

**ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE PLANTAS MEDICINALES SOBRE  
*Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* (MASSEY) SNYDER & HANSEN**

C. Garduño-Pizaña<sup>1¶</sup>; L. Barrera-Necha<sup>1</sup>; A. Jiménez-Pérez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de interacción planta-insecto. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos-IPN.  
Carr. Yautepec-Jojutla Km 8.5. San Isidro, Yautepec, Morelos, México. CP 62731.

**RESUMEN**

*Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* representa uno de los problemas de mayor importancia en el cultivo de gladiola. Actualmente, la resistencia de este hongo a los fungicidas, así como la reducción en la viabilidad de los cormos debido a los tratamientos físicos, ha estimulado la búsqueda de nuevas alternativas de control. El presente trabajo, tuvo por objetivo la evaluación *in vitro* del efecto de polvos (20 mg ml<sup>-1</sup>) y extractos acuosos, metanólicos y hexánicos (5%) de 15 especies vegetales sobre el crecimiento micelial y germinación del *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*. Se realizaron seis repeticiones para cada variable, las cuales fueron analizadas a través de ANOVA simple y separación de medias (LSD), así como regresiones lineales para determinar la tasa de crecimiento micelial. El extracto hexánico de epazote (*Chenopodium ambrosioides*) fue el único con actividad fungicida, los demás, solo retardaron el crecimiento. Los diferentes extractos tuvieron mayor efecto sobre el crecimiento micelial del hongo que en la germinación de los conidios. Con respecto al tipo de disolvente, sobresalen los extractos metanólicos al reducir en mayor proporción la tasa de crecimiento. Además, de que la mayoría de las especies mostraron actividad en este disolvente. La inhibición micelial superior al 50% se logró con los extractos metanólicos de ciruela (*Spondias purpurea*) y guayaba (*Psidium guajava*) y con el extracto acuoso de guaje (*Leucaena esculenta*). El 80% de los polvos vegetales estimularon el crecimiento del hongo. Sin embargo, los polvos de nanche (*Byrsonima crassifolia*) y zopilote (*Swietenia humilis*) registraron el menor porcentaje de germinación.

Palabras clave adicionales: extractos, polvos vegetales, disolventes, inhibición micelial

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Obtención de *Fusarium oxysporum f. sp. gladioli***

*Fusarium oxysporum f. sp. gladioli* fue aislado de cormos infectados de gladiolo provenientes del municipio de Cuautla, Morelos en noviembre del 2007. Estos cormos, se desinfectaron y colocaron en cámaras húmedas durante 48 h para estimular el desarrollo micelial. Posteriormente, el hongo se aisló e identificó mediante la clave de Barnett y Hunter (1999) y se mantuvo en PDA (medio de cultivo de Agar de Papa y Dextrosa).

### **Material vegetal**

Se emplearon hojas de 15 plantas medicinales, las cuales se colectaron en diferentes municipios del estado de Morelos (Cuadro 1). Como consecuencia de las características de la selva baja caducifolia, vegetación a la cual pertenecen las especies seleccionadas, se tuvo que colectar en dos temporadas del año 2008. Dos especies adquiridas comercialmente, el epazote (mercado) y la albahaca (empacadora). El material se trasladó al Laboratorio Fitosanitario del CEPROBI, en donde se seleccionaron hojas sin daño, se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio (1%) durante 30 segundos y se desecaron bajo sombra. Una vez secado, se molió, tamizó y almacenó en frascos de vidrio color ámbar hasta su utilización.

### **Preparación de polvos y extractos vegetales**

Se realizó una extracción seriada con disolventes, para ello se utilizó 50 g de muestra que se disolvieron en 500 ml de hexano, dejándose reposar durante 24 h y posteriormente se filtro con papel Whatman No. 10. Los polvos vegetales fueron recuperados para disolverlos en 500 ml de metanol y finalmente con 500 ml de agua destilada, siguiendo el mismo método de extracción para estos últimos. Los filtrados hexánicos y metanólicos fueron concentrados en un rotavapor (Buchi Waterbath B-480). Después, se colocaron en frascos color ámbar y se dejó evaporar el excedente a temperatura ambiente durante 24 y 48 h respectivamente. Se determinó el peso de los extractos, para calcular el rendimiento obtenido en cada una de los extractos. Tanto los polvos vegetales ( $20 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), así como los extractos acuosos (5%), se incorporaron al PDA con un volumen total de 150 ml, esterilizaron en autoclave (AESAMOD. CV 250) durante 15 min a 15 lb·pul<sup>2</sup> y se vaciaron en cajas de Petri de 100x15 mm de diámetro.

En el caso de los extractos metanólicos y hexánicos (5%) se pesaron 2 g de extracto que se disolvieron en 1 ml del disolvente correspondiente, posteriormente se agregaron al PDA ya esterilizado y se vaciaron en cajas Petri de 60x15 mm de diámetro. La diferencia en el tamaño de las cajas Petri se debió al porcentaje del rendimiento obtenido en estos.

CUADRO 1. Relación de las especies evaluadas y antecedentes etnobotánicos y de colecta realizada en municipios del estado de Morelos en el año 2008.

Familia botánica	Nombre		Uso	Colecta	
	científico	Común		Lugar	Fecha
Anacardiaceae	<i>Spondias purpurea</i> L.	Ciruela	B	Tetecala	Julio
Annonaceae	<i>Annona diversifolia</i> Saff.	Ilama	B	Tetecala	Julio
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium ambrosioides</i> (L.)Webber	Epazote*	P	Cuernavaca	Julio
Convulvolacea	<i>Ipomoea murucoides</i> (Roem.) Schultz.	Cazahuate	B	Tetecala	Julio
	<i>Caesalpinia pulcherrima</i> (L.) Swartz.	Framboyan	B	Yautepec	Enero
Fabaceae	<i>Pithecellobium dulce</i> (Roxb.) Benth.	Guamúchil	B y P	Yautepec	Febrero
	<i>Eritryna americana</i> Miller.	Zompantle	B	Yautepec	Julio
	<i>Leucaena esculenta</i> (DC.) Benth.	Guaje	P	Tetecala	Julio
Malpighiaceae	<i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) Kunth	Nanche	B	Tetecala	Julio
Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> L.	Guayaba	P	Yautepec	Febrero
Meliaceae	<i>Swietenia humilis</i> Zucc.	Zopilote	B	Tetecala	Enero
Lamiaceae	<i>Ocimum basilicum</i> L.	Albahaca*	P	Amacuzac	Febrero
Lauraceae	<i>Persea americana</i> Miller.	Aguacate	P	Tetecala	Febrero
Papaveraceae	<i>Argemone mexicana</i> (Sweet) Lindley	Chicalote	B	Yautepec	Febrero
Sterculiaceae	<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.	Guazuma	B y P	Yautepec	Febrero

Uso (uso etnobotánico): Antimicrobiano (B), Antiparasítico (P).

