

# Potencial efecto fungicida de extractos vegetales en el desarrollo *in vitro* del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. y de la antracnosis en frutos de mango

## Potential fungicidal effect of plant extracts on *in vitro* development of *Colletotrichum gloeosporioides* and on anthracnose of mango

Karina BOLÍVAR<sup>1</sup>, María Elena SANABRIA<sup>1</sup>, Dorian RODRÍGUEZ <sup>1</sup>, María de CAMACARO<sup>2</sup>, Dilcia ULACIO<sup>1</sup>, Luís J. CUMANA<sup>3</sup> y Oscar CRESCENTE<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Programa de Fitopatología y <sup>2</sup>Programa de Horticultura, Postgrados de Agronomía. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado", Cabudare, estado Lara, Venezuela y <sup>3</sup>Universidad de Oriente. Núcleo de Sucre. Escuela de Ciencias. Cumaná, estado Sucre, Venezuela. E-mails: mesanabria@ucla.edu.ve, rdorian@ucla.edu.ve y dulacio@ucla.edu.ve.  Autor para correspondencia

Recibido: 10/06/2008      Fin de primer arbitraje: 19/02/2009      Primera revisión recibida: 08/05/2009  
Fin de segundo arbitraje: 29/05/2009      Segunda revisión recibida: 03/06/2009      Aceptado: 03/06/2009

### RESUMEN

Se determinó el efecto de la aplicación de los extractos etanólicos (EE) de hojas de *Azadirachta indica* ('nim'); *Phyllanthus niruri* ('flor escondida'); *Calotropis procera* ('algodón de seda'); *Lippia origanoides* ('orégano silvestre'); *Gliricidia sepium* ('mata ratón') y *Heliotropium indicum* ('rabo de alacrán'), colectadas en el estado Lara, Venezuela, en el control de la antracnosis ocasionada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* en frutos de mango (*Mangifera indica*). El extracto se obtuvo por presión reducida y se determinaron los grupos de metabolitos secundarios (MS) presentes en ellos. El patógeno se hizo crecer en el medio nutritivo PDA. La determinación del efecto de los EE a una concentración de 2,5% se hizo bajo tres métodos de aplicación *in vitro*. Frutos de mango fisiológicamente maduros fueron tratados con los extractos al 2,5 % y luego inoculados con el hongo. Se encontró que las plantas diferían en los grupos de MS. El EE del *L. origanoides* y *H. indicum*, homogenizados en el medio, ocasionaron la mayor disminución del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides*. Los EE de *L. origanoides* y *G. sepium* fueron los mejores tratamientos de postcosecha, ya que indujeron el 37 y 33 % menos de la enfermedad en los frutos de mango, respectivamente. Los resultados indican el potencial de los extractos para el manejo de la antracnosis del mango en postcosecha.

**Palabras clave:** Postcosecha, metabolitos secundarios, *Mangifera indica* L.

### ABSTRACT

The effect of applying ethanolic extracts (EE) of leaves of *Azadirachta indica* ('nim'); *Phyllanthus niruri* ('flor escondida'); *Calotropis procera* ('algodón de seda'); *Lippia origanoides* ('orégano silvestre'); *Gliricidia sepium* ('mata ratón') and *Heliotropium indicum* ('rabo de alacrán') collected in the state of Lara, Venezuela, on the control of mango anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* was evaluated. The plant extract was obtained by reduced pressure and the secondary metabolites (MS) were determined. The microorganism was grown on PDA media. The effect of the EE at 2.5 % concentration was evaluated following three methods of application. Mango fruits at the adequate ripening stage were treated with the concentration of 2.5 % and then inoculated with the fungus. Differences were found in the plants extracts with regard to the MS present. *L. origanoides* and *H. indicum* EE, homogenized in the medium caused the highest inhibition of *C. gloeosporioides* mycelium. The EE of *L. origanoides* and *G. sepium* were the best postharvest treatment since they induced 37 and 33 % less disease in mango fruits. Results indicate the potential of plant extracts to handle mango anthracnose in postharvest.

