporum* fue incubada entre 7 y 10 días, a 25 °C para permitir el desarrollo del micelio. Consecutivamente, se cortaron secciones cilíndricas de seis milímetros del medio con el hongo. Estas secciones, llamadas explantes, fueron utilizadas como inóculo para las pruebas.

El explante que contenía el microorganismo de prueba fue inoculado en el centro de la cama de agar estéril contenido en las placas Petri, previamente preparadas. En forma radial, a este inóculo se colocaron los sensidiscos de papel filtro (Watman No. 1 de 7 mm de diámetro) impregnados previamente con 6 mg de cada extracto. Adicionalmente, se colocaron en cada placa los controles positivos y negativos correspondientes. Después de colocar los cuatro sensidiscos sobre cada una de las placas inoculadas, fueron incubadas durante seis días a 25 °C. Pasado este tiempo se midieron los diámetros de los halos de inhibición y se calculó el porcentaje de inhibición aplicando la fórmula de Bajpai *et al.* (2008):

$$Inibición = \frac{1 - \text{Crecimiento}_\text{radial}_\text{tratamiento}}{\text{Crecimiento}_\text{Radial}_\text{Control}} \times 100$$

#### 4.5.2. Método de dilución en agar

Aquellos extractos que presentaron la mayor actividad en la prueba de selección preliminar fueron probados por el método de dilución en agar (Saetae, 2010).

Se preparó agar papa dextrosa de acuerdo a las especificaciones del producto y, antes de esterilizar, se disolvió en el medio la cantidad calculada de extracto. Todos los extractos para su aplicación fueron previamente disueltos en 2 ml de etanol. Como control negativo se aplicaron dos ml de etanol sin extracto a una caja con agar; como control positivo se aplicaron en otra caja 100 µl de una solución de Benomilo, a una concentración de 1g/l. Una vez solidificados, se colocaron en el centro de la placa, con ayuda de una aguja estéril, el explante de 6.0 mm de diámetro con la cepa de *F. oxysporum* preparada para este fin. Las placas fueron selladas con parafilm e incubadas durante cinco a siete días a una temperatura de 25 °C. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Diariamente se midió el crecimiento micelial y se calculó el porcentaje de inhibición del extracto probado con respecto al control negativo, de acuerdo a la fórmula de Saetae *et al.* (2009).

$$\%inhibicion = \frac{Dcontrol - Dtratamiento}{Dcontrol} \times 100$$

Donde:

%inhibición=Porcentaje de inhibición del tratamiento sobre la cepa de estudio.

Dcontrol=Diámetro de crecimiento del micelio de la cepa sin ningún tratamiento, utilizada como cepa control.

D tratamiento=Diámetro de crecimiento del micelio de la cepa que contiene un tratamiento.

#### **4.5.3. Determinación de la CI<sub>50</sub>**

Previo al cálculo de la CI<sub>50</sub>, se buscó la ventana biológica para el extracto en cuestión. Para este fin, se probaron una serie de concentraciones logarítmicas del extracto frente al hongo



con el método de dilución en agar. Las concentraciones probadas fueron 20, 40, 60, 80, 200, 400, 600, 800, 2000, 4000, 6000, 8000 y 20000 ppm.

Una vez que se Determinó la ventana biológica, se tomaron cuatro concentraciones que corresponden a porcentajes separados a lo largo de la curva y se diseñaron concentraciones logarítmicas para ser probadas por el mismo método de dilución en agar. Los datos de porcentajes de inhibición obtenidos fueron graficados contra el logaritmo de concentración correspondiente, y la curva resultante fue ajustada para obtener una ecuación lineal. Esta ecuación lineal fue resuelta para un 50% de inhibición para obtener la  $CI_{50}$  del extracto.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Obtención de la cepa de *Fusarium oxysporum*

#### 5.1.1. Diagnóstico de fusariosis en albahaca

Se determinó que los síntomas observados en la planta enferma de albahaca corresponden a los reportados para la enfermedad denominada fusariosis. Los síntomas consistieron en marchitamiento y decoloración foliar, así como pudrición de la base del tallo y sistema radicular de la planta.

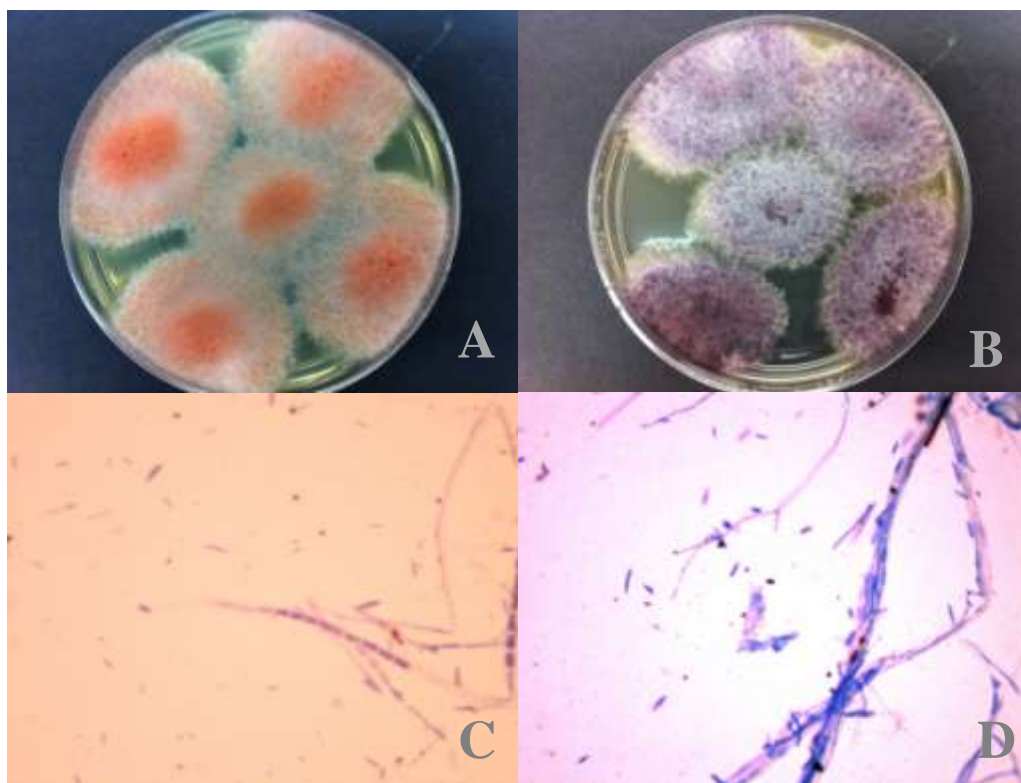
#### 5.1.2. Aislamiento del hongo

A continuación, se resumen las características de la cepa de *F. oxysporum* aislada de la planta con fusariosis, con respecto a la cepa de referencia de *F. oxysporum* (Cuadro 4).

**Cuadro 4. Comparación de las características de la cepa aislada con respecto a la cepa de referencia de *Fusarium oxysporum*.**

	<b>Cepa de referencia (Watanabe, 2002) <i>Fusarium oxysporum</i></b>	<b>Cepa aislada de planta de <i>O. basilicum</i> enferma</b>
<b>Colonia</b>	Densa y flocosa, color salmón pálido o micelio malva pálido	Densa y flocosa. Ambos colores en las cepas
<b>Morfología macroconidia</b>	Forma de barco, 4 células, disminución apical y células basales de gancho	Forma de barco, disminución apical
<b>Morfología microconidia</b>	Elipsoidales de una sola célula	Elipsoidales
<b>Morfología clamidiospora</b>	Color marrón, globosos y, por lo general, solitarios	Globoso
<b>Dimensiones</b>	Macroconidia 29.1-45 X 2.9-4.7 mM; microconidia 6-15.8 X 1.9-3.7 mM; Clamidiosporas 10.2-15 mm	Macroconidia 44.1 μm

Al realizar una comparación de las características morfológicas macro y microscópicas, observadas en la cepa aislada de la planta enferma, con relación a lo reportado en la bibliografía especializada para *F. oxysporum*, encontramos coincidencias en las características de ambas (coloración de cepa, morfología de estructuras, medida de macroconidios) (Figura 2 y Cuadro 4), por lo que podemos determinar que la cepa aislada se trata de *F. oxysporum*.



**Figura 2. Coloración salmón (A) y malva (B) de la cepa aislada; morfología microscópica donde se observan las macroconidias (C), hifa, macroconidio y clamidiospora (D).**

## 5.2. Obtención de extractos

De las 47 plantas medicinales seleccionadas se obtuvieron 166 extractos. En la extracción etanólica por maceración, las plantas que tuvieron mayor rendimiento fueron: *Baccharis*

*glutinosa* (43.3%), *Haplopappus sonorensis* (24.3%), *Aviccenia nitida* (23.5%) y *Ambrosia psilostachya* (15.2%). Para los extractos de diclorometano por maceración, los mayores rendimientos fueron para: *Hymenoclea monogyra* (6.44%), *Pithecellobium dulce* (4.6%), *Jatropha vernicosa* (4.3%) y *Cyrtocarpa edulis* (3.4%). Por su parte, los extractos de acetona con mayor rendimiento fueron: *Baccharis glutinosa* (10.5%), *Baccharis sp.* (9.4%), *Lysiloma candida* (9.2%) y *Ambrosia psilostachya* (5.9%). Por último, de los extractos etanólicos por soxhlet, el mayor rendimiento lo encontramos en *Baccharis glutinosa* (39.6%), *Euphorbia nutans* (33.7%), *Baccharis sp.* (20.6%) y *Haplopappus spinulosus* (17.5%).

**Cuadro 5. Rendimiento de los extractos obtenidos según el solvente y método de extracción utilizado.**

Nº	Clave	Nombre científico	EtOHM	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> M	Me <sub>2</sub> COM	EtOHS
1	448-T	<i>Justicia palmeri</i>	5.7	1.3	1.0	6.7
2	457-T	<i>Yucca valida</i>	6.2	0.9	0.8	7.0
3	449-T	<i>Cyrtocarpa edulis</i>	4.6	3.4	1.4	6.9
4	30-T2	<i>Bebbia juncea</i>	4.3	1.0	0.5	4.6
5	7-T	<i>Jatropha vernicosa</i>	6.9	4.3	1.1	7.3
6	180-T	<i>Lysiloma candida</i>	15.8	1.6	9.2	11.6
7	295-T	<i>Acalypha comonduana</i>	6.7	1.5	2.6	8.1
8	105-T1	<i>Hermannia palmeri</i>	7.5	0.9	1.1	6.5
9	290-T	<i>Haplopappus spinulosus</i>	9.5	3.2	1.2	17.5
10	185-T	<i>Trixis peninsularis</i>	6.3	3.7	1.7	7.4
11	22-T1	<i>Lippia formosa</i>	7.0	2.4	1.6	6.6
12	450-B	<i>Bursera filicifolia</i>	4.0	2.5	0.8	4.2
13	500-T	<i>Phithecellobium dulce</i>	4.6	4.7	2.0	9.0
14	499-T	<i>Wislizenia refracta</i>	4.1	2.9	0.3	8.8
15	274-T	<i>Hymenoclea monogyra</i>	11.4	6.4	2.7	***
16	501-T	<i>Larrea tridentada</i>	***	***	***	***
17	44-T	<i>Lippia palmeri</i>	***	***	***	***
18	46-T	<i>Haplopappus sonorensis</i>	8.8	0.2	2.3	8.3
19	24-T1	<i>Baccharis sp.</i>	23	0.8	9.4	20.6
20	25-T	<i>Porophyllum gracille</i>	4.9	0.1	1.7	8.7
21	E-21	<i>Ambrosia psilostachya</i>	15.2	1.1	5.9	8.8
22	12-T	<i>Baccharis glutinosa</i>	43.3	2.1	10.5	39.6
23	176-T	<i>Pectis hankeana</i>	13.2	0.9	4.6	12.0