\*Especie adquirida comercialmente

### Evaluaciones *in vitro*

Después de haber solidificado el medio, se colocó en el centro un disco de PDA que contenía a *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*. Después de la inoculación se midió con un Vernier el diámetro de la colonia cada 24 h, hasta que el micelio cubrió totalmente las cajas del tratamiento control (PDA sin extracto). Con las lecturas diarias, se determinaron las tasas de crecimiento y con la lectura final el índice de inhibición micelial, de acuerdo a lo siguiente: % de  $I = [(C-T)/C] \times 100$ , en donde C representa el crecimiento en el control y T en el tratamiento. Debido a la diferencia en el tamaño de la caja Petri, la lectura final fue a los 12 y 14 días para la prueba de polvos y extractos acuosos respectivamente y de 8 días para los extractos metanólicos y hexánicos.

Al terminar la evaluación del crecimiento micelial, se agrego a cada caja 20 ml de agua estéril y se raspó el micelio con una varilla metálica acodada para obtener una suspensión de esporas, de la cual se tomó 50  $\mu$ l y se colocó en discos de PDA de 10 mm de diámetro para evaluar la germinación en un total de 100 conidios después de 7 h de incubación. Por cada muestra se inocularon 3 discos, por lo que la germinación se determinó en un total de 300 conidios.

### **Análisis estadístico**

Se utilizó un diseño completamente al azar, se realizaron ANOVAS simples para analizar los resultados de crecimiento micelial y germinación con comparación de medias por el método de Fisher (LSD). Además, se determinaron las tasas de crecimiento a través de regresiones lineales. Todos los análisis se realizaron en Sigma Stat versión 3.5. El ensayo se realizó una vez con seis repeticiones.

## **RESULTADOS**

### **Rendimiento de los extractos**

El porcentaje de rendimiento de los extractos concentrados, varió dependiendo del tipo de disolvente empleado, así como de la especie vegetal. En los extractos metanólicos se consiguieron rendimientos de 4 a 16 %, a diferencia de los hexánicos con los que se obtuvo rendimientos por debajo del 4% (Cuadro 2).

### **Tasas de crecimiento y porcentaje de inhibición micelial**

Tres tratamientos (20%) de polvos vegetales inhibieron el crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*, el de nanche, guayaba y ciruela, que en el ultimo día, alcanzaron un crecimiento de 62.7, 73.6 y 77.4 mm, respectivamente (Cuadro 3). El 80 % de los polvos vegetales estimularon el crecimiento micelial, e incluso como se observa en la figura 1, el hongo alcanzó el límite de crecimiento en las cajas Petri, dos días antes (día 10) a diferencia del control. Lo anterior, es explicado por las tasas de crecimiento en cada una de las especies estudiadas. El porcentaje de inhibición del crecimiento micelial fue de 26.1% para el tratamiento de nanche, 13.2% para el de guayaba y 8.7% para ciruela (Cuadro 3).

CUADRO 2. Rendimiento en los extractos vegetales concentrados

Especie vegetal (50g) de polvo	Rendimiento de los extractos (%)	
	Metanólicos	Hexánicos
Guayaba	16.8	2.6
Framboyán	16.0	3.2
Zopilote	14.4	3.4
Guaje	14.0	1
Aguacate	12.2	3
Guamúchil	10.6	2.4
Chicalote	10.2	1.6
Guazuma	9.4	1.8
Zompantle	9.0	3.2
Nanche	8.2	1.2
Cazahuate	8.6	2.8
Ilama	7.4	2.2
Ciruela	6.8	1.2
Albahaca	4.8	2.2
Epazote	4.8	1

Debido al efecto de estimulación en la mayoría de los polvos, el análisis de varianza (ANOVA) se realizó con los datos obtenidos al día 10, incluyendo únicamente al control y los tratamientos en donde se observó inhibición micelial (nanche, guayaba y ciruela). Existieron diferencias estadísticas entre los tratamientos (Cuadro 3).

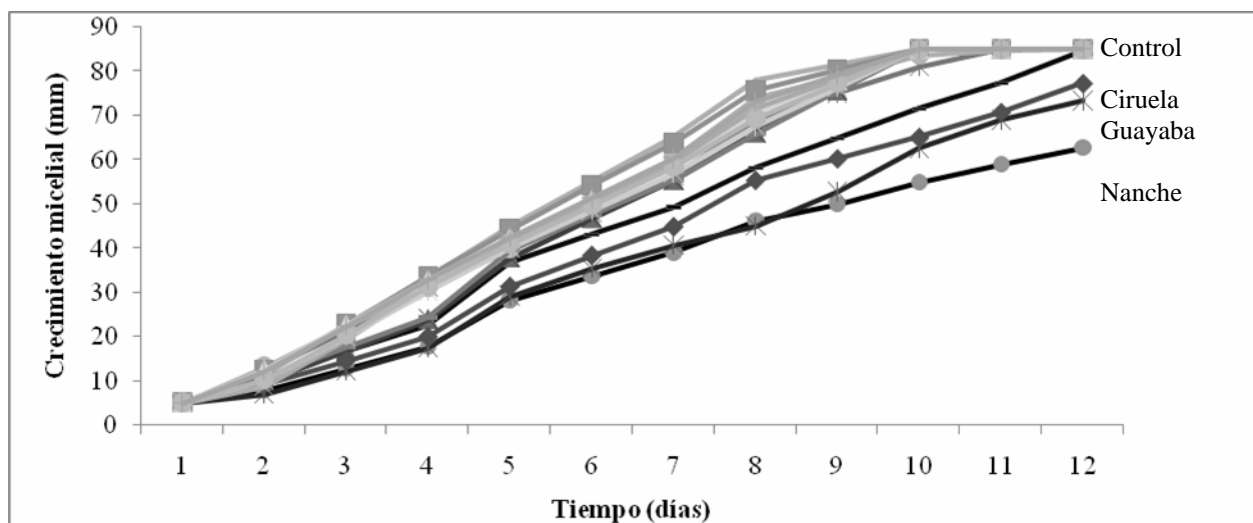


Figura 1. Dinámica de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* con los diferentes polvos vegetales. n = 6. No se muestran valores de dispersión debido a lo aglomerado de la gráfica.