**Key words:** Postharvest, secondary metabolites, *Mangifera indica* L.

### INTRODUCCION

Los plaguicidas sintéticos han generado beneficios en la producción agrícola; sin embargo el empleo inadecuado de los mismos, expresado en términos de tipo, toxicidad, número de aplicaciones y

dosificación han producido contaminaciones que afectan al suelo, agua, aire y productos agrícolas, por la acumulación de residuos potencialmente dañinos a la salud humana y de los animales (Dinham y Malik, 2003). El interés por el uso de los extractos vegetales (EV) con este fin se ha incrementado

considerablemente, con prometedores resultados de investigaciones *in vitro* e *in vivo*, con especies de plantas de diferentes ambientes ecológicos y abundantes en la naturaleza (Satufer *et al.*, 2000; Rodríguez y Montilla, 2002; Zapata *et al.*, 2003; Araujo *et al.*, 2008; Rodríguez y Sanabria, 2005; Henriques *et al.*, 2005).

Las enfermedades más comunes en frutas y hortalizas después de la cosecha, son las mayores causas de pérdidas de los productos en comercios, restaurantes y hogares. Los daños son de tipo fisiológico y patológico; en el caso de infecciones ocasionadas por hongos, se recurre a cuidadosas prácticas de manejo del cultivo, del producto durante la cosecha y del almacenamiento, con el saneamiento de los sitios de empaque y el uso de envases especiales, pretendiéndose con esto disminuir el desarrollo de microorganismos, lo que generalmente no es suficiente recurriéndose a fungicidas sintéticos, aplicados en baños o por aspersión (Valor y Manzano, 2000; Usall *et al.*, 2003).

La antracnosis es reconocida como una de las enfermedades más importantes en el cultivo del mango (*Mangifera indica* L.) y es ocasionada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. Esta enfermedad se hace evidente por la aparición de manchas oscuras en hojas, flores, pedúnculos y frutos, estos últimos pueden ser infectados en la etapa de desarrollo, mostrando los daños al llegar a la madurez por lo que la alta incidencia de la enfermedad dificulta la comercialización (Arias y Carrizales, 2007). El control de la antracnosis se realiza con la aplicación programada de diversos fungicidas, durante la fase productiva (Avilán *et al.*, 1996) o en los frutos ya cosechados (Arias y Carrizales, 2007). Las restricciones en muchos países exigen la limitación en el uso de estos productos, por razones toxicológicas y ambientales, lo que obliga a realizar investigaciones y a desarrollar métodos de controles alternativos y/o complementarios al uso de agroquímico.

Entre los extractos vegetales que han mostrado efectos en el control de plagas agrícolas están los de *Azadirachta indica* A. Juss., Meliaceae, los cuales son utilizados para el control de artrópodos (Asher *et al.*, 1995). Los EV de *Phyllanthus niruri* L., Euphorbiaceae han demostrado ser efectivos contra *Bipolaris maydis* y *Rhizoctonia solani* en maíz (Rodríguez y Sanabria, 2005), los de *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton, Asclepiadaceae, contra

nemátodos (Perichi *et al.*, 2007), los de *Lippia organoides* Kunth, Verbenaceae, contra *B. maydis*, *R. solani* (Rodríguez y Sanabria, 2005), *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Henriquez *et al.*, 2005) y *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Araujo *et al.*, 2008); los de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp., Fabaceae, contra *Sclerotium rolfsii* (Torrealba, 2006) y los de *Heliotropium indicum* L., Boraginaceae, contra *Mycosphaerella fijiensis* (Hernández *et al.*, 2005). Estas experiencias demuestran la posibilidad de uso de estas plantas para el control de otros patógenos, por lo que se planteó como objetivos de esta investigación a) determinar el efecto de la aplicación de los extractos etanólicos (EE) de hojas de ‘nim’, ‘flor escondida’, ‘algodón de seda’, ‘orégano silvestre’, ‘mata ratón’ y ‘rabo de alacrán’ sobre el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* y la antracnosis ocasionada por este hongo en frutos de mango; b) determinar la presencia de los grupos de metabolitos secundarios en los EE.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Obtención de extractos etanólicos y determinación de los grupos de metabolitos secundarios.