**Continuación Cuadro 5**

24	E-159	<i>Matelea cordifolia</i>	4.7	0.8	2.2	9.2
25	1-T	<i>Asclepias subulata</i>	5.6	0.1	1.7	2.7
26	220-T	<i>Cassia emarginata</i>	10.9	0.7	1.6	16.3
27	228-T	<i>Lophocereus schottii</i>	7.7	1.1	3.8	16.6
28	370-T	<i>Pachycereus pringlei</i>	6.7	0.3	0.8	7.2
29	172-T	<i>Stenocereus gommosus</i>	14.6	0.8	5.8	9.8
30	453-T	<i>Calliandra californica</i>	6.4	0.1	3.0	5.3
31	281-T	<i>Euphorbia tiricaule</i>	6.4	0.6	4.5	2.7
32	478-T	<i>Lippia formosa</i>	6.7	0.2	2.0	6.8
33	27-T	<i>Jatropha cinerea</i>	6.8	1.1	2.7	5.3
34	494-T	<i>Euphorbia nutans</i>	12.9	0.6	3.2	33.7
35	171-T	<i>Colubrina glabra</i>	5.1	0.3	1.3	8.1
36	393-T	<i>Acalypha comonduana</i>	12.4	0.4	1.6	***
37	479-T	<i>Argemone gracilentia</i>	16	0.6	0.7	***
38	39-T	<i>Loeselia ciliata</i>	4.3	***	***	***
39	379-T	<i>Borago officinalis</i>	2.6	***	***	***
40	E-17	<i>Anaphalis margaritacea</i>	6.8	***	***	***
41	139-T	<i>Hyptis tephrodes</i>	3.1	0.7	0.9	5.5
42	16-T	<i>Polygonum lapathifolium</i>	9.8	0.9	1.6	10.6
43	150-T	<i>Acalypha comonduana</i>	10.6	1.4	1.1	7.9
44	271-T	<i>Baccharis glutinosa</i>	6.4	1.9	1.7	7.8
45	4-T	<i>Colubrina glomerata</i>	9.4	5.2	0.6	10.5
46	46-T	<i>Haplopappus sonorensis</i>	24.3	0.7	2.1	20.5
47	215-T	<i>Xanthium strumarium</i>	8.3	0.2	***	22.6
48	340-T	<i>Opuntia cholla</i>	1.7	0.6	0.2	1.9
49	192-T	<i>Avicennia nitida</i>	23.5	1.4	1.4	3.9
50	284-T	<i>Burcera epinnata</i>	5	2.4	1.3	1.6
51	136-T	<i>Bursera hindsiana</i>	4.6	***	1.6	***

\*\*\* Rendimiento no calculado

El rendimiento de los extractos adquiere relevancia cuando requerimos un aprovechamiento sustentable del recurso. Con este dato, podemos programar las cantidades requeridas en una colecta con base en la cantidad final de extracto que necesitamos, lo cual es indispensable para un uso responsable del recurso natural, o, en su caso, calcular la superficie requerida en el cultivo, la cual tiene un impacto económico directo, si se trata de una especie cultivable.

### 5.3. Inhibición *in vitro*

#### 5.3.1. Método de difusión en agar

La evaluación *in vitro* de los 166 extractos obtenidos arrojó resultados positivos contra *F. oxysporum* para 17 especies, que van desde el 7.4% hasta el 53.6% de inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum*, tal como se detalla en el Cuadro 6: *Yucca valida* 18.5% de inhibición, *Cyrtocarpa edulis* 10% de inhibición, *Haplopappus spinulosus* 10% de inhibición, *Trixis peninsularis* 25.9% de inhibición, *Hymenoclea monogyra* 22.2% y para extracto de acetona y etanol 18.8% de inhibición, respectivamente; *Larrea tridentada* 53.6% de inhibición, *Lippia palmeri* 42.8% de inhibición, *Cassia emarginata* 14.3% de inhibición, *Lophocereus schottii* 28.6% y 11.5%, 19.3%, 31.25% de inhibición para los extractos de etanol, diclorometano, acetona y etanol con soxhlet, respectivamente; *Calliandra californica* 10.3% y 16.7%, 12.9% y 10% de inhibición para los extractos de etanol, diclorometano, acetona y etanol con soxhlet, respectivamente; *Wislizenia refracta* 7.4% de inhibición, *Baccharis sp.* 12.5% de inhibición, *Colubrina glabra* 9.68% de inhibición, *Anaphalis margaritacea* 17.1% de inhibición, *Haplopappus sonorensis* 18.5% de inhibición, *Bursera epinnata* 12.5% de inhibición y *Bursera hindsiana* 11.1% de inhibición. Los resultados positivos de la evaluación inicial *in vitro* se muestran en el Cuadro 6 y los datos de inhibición de todos los extractos evaluados se presentan en el Anexo 3.

**Cuadro 6. Plantas con extractos activos contra *Fusarium oxysporum*.**

N° planta	Clave planta	Nombre científico	EtOHM % inhib.	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> % inhib.	Me <sub>2</sub> CO % inhib.	EtOHS % inhib.
1	457-T	<i>Yucca valida</i>	18.5%	0	0	0
2	449-T	<i>Cyrtocarpa edulis</i>	0	0	10%	0
3	290-T	<i>Haplopappus spinulosus</i>	0	10%	0	0
4	185-T	<i>Trixis peninsularis</i>	0	0	0	25.9%
5	499-T	<i>Wislizenia refracta</i>	0	7.4%	0	0
6	274-T	<i>Hymenoclea monogyra</i>	0	22.2%	0	18.8%
7	501-T	<i>Larrea tridentata</i>	53.6%	***	***	***
8	44-T	<i>Lippia palmeri</i>	42.8%	***	***	***
9	24-T1	<i>Baccharis sp.</i>	12.5%	0	0	0
10	220-T	<i>Cassia emarginata</i>	14.3%	0	0	0
11	228-T	<i>Lophocereus schottii</i>	28.6%	11.5%	19.3%	31.25%
12	453-T	<i>Calliandra californica</i>	10.3%	16.7%	12.9%	10%
13	171-T	<i>Colubrina glabra</i>	0	0	0	9.68%
14	E-17	<i>Anaphalis margaritacea</i>	0	***	***	17.1%
15	46-T	<i>Haplopappus sonorensis</i>	0	0	0	18.75%
16	284-T	<i>Bursera epinnata</i>	0	0	0	12.5%
17	136-T	<i>Bursera hindsiana</i>	0	0	0	11.1%

EtOHM: Etanol Macerado  
Me<sub>2</sub>CO: Acetona

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: Diclorometano  
EtOHS: Etanol soxhlet

\*\*\* Actividad no determinada

En esta prueba inicial, los extractos etanólicos mostraron mayor efectividad para inhibir *in vitro* el crecimiento de *F. oxysporum*, y también los mayores porcentajes de inhibición (53.6% para *Larrea tridentata* y 42.8% para *Lippia palmeri*), como en el número de extractos activos, donde tenemos: 16 extractos etanólicos activos, sumando ambos métodos, contra 5 extractos activos de diclorometano y 3 de acetona. Si relacionamos la polaridad de los componentes presentes en un extracto, con la polaridad del solvente utilizado para la extracción, encontramos que para las diferentes especies los componentes

polares (presentes en los extractos etanólicos) muestran mayor actividad, en general, que los componentes poco o medianamente polares encontrados en los extractos de acetona y diclorometano. La excepción a esta apreciación son los extractos de *Lophocereus schottii* y *Calliandra californica*, los cuales mostraron actividad con los cuatro solventes de extracción, lo que indica una variedad de compuestos activos con diferente naturaleza química. En general, la variación en el efecto inhibitorio de los distintos extractos puede deberse a las diferencias cuantitativas y cualitativas de los principios activos presentes en éstos (Siva *et al.*, 2008).

El solvente utilizado para la extracción juega un papel determinante en la actividad de los diferentes extractos en una misma planta (Subban *et al.*, 2011). Al comparar los métodos de extracción en los extractos etanólicos observamos, que salvo en los dos casos ya mencionados, donde todos los extractos de la misma planta fueron activos, no hay una coincidencia en los resultados para cada planta. Esto es, cuando el extracto por maceración fue activo, el de soxhlet fue inactivo; mientras que cuando el extracto por soxhlet tuvo actividad, el extracto por maceración no presentó ninguna. Este resultado sugiere una diferencia en la composición del extracto que, por lo tanto, es afectado por la naturaleza del método. El método de soxhlet se vuelve agresivo cuando se utilizan altas temperaturas para disminuir los tiempos de extracción, permitiendo obtener compuestos que por medio de un método suave, como el macerado, no se podrían extraer. Lo anterior deriva en resultados positivos para la actividad que no se observan para la misma especie en los extractos por maceración; o bien, este método en particular provocó una modificación química que transformó un principio originalmente inactivo, en activo (Al-Mughrabi y arbujai, 2003).



Pero paralelo a este hecho, este método agresivo puede degradar algunos compuestos eliminando su actividad original que sí se observa en los extractos por maceración.

### **5.3.2. Método de dilución en agar**

Por su actividad antifúngica, sobresaliente en las pruebas iniciales *in vitro*, los extractos de *Larrea tridentata*, *Lippia palmeri*, *Hymenoclea monogyra* y *Trixis peninsularis* fueron analizados a diferentes concentraciones para determinar su porcentaje de inhibición y obtener datos para el cálculo de la  $CI_{50}$ .