CUADRO 3. Tasas de crecimiento (TC) y crecimiento micelial (mm) de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* con la aplicación de polvos vegetales.

Plantas evaluadas	Tasas de crecimiento			Crec. micelial (mm)
	$y = bx + a$	F	r	
Nanche	$5.6x + 3.895$	3562.427	0.990	62.7 c
Guayaba	$6.6x + 1.099$	3606.545	0.990	73.6 b
Ciruela	$6.9x + 2.893$	2104.641	0.989	77.4 b
Control	$7.5x + 3.984$	9261.431	0.996	85 a
Albahaca	$7.9x + 7.181$	1991.615	0.983	85
Guazuma	$8.0x + 9.551$	1765.807	0.981	85
Cazahuate	$8.0x + 8.374$	2078.070	0.984	85
Epazote	$8.1x + 8.040$	1159.254	0.971	85
Framboyan	$8.1x + 9.545$	1402.096	0.976	85
Zompantle	$8.1x + 8.406$	1838.709	0.981	85
Chicalote	$8.1x + 9.658$	1148.901	0.971	85
Aguacate	$8.1x + 6.674$	2422.132	0.986	85
Guamúchil	$8.1x + 6.025$	2707.414	0.987	85
Zopilote	$8.2x + 4.397$	2842.206	0.988	85
Ilama	$8.3x + 6.327$	1824.114	0.981	85
Guaje	$8.3x + 3.506$	2721.389	0.987	85

Regresión lineal: gl:71 P <0.001. TC representada por la pendiente (b) en la ecuación de la recta.

Crecimiento micelial obtenido de la media de 6 repeticiones en el día 12.

ANOVA simple aplicada a los datos del día 10: F: 23.660; gl: 3, 20; P<0.001.

Medias con la misma letra dentro de la misma columna, no son diferentes (LSD, P <0.05).

En los extractos acuosos se observó que el promedio de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* fue menor en cinco tratamientos (36.4 a 62.5mm) y que la mayoría de los tratamientos tienen un promedio de crecimiento parecido al control (Figura 2). No existió una gran diferencia numérica entre las tasas de crecimiento de los diferentes tratamientos. Los valores de las tasas de crecimiento en los extractos acuoso de guaje, guazuma, chicalote, albahaca y nanche fueron de 2 a 4 mm/día, considerándose estos valores como los más bajos. En los demás tratamientos, las tasas de crecimiento estuvieron entre 5 y 6.8 mm, incluyendo el control. La velocidad de crecimiento del hongo en el extracto acuoso de epazote fue mayor en comparación a los demás tratamientos e incluso, al control (Cuadro 4). El análisis de varianza (ANOVA) determinó diferencias estadísticas entre los 13 tratamientos incluidos. Cinco de ellos son significativamente diferentes al control, los otros seis no difieren estadísticamente. El porcentaje de inhibición obtenido en estos cinco tratamientos es de un 26 a 57% (Cuadro 4).

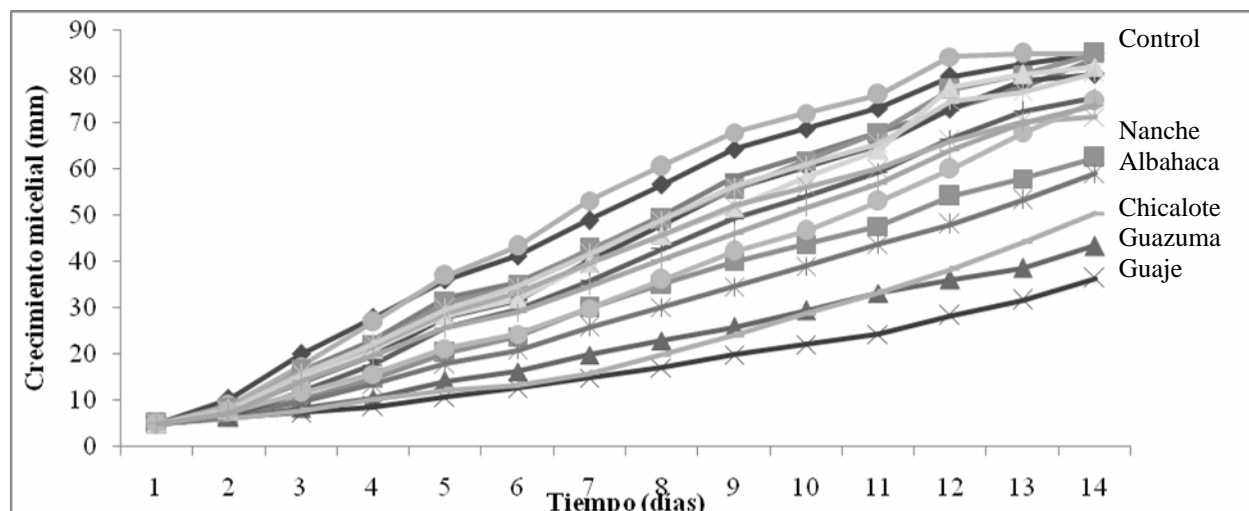


Figura 2. Dinámica de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* con los diferentes extractos acuosos. n = 6. No se muestran valores de dispersión debido a lo aglomerado de la gráfica.

CUADRO 4. Tasas de crecimiento (TC) y porcentaje de inhibición micelial de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* con la aplicación de extractos acuosos.