El material vegetal utilizado para la obtención de los EE consistió en hojas aparentemente sanas y plenamente desarrolladas de las plantas seleccionadas, colectadas en diferentes localidades del estado Lara, las cuales se secaron a la sombra y se pulverizaron en una licuadora convencional Oster<sup>MR</sup>. El polvo resultante (250 g) se maceró en etanol 96% (2.500 mL) por 24h; se filtró y se realizó la extracción del crudo a presión reducida en un rotavapor Brinkmann<sup>MR</sup>. El EE se guardó en botellas ámbar a 8°C. La determinación de los grupos de alcaloides, aceites esenciales, flavonoides, saponinas, polifenoles y taninos se realizó siguiendo la metodología de Marcano y Hasegawa (2002).

### 2. Determinación del efecto *in vitro* de los extractos etanólicos sobre el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides*

Se usó la metodología utilizada por Rodríguez y Sanabria (2005). La cepa del hongo *C. gloeosporioides* se obtuvo en el Laboratorio de Micología del Postgrado de Fitopatología de la Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado” (UCLA) y se hizo crecer en papa-dextrosa-agar (PDA). Los EE se diluyeron en agua destilada

esterilizada a una concentración de 2,5% y se establecieron tres métodos de inoculación *in vitro*, utilizando cuatro repeticiones. Los tratamientos y los testigos se prepararon de la manera siguiente: T1: Tres discos de papel absorbente impregnados en el EE correspondiente se colocaron en un costado de un plato Petri conteniendo PDA, en el lado opuesto se ubicó un disco de micelio del hongo de 5 mm de diámetro. T1-0: Igual al anterior pero los papeles se impregnaron en agua destilada estéril. T2: Tres gotas (150 µL) del EE correspondiente se colocaron en un costado de un plato Petri conteniendo el medio y el hongo se colocó como se explicó anteriormente. T2-0. Igual al anterior, utilizando tres gotas de agua en lugar del EE. T3: Se homogenizó el EE correspondiente en el PDA a una temperatura aproximada de 70 °C y el disco del hongo se colocó en el centro del plato. T3-0: Igual al anterior, pero sin el EE.

La variable evaluada fue el crecimiento micelial, midiendo el diámetro de la colonia luego de 10 d de incubación a 27 ± 2 °C. El diseño dispuesto fue un completamente aleatorizado con cuatro repeticiones; se realizó el análisis de la varianza de los datos colectados y se compararon las medias a través de la prueba de Tukey (P=0,05) (Steel and Torrie, 1980). Se utilizó el programa PC- SAS (SAS, 1999)

### 3. Determinación del efecto de los extractos etanólicos sobre la antracnosis en frutos de mango

Los frutos de mango ‘Bocado’ común se cosecharon directamente de plantas ubicadas en las instalaciones de los Postgrados de Agronomía de la UCLA, en Tarabana, Municipio Palavecino, estado Lara, Venezuela, en estado de madurez fisiológica,

según la metodología de Mitra y Baldwin (1997), con promedio de 148,8 g, diámetro polar de 75,9 mm y ecuatorial de 62,3 mm, y sin daños físicos aparentes; se lavaron con agua corriente y jabón, se secaron y se sumergieron por 3 min en los EE de las seis plantas, a una concentración de 2,5%. Luego de 1 h, se realizaron tres orificios de aproximadamente 2 mm de profundidad sobre la superficie de los frutos con la ayuda de una aguja de disección, en cada uno se colocó aproximadamente 50 µL de una suspensión de conidios del hongo de 1,6 x 10<sup>6</sup> conidios/mL. Cada EE se consideró un tratamiento con cinco repeticiones, incluyendo al testigo que consistió en frutos inoculados con el hongo y a los que se le agregó agua en lugar de los EE. Los frutos se colocaron en cestas plásticas, se cubrieron con polietileno y se almacenaron por 10 d a 25°C. Se evaluó la incidencia (porcentaje de frutos enfermos) y la severidad (tamaño de las lesiones características de la enfermedad).