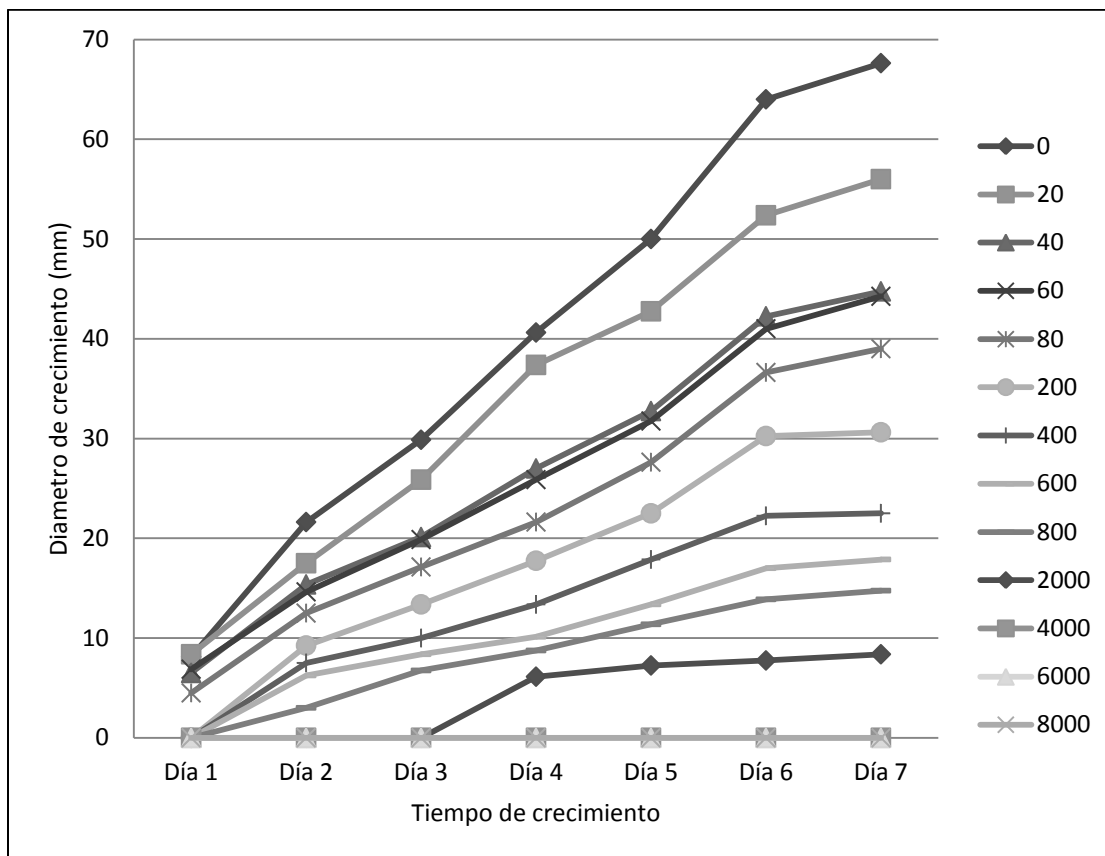
#### **5.3.2.1. *Larrea tridentata***

La evaluación de crecimiento micelial diario de *F. oxysporum* con extracto de *Larrea tridentata* muestra una inhibición total de crecimiento a 4000, 6000 y 8000 ppm en los siete días cuantificados (Cuadro 7). Por debajo de estas concentraciones, el día uno presentó crecimiento en las concentraciones de 0 a 20 ppm, con un efecto inhibitorio máximo de 4.5 mm a 80 ppm. En los días dos y tres se obtuvo crecimiento para las concentraciones de 0 a 600 ppm, con un efecto inhibitorio máximo de 6.3 mm y 8.4 mm, respectivamente. Para los días cuatro, cinco, seis y siete se obtuvo un crecimiento desde 0 ppm hasta 2000 ppm, con un máximo efecto inhibitorio de 7.1, 7.2, 7.7 y 8.3 mm, respectivamente.

**Cuadro 7. Promedio diario de crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* evaluado con extracto de *Larrea tridentata*.**

Concentración (ppm)	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
<b>Control -</b>	8.1	21.6	29.9	40.6	50.0	64.0	67.6
<b>Control +</b>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	8.4	17.5	25.9	37.4	42.8	52.4	56.0
40	6.5	15.4	20.1	27.0	32.8	42.3	44.8
60	6.9	14.6	19.8	25.9	31.8	41.0	44.3
80	4.5	12.5	17.1	21.6	27.6	36.6	39.0
200	0.0	9.3	13.4	17.8	22.5	30.3	30.6
400	0.0	7.5	10.0	13.4	17.9	22.3	22.5
600	0.0	6.3	8.4	10.1	13.4	17.0	17.9
800	0.0	3.0	6.8	8.8	11.4	13.9	14.8
2000	0.0	0.0	0.0	6.1	7.3	7.8	8.4
4000	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6000	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
8000	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

En la Gráfica 1 se presentan las tendencias en el crecimiento diario del micelio de *F. oxysporum*, frente al extracto de *L. tridentata*. Con discrepancias en el inicio del crecimiento cuantificable, las líneas muestran un crecimiento casi paralelo a la muestra control, manteniendo la tendencia, aunque con diámetros cada vez menores a medida que la concentración del extracto aumenta. En todos los casos, se observa una tendencia a estabilizar el crecimiento al día siete de la medición.



**Gráfica 1. Diámetro de crecimiento micelial diario de *Fusarium oxysporum*, evaluado con extracto de *Larrea tridentata*.**

Los porcentajes de inhibición calculados con los datos del sexto día de crecimiento arrojan un 0% para el control negativo, 100% para el control positivo y 18.2, 34.0, 35.9, 42.8, 52.7, 65.2, 73.4, 78.3, 87.9, 100.0, 100.0 y 100.0% para las concentraciones de 20, 40, 60, 80, 200, 400, 600, 800, 2000, 4000, 6000 y 8000 ppm, respectivamente (Cuadro 8).

**Cuadro 8. Porcentajes de inhibición micelial para *Larrea tridentata*.**

	<b>Crecimiento (mm)</b>	<b>Inhibición (mm)</b>	<b>Inhibición (%)</b>
<b>Control -</b>	64.0	0.000	0.0
<b>Control +</b>	0.0	64.000	100.0
<b>20</b>	52.4	11.625	18.2
<b>40</b>	42.3	21.750	34.0
<b>60</b>	41.0	23.0	35.9
<b>80</b>	36.6	27.4	42.8
<b>200</b>	30.3	33.8	52.7
<b>400</b>	22.3	41.8	65.2
<b>600</b>	17.0	47.0	73.4
<b>800</b>	13.9	50.1	78.3
<b>2000</b>	7.8	56.3	87.9
<b>4000</b>	0.0	64.0	100.0
<b>6000</b>	0.0	64.0	100.0
<b>8000</b>	0.0	64.0	100.0

### 5.3.2.2. *Hymenoclea monogyra*

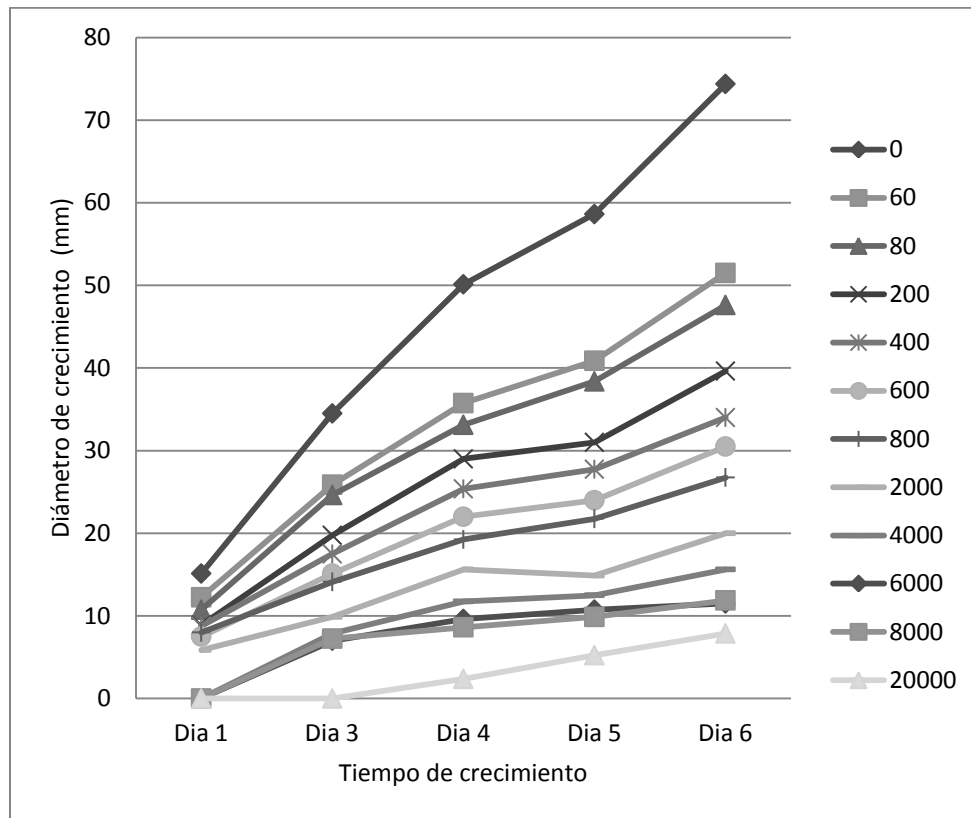
El crecimiento micelial diario de *F. oxysporum* con extracto de *H. monogyra* aparece en el Cuadro 9. En el primer día se observa un crecimiento de 0 a 2000 ppm, con 15.1 mm para cero y un mínimo de 5.9 mm para 2000 ppm. Para el día tres hay un crecimiento mínimo de 7.3 mm para 8000 ppm y ningún crecimiento en 20,000 ppm. Mientras que para los días cuatro, cinco y seis, todas las concentraciones presentan crecimiento, siendo los mínimos respectivos de 2.4, 5.3 y 7.9 mm para la concentración de 20,000 ppm.

La Gráfica 2 muestra las tendencias de crecimiento diario para el extracto de *Hymenoclea monogyra*, donde se destacan tres aspectos importantes: primero, las tendencias de crecimiento de las diferentes concentraciones tienen una pendiente considerablemente menor que la del control, por lo que la tendencia de crecimiento es

notablemente más baja que el control en todas las concentraciones. Segundo, existe una estabilización de crecimiento entre los días cuatro y cinco, recuperando después su tendencia ascendente del día cinco al día seis; tercero, hay separaciones claras en las tendencias de crecimiento, de tal forma que se pueden hacer tres grupos: un grupo para las concentraciones de 60 y 80 ppm que se desplazan con una pendiente casi idéntica. Otro grupo para las concentraciones de 200 ppm a 800 ppm con comportamientos similares entre sí pero diferentes al grupo anterior. Un último grupo con las concentraciones restantes, que son las más altas muestran líneas con pendientes menores, lo cual las hace diferentes al resto de las concentraciones.

**Cuadro 9. Promedio diario de crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* evaluado con extracto de *Hymenoclea monogyra*.**

Concentración (ppm)	Día 1	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
0	15.1	34.5	50.1	58.6	74.4
60	12.3	25.9	35.8	40.9	51.5
80	10.8	24.6	33.1	38.4	47.6
200	8.9	19.8	29.0	31.0	39.6
400	8.8	17.5	25.4	27.8	34.0
600	7.5	15.1	22.0	24.0	30.5
800	8.0	14.1	19.3	21.8	26.8
2000	5.9	9.9	15.6	14.9	20.0
4000	0.0	7.9	11.8	12.5	15.6
6000	0.0	7.0	9.6	10.8	11.5
8000	0.0	7.3	8.6	9.9	11.9
20000	0.0	0.0	2.4	5.3	7.9



**Gráfica 2. Diámetro de crecimiento micelial diario de *Fusarium oxysporum* evaluado con extracto de *Hymenoclea monogyra*.**

La inhibición calculada con los datos del sexto día de crecimiento se muestra en el cuadro 10. Hubo 0.0 % para el control negativo, 100.0% para el control positivo. Para los tratamientos el grado de inhibición fue de: 30.8, 36.0, 46.7, 54.3, 59.0, 64.0, 73.1, 79.0, 84.5, 84.0 y 89.4% para 60, 80, 200, 400, 600, 800, 2000, 4000, 6000, 8000 y 20000 ppm, respectivamente.