Plantas evaluadas	Tasa de crecimiento			Crec. Micelial (mm)	Inhibición %
	y= bx+ a	F	r		
Guaje	2.4x + 2.357	167.150	0.819	36.4 e	57.2
Guazuma	3.0x + 2.611	277.457	0.879	43.4 e	48.9
Chicalote	3.4x + -0.249	88.750	0.752♦	50.4 de	40.7
Albahaca	4.2x + 1.664	373.385	0.906	59.0 cd	30.6
Nanche	4.6x + 2.290	1979.762	0.980	62.5 bcd	26.5
Ilama	5.4x + 5.805	172.540	0.823	71.3 abc	16.1
Zompantle	5.5x + 3.015	362.917	0.903	73.8 ab	13.2
Aguacate	5.4x + 0.440	1363.051	0.971	74.7 ab	12.1
Guayaba	5.8x + 1.860	8743.079	0.995	75.4 ab	11.3
Guamúchil	6.2x + 4.296	594.841	0.937	80.8 a	4.9
Zopilote	6.3x + 4.444	2308.647	0.983	83.8 a	1.5
Ciruela	6.3x + 2.564	1897.646	0.979	80.5 a	5.3
Cazahuate	6.3x + 2.348	1126.591	0.965	82.1	3.4
Framboyan	6.4x + 3.662	2850.256	0.986	85.0	0.0
Control	6.5x + 8.080	5040.103	0.992	85 a	--
Epazote	6.8x + 7.646	1687.369	0.977	85.0	0.0

Regresión lineal: gl:71 ♦gl:69 P <0.001. TC. representada por la pendiente (b) en la ecuación de la recta.

Crecimiento micelial obtenido de la media de 6 repeticiones en el día 14.

ANOVA simple aplicada a los datos del día 14: F: 9.501 gl: 12,64 P<0.001.

Medias con la misma letra dentro de la misma columna, no son diferentes (LSD, P <0.05).

En todos los tratamientos de extractos metanólicos *F. oxysporum* f sp. *gladioli* tuvo un promedio de crecimiento menor (47.8 a 16.5 mm) al del control (50mm )(Figura 3 y Cuadro 5). Los valores de las tasa de crecimiento variaron de 1.7 a 6.8 mm, esta última correspondiente al tratamiento control, es decir, la diferencia entre la tasa del control y del tratamiento con la menor tasa es de 5.1 mm/día.

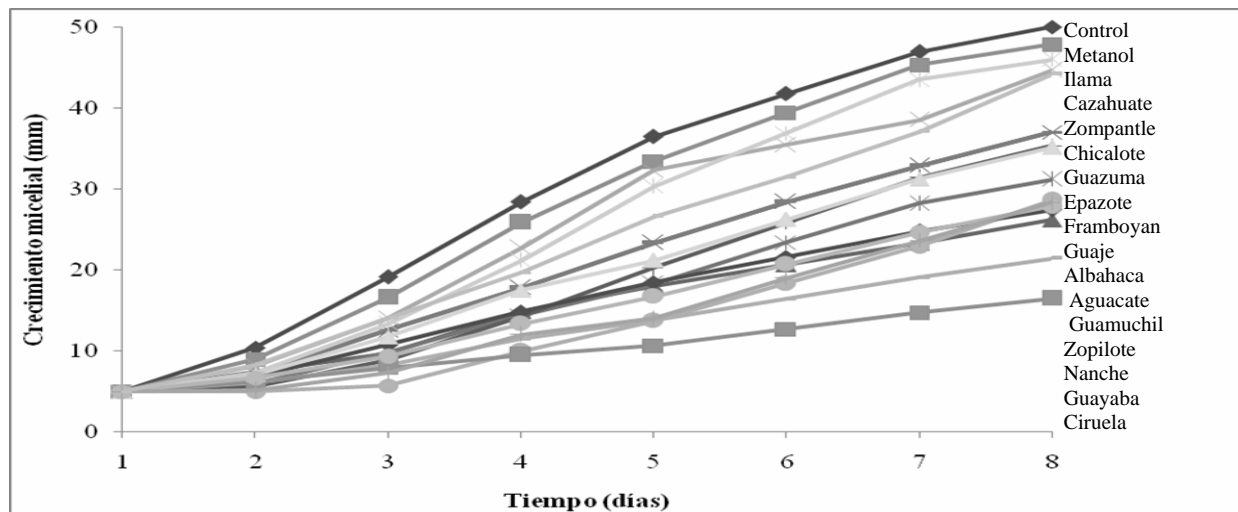


Figura 3. Dinámica de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* con los diferentes extractos metanólicos. n = 6. No se muestran valores de dispersión debido a lo aglomerado de la gráfica.

En los extractos de ciruela, guayaba, nanche, zopilote, guamúchil, aguacate y albahaca se reportaron tasas entre 1.7 y 3.5 mm. Los demás tratamientos presentaron tasas entre 4 y 5 mm día y únicamente el cazahuate, la ilama, el metanol y el tratamiento control manifestaron una tasa de 6.0 a 6.8 mm. Estos fueron estadísticamente diferentes al control, logrando una inhibición del crecimiento micelial de 10 a un 67 % (Cuadro 5). El control con metanol inhibió en un 4.3 % el crecimiento del *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*, sin embargo no fue una diferencia significativa. Todas las especies vegetales aplicadas en forma de extracto metanólico tuvieron algún efecto, a diferencia de los demás extractos y polvos.



CUADRO 5. Tasas de crecimiento (TC) y porcentaje de inhibición micelial de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* con la aplicación de extractos metanólicos.