Se utilizó un diseño completamente al azar, los datos de incidencia y severidad se sometieron al análisis de varianza y la comparación de medias por la prueba de Tukey (P=0,05) (Steel and Torrie, 1980). Se utilizó el programa PC- SAS (SAS, 1999).

## RESULTADOS

### 1. Determinación de los grupos de metabolitos secundarios en extractos etanólicos

En base a la metodología utilizada, se determinó que los EE de todas las plantas utilizadas poseían alcaloides, aceites esenciales, polifenoles y taninos (Cuadro 1). Las diferencias se presentaron en cuanto a las saponinas, antraquinonas y los flavonoides. *L. organoides*, *P. niruri* y *G. sepium* carecían solo de saponinas. Las antraquinonas

Cuadro 1. Grupos de metabolitos secundarios determinados en extractos etanólicos de *Lippia organoides*, *Phyllanthus niruri*, *Azadirachta indica*, *Gliricidia sepium*, *Heliotropium indicum* y *Calotropis procera*.

Especie	Alcaloides <sup>1</sup>	Aceites esenciales	Polifenoles y Taninos	Saponinas	Antraquinonas	Flavonoides
<i>L. organoides</i>	+++	+	+	-	+	+
<i>P. niruri</i>	+++	+	+	-	+	+
<i>A. indica</i>	+++	+	+	+	-	-
<i>G. sepium</i>	+++	+	+	-	+	+
<i>H. indicum</i>	+++	+	+	+	+	+
<i>C. procera</i>	+++	+	+	+	-	+

Presencia (+); Ausencia (-); <sup>1</sup>Se determinaron tres tipos de alcaloides: débilmente básicos, básicos y sales cuaternarias de amonio, representados por las tres cruces.

estuvieron ausentes en *C. procera* y *A. indica*; en éste último, además, no se detectaron los flavonoides. *H. indicum* mostró la presencia de todos los grupos de MS analizados (Cuadro 1).

### 2. Determinación del efecto *in vitro* de los extractos etanólicos sobre el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides*

Los resultados mostraron que no hubo diferencias significativas ( $P = 0,5$ ) entre los métodos de aplicación de los extractos de *A. indica* (NIM), *P. niruri* (FE), *C. procera* (AS) y *G. sepium* (MR) en cuanto al desarrollo micelial de *C. gloeosporioides*, los cuales se comportaron estadísticamente similar a los testigos (Cuadro 2). *L. origanoides*, (OS) por otra parte, si mostró diferencias, encontrándose tres grupos estadísticos; la mezcla del EE con el medio fue el método más efectivo, el cual no permitió el crecimiento de la colonia; el segundo lugar en efectividad se observó impregnando el papel de filtro en el extracto y colocándolo en el extremo opuesto al hongo (Cuadro 2). El EE de *H. indicum* (RA) fue más efectivo con el papel de filtro y en segundo lugar con las gotas colocadas sobre el medio.

### 3. Determinación del efecto de los extractos etanólicos sobre la antracnosis en frutos de mango.

Diez días después de iniciado el ensayo se constató la presencia de las lesiones necróticas típicas de la antracnosis sobre la superficie de los frutos de mango inoculados con *C. gloeosporioides* demostrándose así el ataque del patógeno en todos los tratamientos, incluyendo el testigo. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $P = 0,05$ ) con la menor severidad del daño en los frutos tratados con *L. origanoides* y *H. indicum*, donde el

tamaño de las lesiones fue de 22 y 23 mm, respectivamente, lo que representó una disminución del daño de 37 y 33 %, respectivamente, con respecto al testigo (Cuadro 3). Los resultados de los otros extractos se agruparon en un segundo grupo estadístico, intermedio entre el testigo y los EE antes mencionados; en ellos se observaron valores de 20 y 30% de reducción de la lesión con respecto al testigo.