**Cuadro 10. Porcentajes de inhibición micelial para *Hymenoclea monogyra*.**

Concentración	mm crecimiento	mm inhibición	% de inhibición
Control -	74.4	0.0	0.0
Control +	0.0	74.4	100.0
60	51.5	22.9	30.8

**Continuación Cuadro 10**

80	47.6	26.8	36.0
200	39.6	34.8	46.7
400	34.0	40.4	54.3
600	30.5	43.9	59.0
800	26.8	47.6	64.0
2000	20.0	54.4	73.1
4000	15.6	58.8	79.0
6000	11.5	62.9	84.5
8000	11.9	62.5	84.0
20000	7.9	66.5	89.4

**5.3.2.3. *Lippia palmeri***

El Cuadro 11 muestra que ninguna concentración del extracto de *L. palmeri* inhibió totalmente el crecimiento de *F. oxysporum*. No obstante provocó una disminución notable en su diámetro. Los mínimos de crecimiento micelial para todos los intervalos corresponden a la concentración de 8000 ppm con 5.0 mm en el día 2, 6.9 mm en el día 3, 7.8 mm en el día 5 y 10.5 mm en el día 6. Por el contrario, los crecimientos máximos corresponden, sin considerar el control negativo, a la concentración de 40 ppm, con valores de 20.9, 32.1, 53.0 y 70.4 mm para los días dos, tres, cinco y seis, respectivamente.

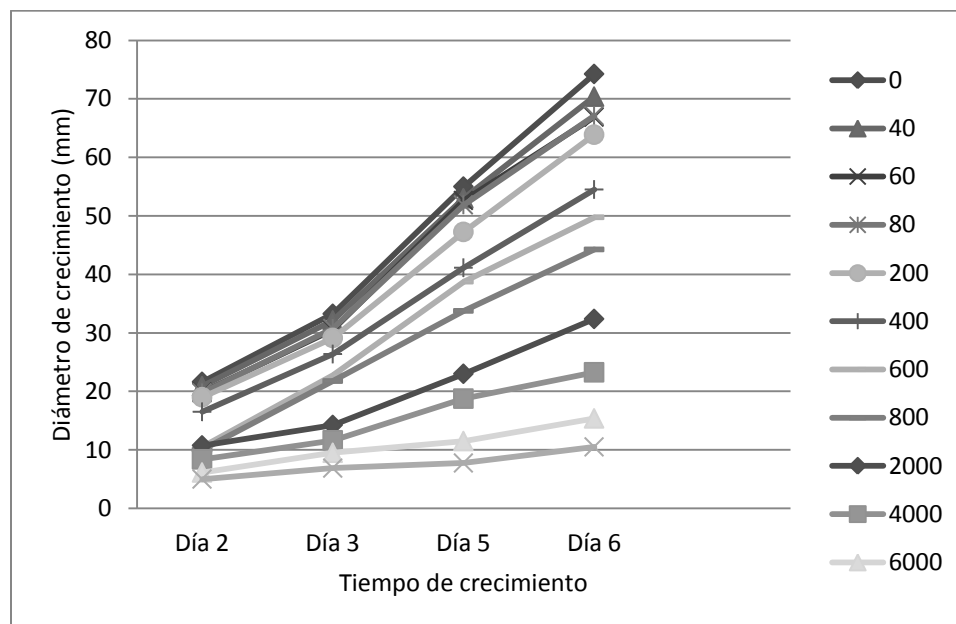
**Cuadro 11. Promedio diario de crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* evaluado con extracto de *Lippia palmeri*.**

<b>Concentración</b>	<b>Día 2</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 5</b>	<b>Día 6</b>
0	21.6	33.3	55.0	74.3
<b>Control +</b>	0.0	0.0	0.0	0.0
40	20.9	32.1	53.0	70.4
60	19.9	30.5	52.6	66.9
80	19.8	30.8	51.9	67.1
200	19.0	29.1	47.3	63.9
400	16.5	26.4	41.1	54.5

**Continuación Cuadro 11**

600	10.5	22.8	38.8	49.8
800	10.0	21.9	33.8	44.3
2000	10.8	14.3	23.0	32.4
4000	8.4	11.6	18.8	23.3
6000	6.1	9.5	11.5	15.4
8000	5.0	6.9	7.8	10.5

La Gráfica 3 muestra las tendencias de crecimiento de *F. oxysporum* frente al extracto de *L. palmeri*. Desde la línea control, hasta las concentraciones de 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm y 200 ppm, se observa poca diferencia entre los extractos y el testigo para inhibir el hongo, ya que las curvas están muy cercanas entre sí. A partir de las 400 ppm el efecto inhibitorio se hace notable. Además, cada aumento de concentración tiene una línea con una pendiente más pequeña, lo que se traduce biológicamente en una mejora en el efecto inhibitorio con respecto al tiempo.



**Gráfica 3. Diámetro de crecimiento micelial diario de *Fusarium oxysporum* evaluado con extracto de *Lippia palmeri*.**



Los porcentajes de inhibición obtenidos al sexto día de crecimiento son los siguientes: 0.0% para el control negativo, 100.0% para el control positivo, 30.8, 36.0, 46.7, 54.3, 59.0, 64.0, 73.1, 79.0, 84.5, 84.0 y 89.4% para 40, 60, 80, 200, 400, 600, 800, 2000, 4000, 6000 y 8000 ppm, respectivamente (Cuadro 12).

**Cuadro 12. Porcentajes de inhibición micelial para *Lippia palmeri*.**

<b>Concentración</b>	<b>mm crecimiento</b>	<b>mm inhibición</b>	<b>% de inhibición</b>
<b>Control -</b>	74.3	0.0	0.0
<b>Control +</b>	0.0	74.4	100.0
40	51.5	22.9	30.8
60	47.6	26.8	36.0
80	39.6	34.8	46.7
200	34.0	40.4	54.3
400	30.5	43.9	59.0
600	26.8	47.6	64.0
800	20.0	54.4	73.1
2000	15.6	58.8	79.0
4000	11.5	62.9	84.5
6000	11.9	62.5	84.0
8000	7.9	66.5	89.4

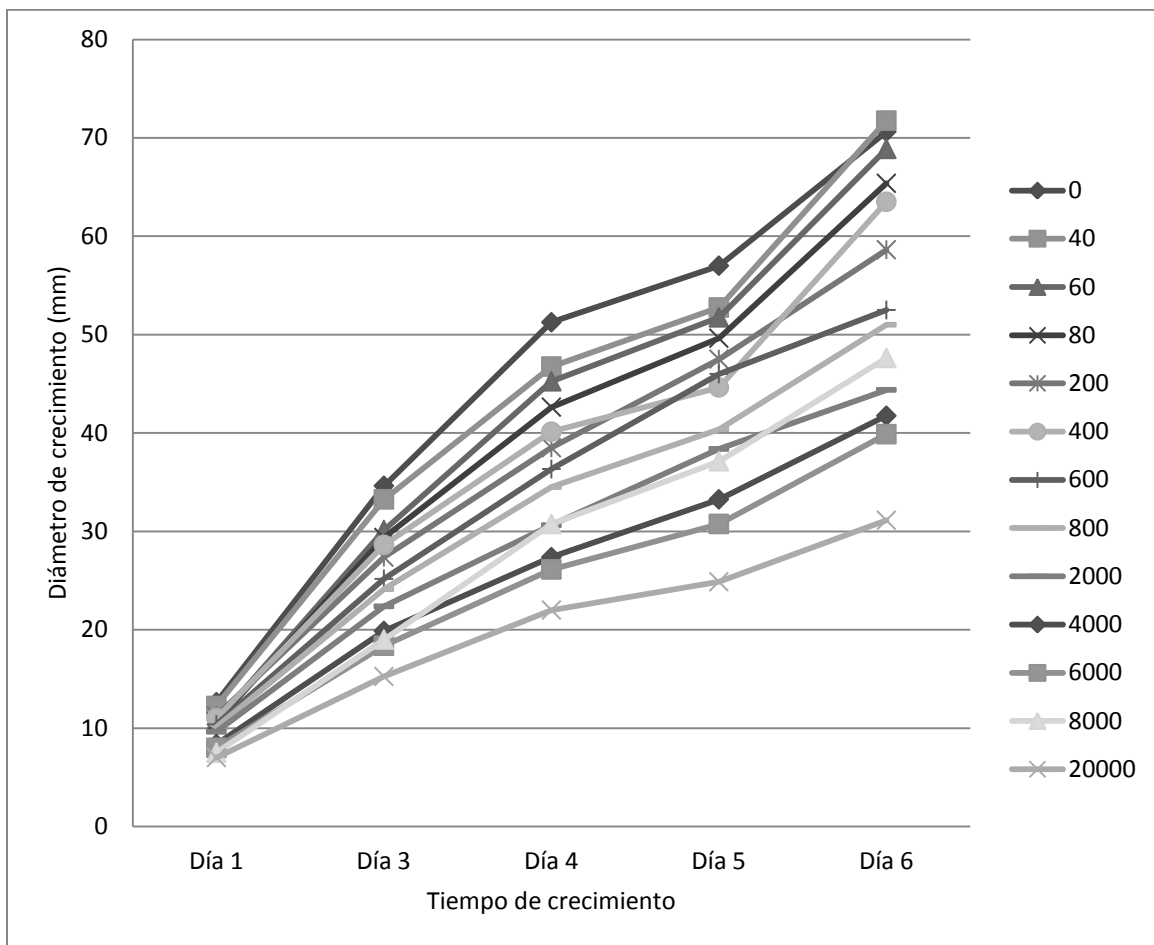
#### **5.3.2.4. *Trixis peninsularis***

El Cuadro 13 muestra el comportamiento en el crecimiento de *F. oxysporum* frente al extracto de *T. peninsularis*. Se observa una inhibición, con mínimos de crecimiento para 20000 ppm, de 7.0 mm para el día uno, 15.3 mm para el día tres, 22.0 mm para el día cuatro, 24.9 mm para el día cinco y 31.1 mm para el día seis. Este último valor, que incluso a una alta concentración es de poco menos de la mitad que el diámetro a 0 ppm, indica un potencial moderado para inhibir al hongo.

**Cuadro 13. Promedio diario de crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* evaluado con extracto de *Trixis peninsularis*.**

<b>Concentración (ppm)</b>	<b>Día 1</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 4</b>	<b>Día 5</b>	<b>Día 6</b>
0	12.6	34.6	51.3	57.0	70.6
40	12.3	33.3	46.8	52.8	71.8
60	10.8	30.1	45.3	51.8	68.9
80	10.6	29.4	42.6	49.6	65.4
200	11.3	27.4	38.5	47.5	58.6
400	11.0	28.6	40.1	44.6	63.5
600	10.4	25.2	36.3	46.0	52.5
800	10.1	24.1	34.5	40.4	51.0
2000	9.6	22.4	30.6	38.4	44.4
4000	8.4	19.9	27.4	33.3	41.8
6000	8.0	18.4	26.1	30.8	39.9
8000	7.5	19.0	30.8	37.1	47.6
20000	7.0	15.3	22.0	24.9	31.1

La Gráfica 4 muestra las tendencias de crecimiento micelial de *F. oxysporum* frente al extracto de *T. peninsularis*. Se observa una estabilización del crecimiento entre el día cuatro y cinco, para incrementarse hacia el día seis. Todas las líneas están cercanas entre sí, y salvo a las concentraciones de 400 ppm y 8000 ppm, el comportamiento es muy similar al de la línea control. Las líneas correspondientes a 400 y 8000 ppm muestran un comportamiento de crecimiento micelial diferente al resto, ya que las líneas muestran un crecimiento superior a las de sus concentraciones vecinas, inmediatamente superiores.