Plantas evaluadas	Tasa de crecimiento			Crec. Micelial (mm)	Inhibición %
	$y= bx+ a$	F	r		
Ciruela	$1.7x + 2.974$	984.425	0.977	16.5 i	67.0
Guayaba	$2.5x + 1.643$	391.405	0.946	21.4 h	57.2
Nanche	$3.1x + 1.532$	1104.323	0.980	26.2 g	47.7
Zopilote	$3.4x + 1.067$	3397.193	0.993	27.4 fg	45.2
Guamuchil	$3.4x + 0.158$	2066.101	0.989	27.8 fg	44.3
Aguacate	$3.5x + -1.364$	545.187	0.960	28.3 fg	43.3
Albahaca	$3.5x + -2.237$	508.778	0.958	28.7 ef	42.7
Guaje	$4.0x + -1.118$	1832.961	0.990♦	31.2 e	37.6
Framboyan	$4.5x + -0.907$	1590.711	0.986	35.2 d	29.7
Epazote	$4.7x + -2.990$	927.286	0.976	35.3 d	29.3
Guazuma	$4.8x + -1.200$	4684.862	0.995	37.0 d	26.0
Chicalote	$4.8x + -1.200$	4684.862	0.995	37.0 d	26.0
Zompantele	$5.7x + -2.280$	1464.976	0.985	44.2 c	11.7
Cazahuate	$6.0x + -1.877$	985.598	0.977	44.7 c	10.7
Ilama	$6.5x + -3.904$	1804.736	0.987	46.0 bc	8.0
Metanol	$6.6x + -2.076$	1968.482	0.989	47.8 ab	4.3
Control	$6.8x + -0.960$	2071.671	0.989	50.0 a	--

Regresión lineal: gl: 47 ♦gl:39  $P < 0.001$ . TC. representada por la pendiente (b) en la ecuación de la recta. Crecimiento micelial obtenido de la media de 6 repeticiones en el día 8.

ANOVA simple aplicada a los datos del día 8. F: 118.882 gl: 16,84  $P < 0.001$ .

Medias con la misma letra dentro de la misma columna, no son diferentes (LSD,  $P < 0.05$ ).

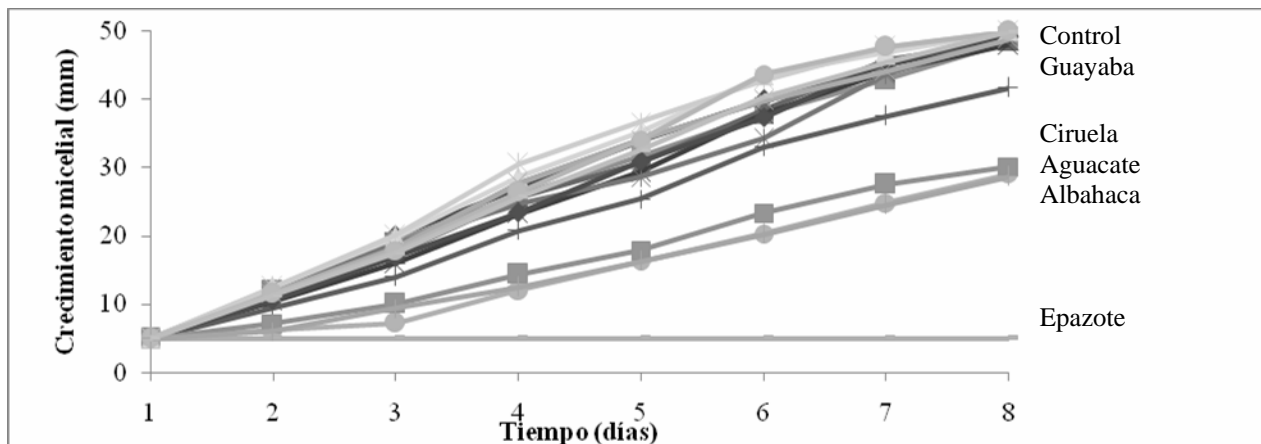


Figura 4. Dinámica de crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* con los diferentes extractos hexánicos. n = 6. No se muestran valores de dispersión debido a lo aglomerado de la gráfica.

Diez de los 15 extractos hexánicos evaluados tuvieron un crecimiento similar al control y solo los tratamientos de albahaca, aguacate, ciruela y guayaba tuvieron un menor promedio (29.8, 29.1, 30 y 41.7 mm, respectivamente). Destacó el extracto hexánico de epazote, el cual no permitió el crecimiento del *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* (Figura 4 y Cuadro 6). Al transferir el inóculo colocado en este tratamiento a PDA, se comprobó el efecto fungicida al no existir crecimiento micelial.

CUADRO 6. Tasas de crecimiento (TC) y porcentaje de inhibición micelial de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* con la aplicación de extractos hexánicos.

Plantas evaluadas	Tasa de crecimiento			Crec. micelial (mm)	Inhibición %
	y= bx+ a	F	r		
Epazote	----	---	---	0	100
Aguacate	3.4x + -0.0429	244.415	0.917	29.8	39.1
Albahaca	3.6x + -1.243	482.801	0.956	29.1	40.6
Ciruela	3.8x + -0.249	2388.366	0.991	30	38.8
Guayaba	5.5x + -1.229	4642.269	0.995	41.7	15
Hexano	6.2x + 0.115	9503.319	0.998	49	0
Guaje	6.2x + -0.804	2786.439	0.993 ♦	49	0
Cazahuate	6.4x + -0.255	2605.651	0.991	49	0
Chicalote	6.4x + -0.255	2605.651	0.991	49	0
Guazuma	6.4x + -2.259	3233.284	0.994	49	0
Control	6.5x + -0.0214	4556.314	0.995	49	---
Nanche	6.5x + -1.515	2067.076	0.989	50	0
Zopilote	6.6x + -2.246	6899.441	0.997	50	0
Zompantele	6.7x + -1.537	6482.967	0.996	50	0
Framboyán	6.7x + -0.0464	1929.588	0.988	50	0
Ilama	6.7x + 0.406	1686.236	0.987	50	0
Guamúchil	6.9x + -1.592	1669.775	0.987	50	0

Regresión lineal: gl: 47 ♦ gl: 39 P<0.001. TC. representada por la pendiente (b) en la ecuación de la recta.

Crecimiento micelial obtenido de la media de 6 repeticiones en el día 8.

ANOVA simple aplicada a los datos del día 8. F: 266.421 gl:5,28 P<0.001.

Medias con la misma letra dentro de la misma columna, no son diferentes (LSD, P <0.05).

Con respecto a las tasas de crecimiento, se obtuvieron valores entre 3 y 6.9 mm/día. Los tratamientos con tasas de 3 y 5 mm, así como el de epazote con una tasa cero, difieren estadísticamente del control. Estos tratamientos son aguacate, albahaca, ciruela y guayaba e inhiben el crecimiento micelial entre el 100 y 38.8 % (Cuadro 6).

### Porcentaje de germinación de conidios

Los tratamientos en donde se obtiene un porcentaje de germinación menor al 77% (excepto, el extracto metanólico de ilama) son estadísticamente diferentes al control. Esto se aplica tanto a los polvos como en los extractos acuosos, metanólicos y hexánicos, en donde 7, 7, 4 y 8 especies, respectivamente tuvieron un efecto significativo.

Los polvos vegetales, así como los extractos hexánicos se caracterizaron por presentar los valores más bajos de germinación, sobresaliendo los polvos de nanche y zopilote, así como en los extractos hexánicos de epazote y guazuma, con porcentajes que van del 0 al 34.4 %. A pesar de que en los extractos acuosos y metanólicos existió diferencias significativas entre los tratamientos y el control, el porcentaje de germinación fue más alto (52 y 62.4 %) en comparación a los polvos y los hexánicos (Cuadro 7).

CUADRO 7. Porcentaje de germinación de conidios de en los tratamientos de polvos y extractos aplicados a *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*

Polvos vegetales		Extractos					
		Acuosos		Metanólicos		Hexánicos	
Especie	%	Especie	%	Especie	%	Especie	%
Nanche	27.8e	Zopilote	52.0g	Guazuma	62.4g	Epazote	0.0h
Zopilote	32.2e	Framboyan	59.6f	Zopilote	64.5g	Guazuma	34.4
Chicalote	63.3d	Guamúchil	60.1f	Nanche	65.9g	Framboyan	57.8 g
Cazahuate	67.8d	Ciruela	60.6f	Chicalote	68.5ef	Cazahuate	65.2 f
Guamúchil	72.3cd	Epazote	68.9e	Ciruela	77.3ef	Ciruela	70.4 ef
Aguacate	72.6cd	Guazuma	73.8de	Framboyan	78.6de	Guaje	70.8 ef
Framboyan	72.9cd	Nanche	76.6de	Guayaba	84.6de	Ilama	73.3 e
Zompantle	82.3bc	Guaje	77.2cd	Zompantle	85.1cd	Guamúchil	75.7 e
Guazuma	86.6ab	Ilama	80.0cd	Disolvente	87.6cd	Zopilote	82.8 d
Guaje	86.8ab	Aguacate	84.1ab	Control	90.2bcd	Guayaba	85.6 cd
Albahaca	87.4ab	Guayaba	84.4ab	Albahaca	92.2abc	Chicalote	85.9 cd
Ciruela	89.3ab	Chicalote	89.3a	Epazote	94.7ab	Control	86.8 cd
Epazote o	90.4ab	Albahaca	91.7a	Guamúchil	95.4ab	Disolvente	89.1 bcd
Control	90.7ab	Control	93.9a	Aguacate	96.9a	Zompantle	90.4 abc
Guayaba	90.7ab	Zompantle	94.6	Ilama	97.1a	Aguacate	91.2 abc
Ilama	99.6a	Cazahuate	96.7	Guaje	97.2a	Nanche	94.8ab
				Cazahuate	97.2a	Albahaca	96.9a
♦F: 18.908 gl: 15,80 P <0.001		♦F: 21.342 gl: 13,69 P <0.001		♦F: 27.374 gl: 16,82 P <0.001		♦F: 22.037 gl:14,74 P <0.001	

% de germinación obtenido de la media de 6 repeticiones en un total de 300 conidios.

♦ ANOVA simple comparación de medias (LSD, P <0.05).

Medias con la misma letra dentro de la misma columna, no son diferentes (LSD, P <0.05).

## DISCUSIÓN

El bajo porcentaje de **rendimiento** en los extractos hexánicos, concuerda con lo reportado por Guerrero-Rodriguez *et al.* (2007), quienes obtuvieron menor rendimiento en el extracto hexánico de *F. cernua*, que en el de metanol:cloroformo. Es importante considerar lo anterior, ya que podría ser una limitante, al requerir mayor cantidad de material. A pesar de tener un importante efecto antifúngico, como sucede con el extracto hexánico de epazote.

La estimulación del **crecimiento micelial** de los **polvos** e incluso de los extractos se ha reportado en trabajos anteriores como el de Montes y García (1997). Por otro lado, Barrera-Necha y Bautista-Baños (2008) reportaron que los polvos de *C. nocturnum* tuvieron mayor efecto para inhibir el crecimiento micelial de *R. stolonifer* a concentraciones menores que las utilizadas con los extractos metanólicos.

Comparando los resultados de los extractos **acuoso** con los **metanólicos**, se puede observar que tanto el porcentaje de inhibición micelial, así como el número de especies que presentaron actividad, fue mayor en los metanólicos que en los acuosos. Alanís *et al.* (2005) consideran que los extractos metanólicos tienen mayor actividad que los acuosos y por su parte, Bhattacharjee *et al.* (2006) mencionan que el metanol tiene una fuerte capacidad de extracción en comparación a los extractos acuosos.

Por otro lado, el mayor porcentaje de inhibición micelial en los extractos **hexánicos** fue menor a los reportados con los disolventes polares, sin embargo, el extracto de **epazote** (*C. ambrosioides*) sobresale como el único con efecto fungicida para *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*. Barrera-Necha *et al.* (2008) reportaron una inhibición dependiente de la dosis de los aceites esenciales de esta especie sobre *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* con los aceites esenciales de esta especie. Por su parte, Bravo-Luna *et al.* (1998) reportan la inhibición del crecimiento micelial de *F. moniliforme*, con aceites esenciales de *C. ambrosioides* a dosis de 500 a 10000 ppm, mientras que el de albahaca (*O. basilicum*) lo inhibió a dosis de 5000 a 10000 ppm. El extracto hexánico de albahaca inhibió el crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* en un 40%, resultado que contrasta con el reportado por Adigüzel *et al.* (2005) quienes no obtuvieron actividad antifúngica con extractos metanólicos, hexánicos y etanólicos de albahaca sobre los hongos estudiados, incluyendo *F. oxysporum*.