**Gráfica 4. Diámetro de crecimiento micelial diario de *Fusarium oxysporum* evaluado con extracto de *Trixis peninsularis*.**

El Cuadro 14 muestra la inhibición observada para *T. peninsularis* con los datos de crecimiento del sexto día. Se observa un 0.0 % para el control negativo, 100.0 % para el control positivo y de -1.6, 2.5, 7.4, 17.0, 10.1, 25.7, 27.9, 37.2, 40.9, 43.5, 32.6 y 55.9% para 40, 60, 80, 200, 400, 600, 800, 2000, 4000, 6000, 8000 y 20000 ppm, respectivamente. A diferencia de los otros extractos evaluados, estos valores no siguen un orden ascendente, lo que tiene implicaciones biológicas en el tipo de inhibición que presenta este extracto.

Cuadro 14. Porcentajes de inhibición micelial para *Trixis peninsularis*.

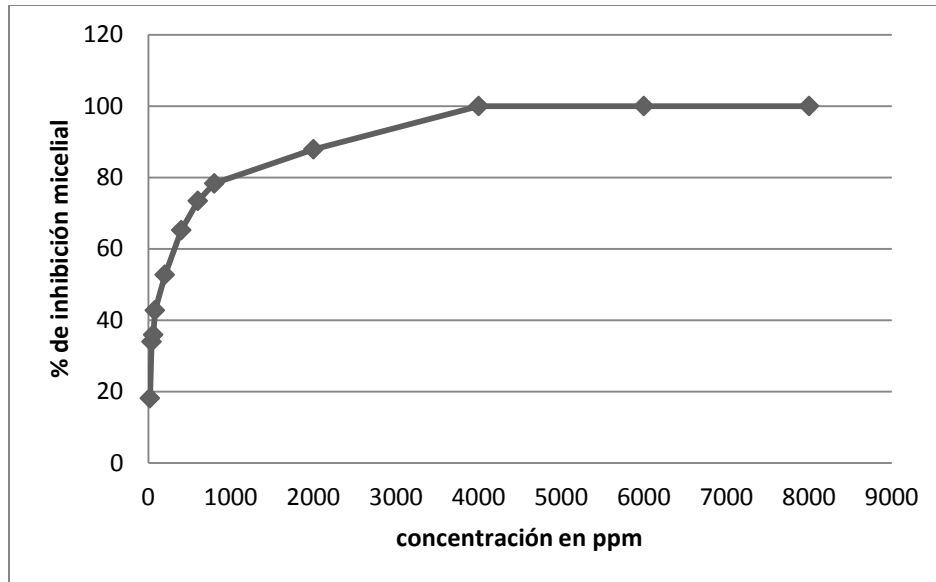
Concentración (ppm)	Crecimiento (mm)	Inhibición (mm)	Inhibición (%)
Control -	70.6	0.0	0.0
Control +	0.0	70.6	100.0
40	71.8	-1.1	-1.6
60	68.9	1.8	2.5
80	65.4	5.3	7.4
200	58.6	12.0	17.0
400	63.5	7.1	10.1
600	52.5	18.1	25.7
800	51.0	19.6	27.9
2000	44.4	26.3	37.2
4000	41.8	28.9	40.9
6000	39.9	30.8	43.5
8000	47.6	23.0	32.6
20000	31.1	39.5	55.9

#### 5.4. Determinación de la $CI_{50}$

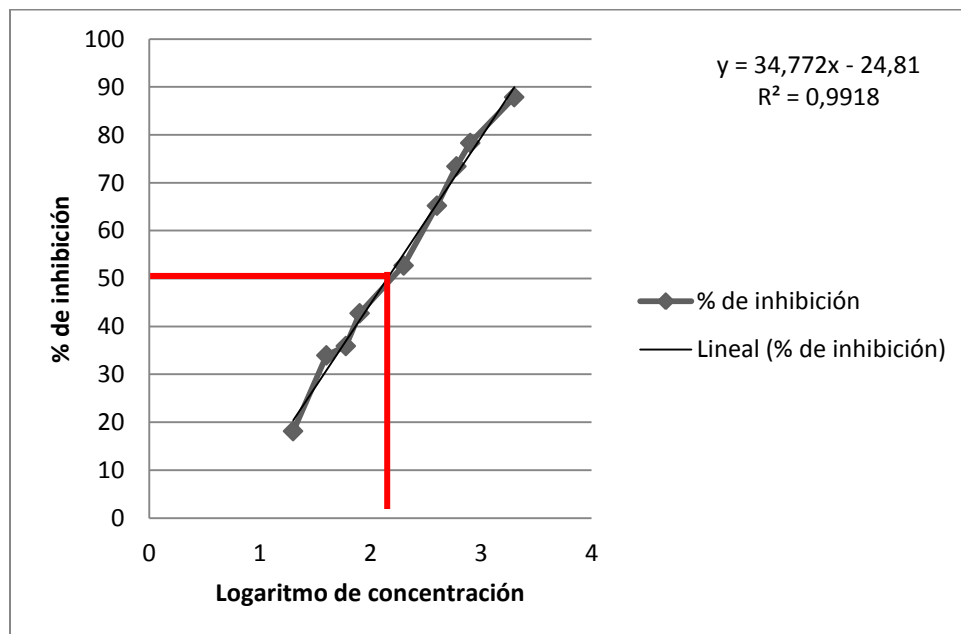
##### 5.4.1. *Larrea tridentata*

La Gráfica 5 muestra la tendencia en la inhibición del crecimiento micelial de *F. oxisporum* observada en el sexto día en las diferentes concentraciones evaluadas. La línea refleja un comportamiento logarítmico donde, a bajas concentraciones, el aumento en la inhibición es alto; sin embargo, a medida que esta inhibición se acerca al 100%, la curva se estabiliza hasta llegar al máximo de inhibición. Al graficar estos porcentajes frente al logaritmo de la concentración (Gráfica 6) obtenemos una recta que, ajustada, ofrece el modelo matemático  $Y=34.772X-24.81$  (donde “Y” representa el porcentaje de inhibición del hongo y “X” representa el logaritmo de la concentración en ppm). Este modelo puede ser utilizado para

proyectar la inhibición a diferentes concentraciones. Resolviendo esta ecuación para una inhibición de 50%, obtuvimos un valor de  $CI_{50}$  de 141.72 ppm.



**Gráfica 5. Porcentaje de inhibición micelial del extracto de *Larrea tridentata* sobre *Fusarium oxysporum*.**



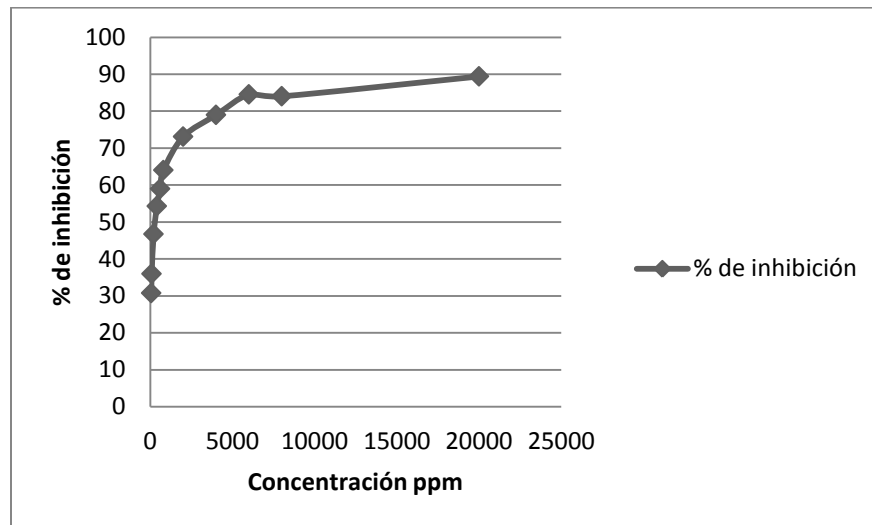
**Gráfica 6.  $CI_{50}$  de *Larrea tridentata* mediante el ajuste de la línea.**

*L. tridentata* es una planta que ha sido ampliamente estudiada; su composición química es rica en polifenoles, los cuales respaldan su bioactividad, y cuenta con múltiples actividades reportadas, entre ellas la antifúngica contra *F. oxysporum*. Fernández *et al.* (1979) reportan un 93% de inhibición a 1000 ppm de extracto etanólico (Lira, 2003); mientras que Díaz *et al.* (2009) presentan un resultado de 95% de inhibición con extracto metanólico a 3000 ppm. Si calculamos la concentración necesaria para obtener el 93% de inhibición con los datos obtenidos en este estudio, encontramos una concentración de 2,443.8 ppm, que difiere con lo reportado por Fernández *et al.* (1979). Y si realizamos el mismo cálculo para 95% de inhibición, obtenemos una concentración de 2,789.9 ppm. Este último dato respalda la investigación de Díaz *et al.* (2009), aunque ellos utilizaran otro solvente de extracción. La diferencia entre los resultados de este trabajo y los expuestos por los autores anteriores puede deberse a múltiples factores, tales como; la época de colecta, edad de la planta, parte empleada, estandarización del método y solvente de extracción.

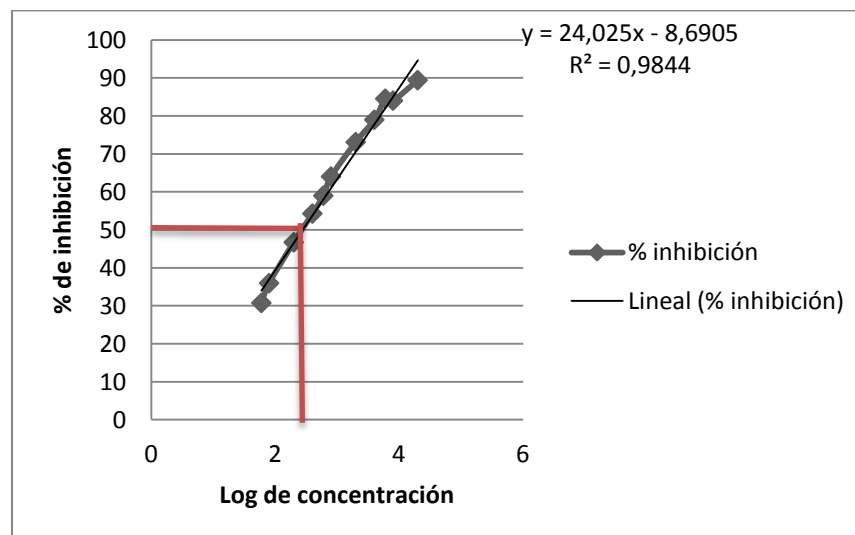
#### **5.4.2. *Hymenoclea monogyra***

La Gráfica 7 muestra la tendencia en la inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum* observada en el sexto día para las diferentes concentraciones evaluadas. La línea refleja un comportamiento logarítmico donde, a bajas concentraciones, el aumento en la inhibición es alto; no obstante, a medida que esta inhibición se acerca al 90%, la línea tiende a estabilizarse. Al graficar estos porcentajes de inhibición frente al logaritmo de la concentración (Gráfica 8), obtenemos una recta que, ajustada, ofrece el modelo matemático

$Y=24.025X-8.6905$ , el cual puede ser utilizado para proyectar la inhibición a diferentes concentraciones. Resolviendo esta ecuación para una inhibición de 50%, obtuvimos un valor de  $CI_{50}$  de 277.5 ppm.