Sin embargo, existen diversos trabajos que reportan una fuerte actividad contra *C. cassicola* (afectando el crecimiento y la germinación conidial) (Ogbebor y Adekunle, 2005) *B. fabae* (Oxenham *et al.*, 2005), *S. rolfsii* y *T. basicola* (de Marcano *et al.*, 2005), *C. musae* y *F. proliferatum* (Anthony *et al.*, 2004). También se ha reportado la actividad antimicrobiana (Velázquez *et al.*, 2006), antiparasítica (de Almeida *et al.*, 2007) y larvicida (Pavela, 2008) de la albahaca.

Si bien es cierto que la inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum* f sp. *gladioli* con los polvos fue baja en comparación a los extractos y que en la mayoría de los tratamientos se observó una estimulación, es importante subrayar que el menor porcentaje de **germinación** reportado en este trabajo se obtuvo con los polvos de nanche y zopilote. La actividad antifúngica de estas dos especies ha sido poco estudiada.

Se ha reportado que el **nanche** (*Byrsonima crassifolia*), tiene actividad antimicrobiana contra *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *E. coli* y *S. typhi* (García *et al.*, 2004; Martínez-Vázquez *et al.*, 1999; Navarro *et al.*, 1996), mientras que Berger *et al.* (1998) reportaron actividad sobre *T. cruzi* utilizando extractos hexánicos y etanólicos.

Angulo-Escalante *et al.* (2008) reportaron que los extractos metanólicos de semillas de **zopilote** (*Swietenia humilis*), inhibe el crecimiento micelial de *R. stolonifer*. Además, de evitar la formación de esporas como consecuencia de la disminución en el tamaño de los esporangios y que al aplicarlos a una concentración del 5% se forman zigosporas. Por otra parte, Segura-Correa y Mata (1993) evaluaron el efecto de dos tetranortriterpenoides aislados de las semillas de zopilote, observando moderada inhibición en el crecimiento y alimentación del primer instar larval de *Tenebrio molitor*.

Con respecto al efecto de los extractos sobre la germinación, son los extractos acuosos quienes tienen mayor efecto en comparación a los metanólicos (contrario a lo que ocurre en el crecimiento), indicando que el efecto de algunas especies varía en función de la estructura o etapa de desarrollo del hongo. Montes-Belmont y Prados-Ligero (2006) observaron que algunos extractos afectaron el crecimiento micelial de *S. cepivorum*, mientras que otros, afectaron la formación de esclerocios, proponiendo como explicación, que “los principios activos pueden ser diferentes para cada extracto

## CONCLUSIONES PRELIMINARES

El crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* fue estimulado por el 80% de las especies evaluadas como polvos, a diferencia de los extractos metanólicos en donde la mayoría de las especies tuvieron actividad. Los extractos metanólicos de ciruela y guayaba, así como el extracto acuoso de guaje inhibieron el crecimiento en más del 50%. De todos los polvos y extractos evaluados, el extracto hexánico de epazote fue el único con actividad fungicida para *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*, mientras que los demás tuvieron solo un efecto fungistático.

Con respecto a la germinación, esta etapa del hongo resultó menos afectada por los diferentes polvos y extractos a diferencia del crecimiento, obteniéndose el menor porcentaje de germinación con los polvos vegetales de nanche y zopilote y los extractos hexánicos de epazote y guazuma.

Las especies que mostraron una nula o menor actividad antifúngica sobre *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*, aplicados en forma de polvos o extractos fueron el zompante, la ilama y el cazahuate.

La actividad antifúngica está influida por la planta y el disolvente empleado.

## LITERATURA CITADA

- ANTHONY S.; ABEYWICKRAMA K.; DAYANANDA R.; WIJERATNAM S., W. 2004. Fungal pathogens associated with banana fruit in Sr. Lanka and their treatment with essential oils. *Mycopathology*. 157: 91-97
- ADIGÜZEL A.; GÜLLÜCE M.; SENGÜL M.; ÖGÜTCÜ H.; SAHIN F.; KARAMAN I. 2005. Antimicrobial effects of *Ocimum basilicum* (Labiatae) extract. *Turk Journal Biology*. 29:155-160
- ALANÍS A., D.; CALZADA F.; CERVANTES J., A; TORRES J.; CEBALLOS G., M. 2005 antibacterial properties of some plants used in mexican tradicional medicine for he treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology*. 100: 153-157
- ANGULO-ESCALANTE M., A.; ARMENTA-REYES E.; GARCÍA-ESTRADA E.; CARRILLO-FASIO J., A.; SALAZAR-VILLA E. 2008. Extractos de semilla de *Swietenia humilis* con Actividad antifúngica en *Rhizopus stolonifer*. *Revista Mexicana de Fitopatología*. En prensa
- BARNETT H., L.; HUNTER B., B. 1999. Illustrated genera of important fungi. 4a edición. The American Phytopathological Society. Sant Paul, Minnesota. p 218

- BARRERA-NECHA L., L.; BAUTISTA-BAÑOS S. 2008. Actividad antifúngica de polvos, extractos y fracciones de *Cestrum Nocturnum* L. sobre el crecimiento micelial de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. Revista Mexicana de Fitopatología. 26(1): 27-31
- BARRERA-NECHA L., L.; GARDUÑO-PIZAÑA C.; GARCÍA-BARRERA L., J. 2008. *In vitro* antifungal activity of essential oils and their compounds on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* (Massey) Snyder & Hansen. Plant Pathology Journal. En prensa
- BERGER I.; BARRIENTOS A., C.; CÁCERES A.; HERNANDEZ M.; RASTRELLI L.; MARTÍN P., C.; KUBELKA W. 1998. Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections. II Activity of extracts and fractions of five Guatemala plants against *Trypanosoma cruzi*. Journal of Ethnopharmacology. 62: 107-115
- BHATTACHARJEE I.; KUMAR C., S.; CHATTERJEE S.; CHANDRA G. 2006. Antibacterial potentiality of *Argemone mexicana* solvent extracts against some pathogenic bacteria. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro. 101 (6): 645-648
- BRAVO-LUNA L.; BERMÚDEZ-TORRES K.; MONTES-BELMONT R.; 1998. Inhibición del crecimiento micelial y esporulación de *Fusarium moniliforme* Sheld. mediante aceites esenciales vegetales y algunos de sus componentes químicos. Revista Mexicana de Fitopatología. 16(1): 18-23
- CESVMOR 2005. Manual técnico fitosanitario del cultivo del gladiolo. Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de Morelos S. A. SAGARPA, Servicio Nacional de Inocuidad, Calidad Agroalimentaria y Gobierno del estado de Morelos. pp 2-3
- DE ALMEIDA I.; SALES A., D.; PEREIRA V., D.; BARRETO A., P.; FITZGERALD B., A.; HAMPSHIRE C., S.; LÓPEZ A.; SALES A., C.; ROSA M., S. S. 2007. Antigiardial activity of *Ocimum basilicum* essential oil. Parasitol Res. 101: 443-452
- DE HAAN L., A.; NUMANSEN A., M.; ROEBROECK E., J. A.; DOORN J., V. 2000. PCR detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* race 1, causal agent of gladiolus yellows disease from infected corms. Plant Pathology. 49:89-100
- DE MARCANO A.; VARGAS N.; PIRE A. 2005. Efectos de extractos vegetales y fungicidas sintéticos sobre el crecimiento micelial *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* y *Thelaviopsis basicola*. Revista Facultad Agronomía. 22 (4): 315-324
- GARCÉS DE G., E.; OROZCO DE A., M.; BAUTISTA G., R. 2001. *Fusarium oxysporum* el hongo que nos falta conocer. Acta Biológica Colombiana. 6 (1):7-25
- GARCÍA M., R.; PÉREZ P., R.; RODRÍGUEZ H., C.; SOTO H., M. 2004. Toxicidad de alcaloides de *Eritryna americana* en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus*. Revista Fitotecnia Mexicana. 27 (004): 297-303