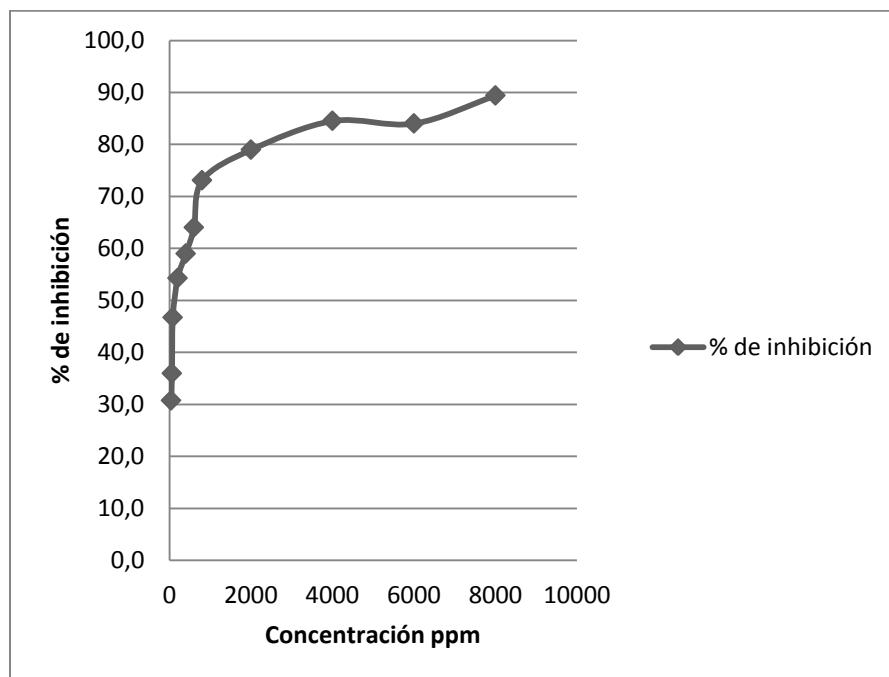
**Gráfica 7. Porcentaje de inhibición micelial del extracto de *Hymenoclea monogira* sobre *Fusarium oxysporum*.**



**Gráfica 8.  $CI_{50}$  de *Hymenoclea monogira* mediante el ajuste de la línea.**

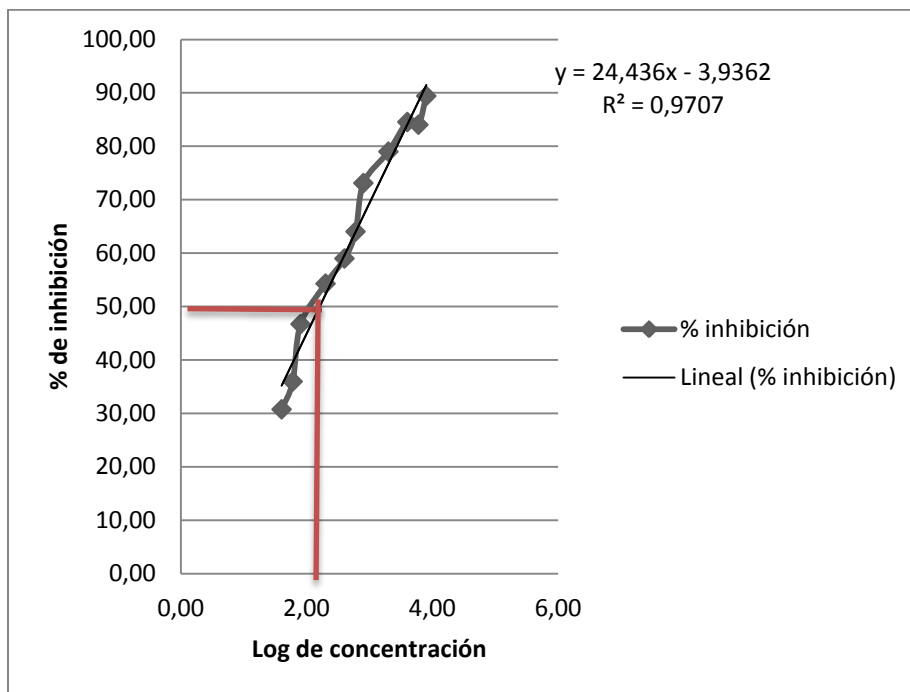
### 5.4.3. *Lippia palmeri*

La Gráfica 9 muestra la tendencia en la inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum* observada en el sexto día para las diferentes concentraciones evaluadas. La línea refleja un comportamiento logarítmico donde, a bajas concentraciones, el aumento en la inhibición es alto; sin embargo, a medida que esta inhibición se acerca al 90%, la línea se estabiliza. Al graficar estos porcentajes de inhibición frente al logaritmo de la concentración (Gráfica 10), obtenemos una recta que, ajustada, ofrece el modelo matemático  $Y=24.436X-3.9362$ , el cual puede ser utilizado para proyectar la inhibición a diferentes concentraciones. Resolviendo esta ecuación para una inhibición de 50% obtuvimos un valor de  $CI_{50}$  de 161.15 ppm.



**Gráfica 9.** Porcentaje de inhibición micelial del extracto de *Lippia palmeri* sobre *Fusarium oxysporum*.



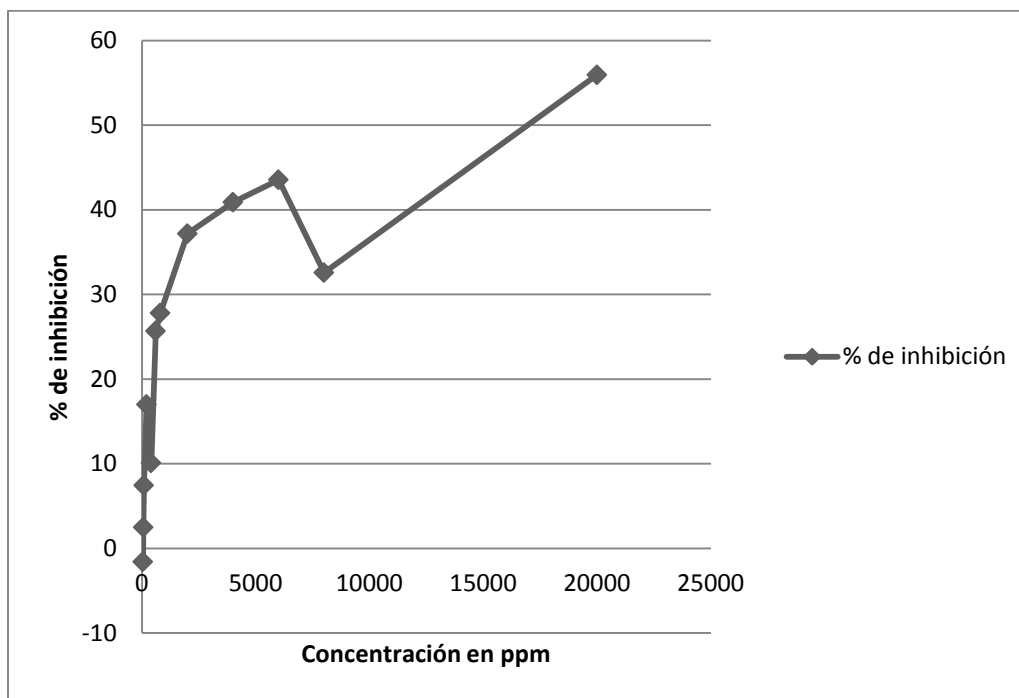


**Gráfica 10. CI<sub>50</sub> de *Lippia palmeri* mediante el ajuste de la línea.**

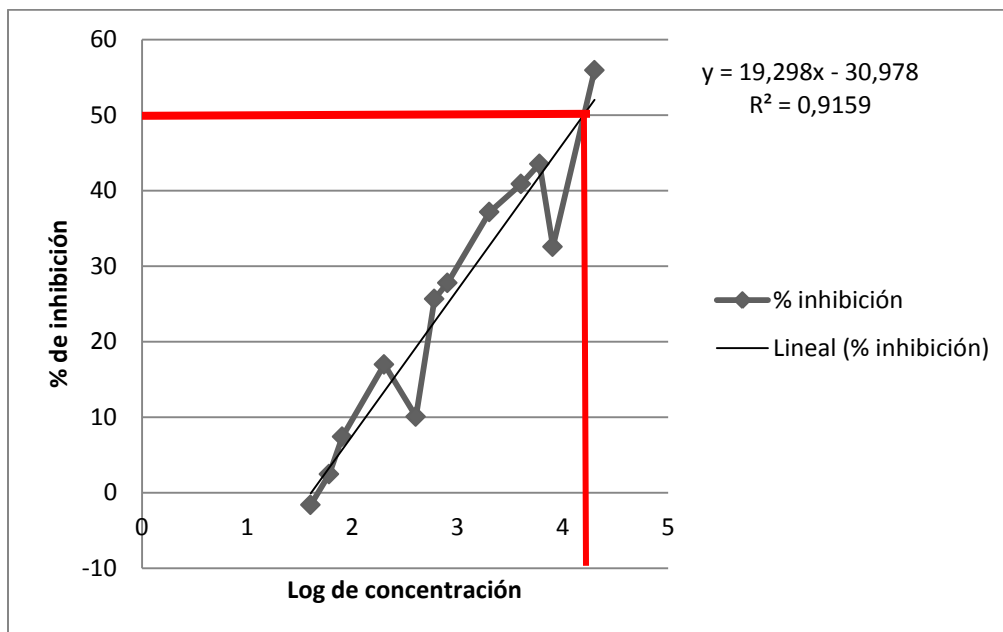
En la revisión bibliográfica no se encontró un estudio similar que permita comparar directamente los resultados obtenidos. Sin embargo, Cueto *et al.* (2010) encontraron un 93.8% de inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporum*, a 1.15  $\mu\text{l/ml}$  (equivalentes a 1150 ppm), en  $10^5$  esporas/ml, utilizando aceite esencial de *Lippia palmeri*. Si comparamos estos resultados con los del presente estudio, podríamos ver que para lograr el 93% de inhibición, la CI sería de 9992.7 ppm, el cual supera casi 9 veces la CI calculada por Cueto *et al.* (2010), aunque resulta evidente que la composición de un aceite esencial y la concentración relativa de sus componentes son diferentes a la de un extracto etanólico, situación que explica las diferencias tan marcadas entre ambos valores.

#### 5.4.4. *Trixis peninsularis*

La Gráfica 11 muestra la tendencia en la inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum* calculada para el sexto día para las diferentes concentraciones evaluadas. La línea muestra dos valores atípicos que se salen de la tendencia esperada. Aun así, la tendencia de la inhibición es clara y al graficar estos porcentajes de inhibición frente al logaritmo de concentración (Gráfica 12) obtenemos una línea que puede ser utilizada para proyectar la inhibición a diferentes concentraciones. Al ajustar esta línea a una recta obtenemos la siguiente ecuación:  $Y=19.298X-30.978$  Resolviendo esta ecuación para una inhibición de 50% se obtiene un valor de  $CI_{50}$  de 1710.15 ppm.



**Gráfica 11. Porcentaje de inhibición micelial de extracto de *Trixis peninsularis* sobre *Fusarium oxysporum*.**



**Gráfica 12. CI<sub>50</sub> de *Trixis peninsularis* mediante el ajuste de la línea.**

Como se muestra, *T. peninsularis* mostró la actividad más baja al tener la CI<sub>50</sub> más alta con 1,710.15 ppm. Este resultado se muestra poco prometedor para una aplicación como extracto crudo; a pesar de ello, la relevancia de este hallazgo radica en el hecho de que es una especie endémica sin ningún estudio reportado como fuente de moléculas activas, así que las posibilidades de que el compuesto responsable de la actividad sea una estructura novedosa, es alta.

## VI. CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos planteados en esta investigación:

- Se determinó al *Fusarium oxysporum* como agente causal de la enfermedad de marchitamiento de una planta de albahaca enferma.
- De las 47 plantas de la flora medicinal de BCS evaluadas, se encontraron 17 con extractos activos contra el crecimiento micelial *in vitro* de *Fusarium oxysporum*. Del grupo de plantas endémicas fueron activas: *Yucca valida*, *Cyrtocarpa edulis*, *Haplopappus spinulosu* y *Trixis peninsularis*. Por parte del grupo de plantas seleccionadas por sus propiedades medicinales están: *Hymenoclea monogyra*, *Cassia emarginata*, *Wislizenia refracta*, *Baccharis* sp., *Colubrina glabra*, *Anaphalis margaritacea*, *Bursera epinnata* y *Bursera hindsiana*; mientras que del grupo de plantas con actividad reportada tenemos a *Larrea tridentada*, *Lippia palmeri*, *Lophocereus schottii*, *Calliandra californica* y *Haplopappus sonorensis*.
- Se obtuvo una  $CI_{50}$  de 141.72 ppm para *Larrea tridentada*, 277.5 ppm para *Hymenoclea monogyra*, 161.15 ppm para *Lippia palmeri* y 1710.15 ppm para *Trixis peninsularis*.
- Con base en la actividad encontrada contra *F. oxysporum* para 17 de las especies investigadas, se comprueba el potencial que poseen las plantas medicinales de BCS, como alternativa de control antifúngico contra *Fusarium oxysporum*.

Se recomienda para futuras investigaciones llevar a cabo la identificación taxonómica del hongo aislado mediante pruebas bioquímicas y técnicas moleculares; de igual

forma, hacer pruebas con los extractos obtenidos contra otros hongos fitopatógenos, además de aislar e identificar los componentes activos de las plantas que resultaron positivas en las pruebas *in vitro*.

## **VII. IMPACTO EN LOS INDICADORES DE DESARROLLO**

### **Cuidado del ambiente**

La presente tesis, se ubica dentro de las acciones que prometen un mejor cuidado del ambiente. En efecto la utilización de extractos de plantas para el combate de patógenos, son mucho menos agresivos al entorno que los agroquímicos de origen industrial, pero además mucho más económicos.

Desde luego habrá que considerar que, en tanto no se efectúe la domesticación, cultivo y evaluación de las especies que presenten mayor actividad, el aprovechamiento de estas, deberá sujetarse a la normatividad vigente.

### **Valoración de los recursos de la flora nativa**

De los recursos naturales de la tierra, la flora es quizá el recurso natural más importante de todos los existentes en la tierra, pero también el más propenso a sufrir las consecuencias del desarrollo. En la presente tesis, la investigación de la actividad de extractos de plantas medicinales contra organismos patógenos, constituye una aportación importante, ya que constata el potencial de estos recursos para tal fin.

### **Valoración de la medicina tradicional**

La medicina tradicional de B.C.S., es una actividad vigente en nuestro territorio y representa una de las formas más antiguas del tratamiento de las enfermedades. La efectividad de las plantas seleccionadas en el presente trabajo, contra el patógeno *Fusarium oxysporum*, en albahaca (*Ocimum basilicum*) refuerza el valor de la medicina tradicional de nuestro territorio.

### VIII. LITERATURA CITADA

- Agrios G. N. 2007. Fitopatología. Editorial Limusa.
- Al-Mughrabi K., Aburjai T. A. 2003. Fungitoxic activity of root extracts from *Ferula harmonis*.  
Phytopathol. Mediterr. Vol. 42.
- Bajpai K. V., Lee J. T. y Kanga C. S. 2008. Chemical composition and *in vitro* control of agricultural plant pathogens by the essential oil and various extracts of *Nandina domestica* Thunb. Interciencia.
- Beltrán M. F. A., Ruiz E. F. H., Loya R. J. G., Murillo A. B., Zamora S. S., Beltrán M. J. A., Troyo D. E. y García H. J. L. 2010. Situación actual y perspectivas en la producción de hierbas aromáticas orgánicas en Baja California Sur. Capítulo XVIII. Agricultura Orgánica tercera parte. CONACYT.
- Cantrell C. L., Schrader K. K., Mamonov L. K., Sitpaeva G. T., Kustova T. S., Dunbar C. y Wedge D. E. 2005. Isolation and identification of antifungal and antialgal alkaloids from *Haplophyllum sieversii*. J. Agric. Food Chem. Vol. 53 (20).
- Chiocchetti A., Guignone s., Minuto A., Gullino L. M. y Garibaldi A. 1999. Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Basilica* Isolated from soil, basil seed, and plants by RAPD analysis. Plant disease. Vol. 83 (6).
- Cueto W. M. A., Rivas M. C., Alanis G. M. G., Oranday C. A., Amaya G. C. A., Nuñez G. A., Samaniego G. J. A. y Cano R. P. 2010. Antifúngal Properties of assential oil of mexicano regano (*Lippia berlandieri*) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Licopersici*. Revista Mexicana de micología. Vol. 3.

- Díaz D., Hernández C. F. D., Jasso C. D., Aguilar N. C., Rodríguez H. R. y Belmares C. R. E. 2009. Extractos normales y fermentados de *Larrea tridentata* y *Fluorencia cernua* sobre *Fusarium oxysporum in vitro*. Universidad Autónoma Antonio Narro.
- Encarnación D. R. 1996. Medicina Tradicional y popular de Baja California Sur. Primera edición.
- Encarnación D. R., Agúndez E. J., García A., Delgado G., Molina S. G. M. y Said F. S. 2005. Two new cassane-type diterpenes from *Calliandra californica* whit antituberculosis and cytotoxic activities.
- Encarnación D. R. y Keer G. S. 1990. Antimicrobial Screening of medicinal plants from Baja California Sur, México. Journal of ethnopharmacology Vol 31 181-192.
- Fernández S., Hurtado L. M. y Hernández F. 1979. Fungicidal components of creosote bush resin. Advances in pesticide science. Editorial H. Geissbuhler.
- Fokialakis N., Cantrell C. L., Duke S. O., Skaltsounis A. L. y Wedge D. E. 2006. Antifungal activity of thiophenes from *Echinops ritro*. Journal of agricultural and food chemistry. Vol. 54(5).
- Google Earth. 2010. Imágenes de satélite.
- Krauze B. M. y Wiwart M. 2003. Antifungal activity of biflavones from *Taxus baccata* and *Ginkgo biloba*. Journal of biosciences. Vol. 58.
- Koike T. S., Gladders P. y Paulus O.R. 2007. Vegetable Diseases A Color Handbook. Academic Press.
- Lichtenzveig J., Anderson J., Thomas G., Oliver R. y Singh K. 2006. Inoculation and growth with soil borne pathogenic fungi. *Medicago turnculata* handbook.



- Lira S. R. H. 2003. Estado actual del conocimiento sobre las propiedades Biocidas de la gobernadora (*Larrea tridentata* (D. C.) COVILLE). Revista mexicana de fitopatología. Vol. 21 (002).
- López B. A., Roxana L. S. B., Vázquez B. M. E. y Rodríguez H. S. A. 2005. Inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum* schlechtend f. sp. *Lycopersici* (sac) Snyder y Hansen, *Rhizotonia solani* Kuhn y *Verticillium dahliae* Kleb mediante Extractos vegetales acuosos. Revista mexicana de fitopatología. Vol. 23.
- Murugesan S., Vijayakumar R. y Panneerselvam A. 2011. Antifungal activity of medicinal plants against plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. Journal of Pharmacy Research. Vol. 4.
- Murillo J. I., Encarnación D. R., Malmstrom J., Christophersen C. y Franzblau S. G. 2003. Antimycobacterial flavones from *Haploppapus Sonorensis*. Fitoterapia. Vol. 74 (3).
- Nieto N. F. 2007. Evaluación de la actividad antimicrobiana de *Wislizenia refracta* Engelm (Capparaceae). Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- Ochoa A. A. S. 2004. Selección de plantas medicinales de Baja California Sur, México, por su actividad antifúngica. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- Ortega N. M. M., Robles B. M. R., Acedo F. E., González L. A., Morales T. A. y Vázquez M. L. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of orégano (*Lippia palmeri* S. Wats) essential oils. Revista fitotecnia. Vol. 34 (1).
- Pitt J. I. y Hocking A. D. 2009. Fungi and food spoilage. Editorial Springer.

- Rayavarapu A. K. y Kaladhar D. 2011. Evaluation of antimicrobial activity of *Mucuna pruriens* on plant pathogens. Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research. Vol. 1.
- Reis A., Boiteux L. S. y Viera R. F. 2008. Search for sources of wide-spectrum resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *basilici* isolates in accessions of *Ocimum* species. J Gen Plant Pathol.
- Saetae, Donlaporn y Suntornsuk W. 2010. Antifungal activities of ethanolic extract from *Jatropha curcas* seed cake. J. Microbiol. Biotechnol. Vol. 20.
- Siva N., Ganesan S., Banumathy N., y Muthuchelian. 2008. Antifungal effect of leaf extract of some medicinal plants against *Fusarium oxysporum* causing wilt disease of *Solanum melogena* L. Ethnobotanical leaflets. Vol. 12.
- Sharma B. y Kumar P. 2009. *In vitro* antifungal potency of some plant extracts against *Fusarium oxysporum*. International Journal of Green Pharmacy. Vol. 3 (1).
- Subban M., Ramasamy V. y Anaamalai P. 2011. Antifungal activity of medicinal plants against plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. Pharmacy research. Vol. 4.
- Takhi D., Ouinten M. y Yousfi M. 2011. Study of antimicrobial activity of secondary metabolites extracted from spontaneous plants from the area of Laghouat, Algeria. Advances in Environmental Biology. Vol. 5.
- Watanabe T. 2002. Soil and seed fungi. CRC press.