- GUERRERO-RODRÍGUEZ E.; SOLÍS-GAONA S.; HERNANDEZ-CASTILLO F., D.; FLORES-OLIVAS A.; SANDOVAL-LÓPEZ V. 2007. Actividad biológica *in vitro* de extractos de *Flouencia cernua* D.C. en patógenos postcosecha: *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl., *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz y Sacc y *Penicillium digitatum* (Pers.: Fr.) Sacc. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 25(1): 48:53
- KISTLER H., C. 1997. Genetic diversity in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*. 84(4): 474-479
- MAGIE R., O.; WILFRET G., J. 1974. Tolerance of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* to benzimidazole fungicides. *Plant Disease*. 58:256-259
- MARTÍNEZ-VÁZQUEZ M.; GONZÁLEZ-ESQUINCA A., R.; CAZARES L., L.; MORENO G., M. N.; GRACÍA-ARGAEZ A., N. 1999. Antimicrobial activity of *Byrsonima crassifolia* (L.) H. B. K. *Journal of Ethnopharmacology*. 66: 79-82
- MONTES-BELMONT R.; PRADOS-LIGERO A., M. 2006. Influence of plant extracts on *Sclerotium cepivorum* development. *Plant Pathology Journal*. 5 (3): 373-377
- MONTES B., R.; GARCÍA L., R. 1997. Efecto de extractos vegetales sobre la germinación de esporas y en los niveles de daño de *Alternaria solani* en tomate. *Fitopatología*. 32:52-57
- MONTES-BELMONT R. 1996. Productos naturales de origen vegetal para el combate de fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 14(1):9-14
- NAVARRO V.; VILLAREAL M., L.; ROJAS G.; LOZOYA X. 1996. Antimicrobial evaluation of some plants used in mexican tradicional medicine. *Ethnopharmacology*. 53: 143-147
- OGBEBOR N.; ADEKUNLE A., T. 2005. Inhibition of conidial germination and mycelial growth of *Corynespora cassicola* (Berk and Curt) of rubber (*Hevea brasiliensis* muell Arg) using extract of some plant. *African Journal of Biotechnology*. 4(9): 996-1000
- OXENHAM S., K.; SVOBODA K., P.; WALTERS D., R. 2005. Antifungal activity of the essential oil of Basil (*Ocimum basilicum*). *Journal Phytopathology*. 153: 174-180
- PAVELA R. 2008. Larvicidal effects of various Euro-Asiatic plants against *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culiadae). *Parasitor Res*. 102:555-589
- RAM R.; MANUJA S.; DHYANI D.; MUKHERJEE D. 2004. Evaluations of fortified fungicide solutions in managing corm rot disease of gladiolus caused by *Fusarium oxysporum*. *Crop Protection*, 23:783-788
- SEGURA-CORREA R.; MATA R. 1993. New tetranortriterpenoids from *Swietenia humilis*. *Journal of Natural Products*. 56(9): 1567-1574



- SHARMA N.; TRIPATHI A. 2007. Integrated management of postharvest *Fusarium* rot of gladiolus corms using hot water U.V-C and *Hyptis suaveolens* (L). Poit. essential oil. Postharvest Biology and Technology. 47(2):246-254
- SHAKIR A., S.; HAG E.; AYUB M. 1998. Studies on pathogenecity and eradication of some fungal disease of gladiolus in Pakistan. Pakistan Journal of Biological Sciences. 1 (1): 23-26
- STAUFFER B., A.; ORREGO F., A.; AQUINO J., A. 2000. Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y/o bactericida. Revista de Ciencia y Tecnología. 1(2): 29-33
- SUÁREZ- JIMÉNEZ G., M.; CORTEZ- ROCHA M., O.; ROSAS-BURGOS E., C.; BURGOS-HERNÁNDEZ A.; PLASCENCIA-JATOMEA M.; CINCO-MOROYOQUI F., J. 2007. Antifungal activity of plant methanolic extracts against *Fusarium verticillioides* (Sacc) Nirenb and Fumonisin B1 production. Revista Mexicana de Fitopatología. 25(2): 134-142
- TEQUIDA-MENESES M.; CORTEZ-ROCHA M.; ROSAS-BURGOS E., C.; CORRALES-MALDONADO C. 2002. Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. Revista Iberoamericana Micología. 19: 84-88.
- TOLEDO V., M. 1994. La diversidad biológica de México. Nuevos retos para la investigación en los noventa. Ciencias. 34:43-59
- VELÁZQUEZ C.; CALZADA F.; TORRES J.; GONZÁLEZ F.; CEBALLOS G. 2006. Antisecretory activity of plants used to treat gastrointestinal disorders in México. Journal of Ethnopharmacology. 103: 66-77