## IX. ANEXOS

## Anexo 1. Plantas medicinales seleccionadas para el estudio

Nº	Clave	Nombre común	Nombre científico
1	448-T	Ramajo blanco	<i>Justicia palmeri</i>
2	457-T	Datiliyo	<i>Yucca valida</i>
3	449-T	Ciruelo cimarrón	<i>Cyrtocarpa edulis</i>
4	30-T2	Apan	<i>Bebbia juncea</i>
5	7-T	Lomboy colorado	<i>Jatropha vernicosa</i>
6	180-T	Palo blanco	<i>Lysiloma candida</i>
7	295-T	Sanalotodo	<i>Acalypha comonduana</i>
8	105-T1	Hierba de la gangrena	<i>Hermannia palmeri</i>
9	290-T	Cola de zorra	<i>Haplopappus spinulosus</i>
10	185-T	Santa Lucía	<i>Trixis peninsularis</i>
11	22-T1	Oreganón	<i>Lippia formosa</i>
12	450-B	Copalquín	<i>Bursera filicifolia</i>
13	500-T	Palo fierro	<i>Phithecellobium dulce</i>
14	499-T	Guaco	<i>Wislizenia refracta</i>
15	274-T	Romerillo	<i>Hymenoclea monogyra</i>
16	501-T	Gobernadora	<i>Larrea tridentada</i>
17	44-T	Orégano	<i>Lippia palmeri</i>
18	46-T	Hierba del pasmo	<i>Haplopappus sonorensis</i>
19	24-T1	Escoba amarga	<i>Baccharis sp.</i>
20	25-T	Hierva del venado	<i>Porophyllum gracille</i>
21	E-21	Istafiate	<i>Ambrosia psilostachya</i>
22	12-T	Guatamote	<i>Baccharis glutinosa</i>
23	176-T	Parrandera	<i>Pectis hankeana</i>
24	E-159	Talayote, guirote	<i>Matelea cordifolia</i>
25	1-T	Raíz de jumete	<i>Asclepsias subulata</i>
26	220-T	Palo zorrillo	<i>Cassia emarginata</i>
27	228-T	Garambullo	<i>Lophocereus schottii</i>
28	370-T	Cardón	<i>Pachycereus pringlei</i>
29	172-T	Pitahaya agria	<i>Stenocereus gommosus</i>
30	453-T	Tabardillo	<i>Calliandra californica</i>
31	281-T	Deditos	<i>Euphorbia tiricaule</i>
32	478-T	Oreganón	<i>Lippia formosa</i>
33	27-T	Lomboy blanco	<i>Jatropha cinerea</i>
34	494-T	Golondrina	<i>Euphorbia nutans</i>
35	171-T	Palo colorado	<i>Colubrina glabra</i>
36	393-T	Hierba del Cáncer	<i>Acalypha comonduana</i>

### Continuación Anexo 1

37	479-T	Cardo, chicalote	<i>Argemone gracilentia</i>
38	39-T	Guachichila	<i>Loeselia ciliata</i>
39	379-T	Borraja	<i>Borago officinalis</i>
40	E-17	Gordolobo	<i>Anaphalis margaritacea</i>
41	139-T	Salvia real	<i>Hyptis tephrodes</i>
42	16-T	Zarza parrilla	<i>Polygonum lapathifolium</i>
43	150-T	Hierba del cáncer	<i>Acalypha comonduana</i>
44	271-T	Guatamote	<i>Baccharis glutinosa</i>
45	4-T	Cacachila	<i>Colubrina glomerata</i>
46	46-T	Hierba del pasmo	<i>Haplopappus sonorensis</i>
47	215-T	Guisapolón	<i>Xanthium strumarium</i>
48	340-T	Choya	<i>Opuntia cholla</i>
49	192-T	Mangle rojo	<i>Avicennia nitida</i>
50	284-T	Copal blanco	<i>Bursera epinnata</i>
51	136-T	Copal colorado	<i>Bursera hindsiana</i>

### Anexo 2. Tabla de rendimiento de extractos

Nº	Clave	Nombre científico	EtOHM	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> M	Me <sub>2</sub> COM	EtOHS
1	448-T	<i>Justicia palmeri</i>	5.7	1.3	1.0	6.7
2	457-T	<i>Yucca valida</i>	6.2	0.9	0.8	7.0
3	449-T	<i>Cyrtocarpa edulis</i>	4.6	3.4	1.4	6.9
4	30-T2	<i>Bebbia juncea</i>	4.3	1.0	0.5	4.6
5	7-T	<i>Jatropha vernicosa</i>	6.9	4.3	1.1	7.3
6	180-T	<i>Lysiloma candida</i>	15.8	1.6	9.2	11.6
7	295-T	<i>Acalypha comonduana</i>	6.7	1.5	2.6	8.1
8	105-T1	<i>Hermannia palmeri</i>	7.5	0.9	1.1	6.5
9	290-T	<i>Haplopappus spinulosus</i>	9.5	3.2	1.2	17.5
10	185-T	<i>Trixis peninsularis</i>	6.3	3.7	1.7	7.4
11	22-T1	<i>Lippia formosa</i>	7.0	2.4	1.6	6.6
12	450-B	<i>Bursera filicifolia</i>	4.0	2.5	0.8	4.2
13	500-T	<i>Phithecellobium dulce</i>	4.6	4.7	2.0	9.0
14	499-T	<i>Wislizenia refracta</i>	4.1	2.9	0.3	8.8
15	274-T	<i>Hymenoclea monogyra</i>	11.4	6.4	2.7	
16	501-T	<i>Larrea tridentada</i>	***	***	***	***
17	44-T	<i>Lippia palmeri</i>	***	***	***	***
18	46-T	<i>Haplopappus sonorensis</i>	8.8	0.2	2.3	8.3
19	24-T1	<i>Baccharis sp.</i>	23	0.8	9.4	20.6
20	25-T	<i>Porophyllum gracille</i>	4.9	0.1	1.7	8.7
21	E-21	<i>Ambrosia psilostachya</i>	15.2	1.1	5.9	8.8
22	12-T	<i>Baccharis glutinosa</i>	43.3	2.1	10.5	39.6

### Continuación Anexo 2

23	176-T	<i>Pectis hankeana</i>	13.2	0.9	4.6	12.0
24	E-159	<i>Matelea cordifolia</i>	4.7	0.8	2.2	9.2
25	1-T	<i>Asclepias subulata</i>	5.6	0.1	1.7	2.7
26	220-T	<i>Cassia emarginata</i>	10.9	0.7	1.6	16.3
27	228-T	<i>Lophocereus schottii</i>	7.7	1.1	3.8	16.6
28	370-T	<i>Pachycereus pringlei</i>	6.7	0.3	0.8	7.2
29	172-T	<i>Stenocereus gommosus</i>	14.6	0.8	5.8	9.8
30	453-T	<i>Calliandra californica</i>	6.4	0.1	3.0	5.3
31	281-T	<i>Euphorbia tiricaule</i>	6.4	0.6	4.5	2.7
32	478-T	<i>Lippia formosa</i>	6.7	0.2	2.0	6.8
33	27-T	<i>Jatropha cinerea</i>	6.8	1.1	2.7	5.3
34	494-T	<i>Euphorbia nutans</i>	12.9	0.6	3.2	33.7
35	171-T	<i>Colubrina glabra</i>	5.1	0.3	1.3	8.1
36	393-T	<i>Acalypha comonduana</i>	12.4	0.4	1.6	***
37	479-T	<i>Argemone gracilentia</i>	16	0.6	0.7	***
38	39-T	<i>Loeselia ciliata</i>	4.3	***	***	***
39	379-T	<i>Borago officinalis</i>	2.6	***	***	***
40	E-17	<i>Anaphalis margaritacea</i>	6.8	***	***	***
41	139-T	<i>Hyptis tephrodes</i>	3.1	0.7	0.9	5.5
42	16-T	<i>Polygonum lapathifolium</i>	9.8	0.9	1.6	10.6
43	150-T	<i>Acalypha comonduana</i>	10.6	1.4	1.1	7.9
44	271-T	<i>Baccharis glutinosa</i>	6.4	1.9	1.7	7.8
45	4-T	<i>Colubrina glomerata</i>	9.4	5.2	0.6	10.5
46	46-T	<i>Haplopappus sonorensis</i>	24.3	0.7	2.1	20.5
47	215-T	<i>Xanthium strumarium</i>	8.3	0.2	***	22.6
48	340-T	<i>Opuntia cholla</i>	1.7	0.6	0.2	1.9
49	192-T	<i>Aviccenia nitida</i>	23.5	1.4	1.4	3.9
50	284-T	<i>Burcera epinnata</i>	5	2.4	1.3	1.6
51	136-T	<i>Bursera hindsiana</i>	4.6	***	1.6	***

EtOHM: Etanol macerado

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: DiclorometanoMe<sub>2</sub>CO: Acetona

EtOHS: Etanol soxhlet

**Anexo 3. Porcentaje de inhibición *in vitro* por el método de difusión en agar**

Nº planta	Clave planta	Nombre científico	EtOHM % inhib.	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> % inhib.	Me <sub>2</sub> CO % inhib.	EtOHS % inhib.
1	448-T	<i>Justicia palmeri</i>	0	0	0	0
2	457-T	<i>Yucca valida</i>	18.5	0	0	0
3	449-T	<i>Cyrtocarpa edulis</i>	0	0	10.0	0
4	30-T2	<i>Bebbia juncea</i>	0	0	0	0
5	7-T	<i>Jatropha vernicosa</i>	0	0	0	0
6	180-T	<i>Lysiloma candida</i>	0	0	0	0
7	295-T	<i>Acalypha comonduana</i>	0	0	0	0
8	105-T1	<i>Hermannia palmeri</i>	0	0	0	0
9	290-T	<i>Haplopappus spinulosus</i>	0	10.0	0	0
10	185-T	<i>Trixis peninsularis</i>	0	0	0	25.9
11	22-T1	<i>Lippia formosa</i>	0	0	0	0
12	450-B	<i>Bursera filicifolia</i>	0	0	0	0
13	500-T	<i>Phithecellobium dulce</i>	0	0	0	0
14	499-T	<i>Wislizenia refracta</i>	0	7.4	0	0
15	274-T	<i>Hymenoclea monogyra</i>	0	22.2	0	18.8
16	501-T	<i>Larrea tridentada</i>	53.6	***	***	***
17	44-T	<i>Lippia palmeri</i>	42.8	***	***	***
18	46-T	<i>Haplopappus sonorensis</i>	0	0	0	0
19	24-T1	<i>Baccharis sp.</i>	12.5	0	0	0
20	25-T	<i>Porophyllum gracille</i>	0	0	0	0
21	E-21	<i>Ambrosia psilostachya</i>	0	0	0	0
22	12-T	<i>Baccharis glutinosa</i>	0	0	0	0
23	176-T	<i>Pectis hankeana</i>	0	0	0	0
24	E-159	<i>Matelea cordifolia</i>	0	0	0	0
25	1-T	<i>Asclepias subulata</i>	0	0	0	0
26	220-T	<i>Cassia emarginata</i>	14.3	0	0	0
27	228-T	<i>Lophocereus schottii</i>	28.6	11.5	19.3	31.25
28	370-T	<i>Pachycereus pringlei</i>	0	0		0
29	172-T	<i>Stenocereus gommosus</i>	0	0	0	0
30	453-T	<i>Calliandra californica</i>	10.3	16.7	12.9	10
31	281-T	<i>Euphorbia tiricaule</i>	0	0	0	0
32	478-T	<i>Lippia formosa</i>	0	0	0	0
33	27-T	<i>Jatropha cinerea</i>	0	0	0	0
34	494-T	<i>Euphorbia nutans</i>	0	0	0	0
35	171-T	<i>Colubrina glabra</i>	0	0	0	9.68
36	393-T	<i>Acalypha comonduana</i>	0	0	0	***
37	479-T	<i>Argemone gracilentia</i>	0	0	0	0
38	39-T	<i>Loeselia ciliata</i>	0	***	***	0
39	379-T	<i>Borago officinalis</i>	0	***	***	0
40	E-17	<i>Anaphalis margaritacea</i>	0	***	***	17.1
41	139-T	<i>Hyptis tephrodes</i>	0	0	0	0

**Continuación Anexo 3**

42	16-T	<i>Polygonum lapathifolium</i>	0	0	0	0
43	150-T	<i>Acalypha comonduana</i>	0	0	0	0
44	271-T	<i>Baccharis glutinosa</i>	0		0	0
45	4-T	<i>Colubrina glomerata</i>	0	0	0	0
46	46-T	<i>Haplopappus sonorensis</i>	0	0	0	18.75
47	215-T	<i>Xanthium strumarium</i>	0	0	***	0
48	340-T	<i>Opuntia cholla</i>	0	***	0	0
49	192-T	<i>Aviccenia nitida</i>	0	0	0	0
50	284-T	<i>Bursera epinnata</i>	0	0	0	12.5
51	136-T	<i>Bursera hindsiana</i>	0	0	0	11.1