## DISCUSIÓN

El análisis preliminar de los grupos mayores de metabolitos secundarios presentes en los extractos vegetales de las plantas evaluadas mostró las diferencias entre ellas, las cuales se deben, entre otras razones, al hecho de que pertenecen a familias distintas (Izco, 2004) o a que provienen de diversas

Cuadro 3. Diámetro de la lesión de antracnosis y reducción de la lesión con respecto al testigo. en frutos de mango inoculados con *Colletotrichum gloeosporioides* y tratados con extractos etanólicos de Nim, flor escondida, algodón de seda, orégano silvestre, mata ratón y rabo de alacrán.

Tratamientos	Diámetro de la lesión (mm)	Reducción de la lesión (%)
Inoculado, sin EE (T)	35,06 a	-
Nim	28,08 ab	19,9
Flor Escondida	26,08 ab	25,6
Algodón de Seda	24,60 ab	29,8
Orégano Silvestre	22,04 b	37,1
Mata Ratón	23,32 b	33,5
Rabo de Alacrán	24,26 ab	30,8

(T): Testigo

Medias con las mismas letras no difieren significativamente en las pruebas de Tukey ( $P = 0,05$ ).

Cuadro 2. Crecimiento micelial (cm) de *Colletotrichum gloeosporioides* en PDA con extractos etanólicos (EE) de hojas de NIM (*Azadirachta indica*); flor escondida (*Phyllanthus niruri*) (FE); algodón de seda (*Calotropis procera*) (AS); orégano silvestre (*Lippia origanoides*) (OS); mata ratón (*Gliricidia sepium*) (MR) y rabo de alacrán (*Heliotropium indicum*) (RA). Concentración de los EE 2,5 %.

Tratamientos	NIM	FE	AS	OS	MR	RA
Papel+EE (T1)	5,38 a	8,16 a	8,93 a	3,73 b	8,53 a	1,95 c
Papel+Agua (T1-0)	7,53 a	8,93 a	8,38 a	9,20 a	8,23 a	9,20 a
Gotas de EE (T2)	7,13 a	8,13 a	8,95 a	7,55 a	8,95 a	6,10 b
Gotas agua (T2-0)	6,60 a	5,85 a	8,68 a	5,73 ab	8,68 a	5,73 b
EE+PDA (T3)	9,20 a	9,20 a	8,88 a	0,00 c	8,88 a	9,20 a
PDA sin EE (T3-0)	9,20 a	9,20 a	9,20 a	9,20 a	9,20 a	9,20 a

Medidas con las mismas letras no difieren significativamente en las pruebas de Tukey ( $P = 0,05$ )

zonas del estado Lara, con características ambientales diversas (Piñol *et al.*, 2000). La ausencia de un grupo, sin embargo, puede también significar que no se encontraba en la hoja en el momento del análisis, ya sea por su traslado a otros órganos o por su destrucción previo a la determinación (Izco, 2004). En todo caso, la actividad antifúngica de los extractos fue evaluada en un tiempo muy corto luego de su obtención de los EE, por lo que los resultados obtenidos podrían asociarse con los metabolitos detectados.

Los grupos de MS detectados en *C. procera* y *G. sepium* coincidieron con los obtenidos por Bittara (2005) y Torrealba (2006), aún cuando las plantas se colectaron en zonas diferentes a las utilizadas por estos autores. Así mismo, los encontrados en *A. indica* fueron igualmente señalados por Asher *et al.* (1995) y Gómez *et al.* (2002) en semillas y hojas de esta misma planta; todo esto podría indicar cierto nivel de confianza en los compuestos esperados y su utilización. No obstante, como Izco (2004) indica, es necesaria la identificación exacta de los compuestos y su cuantificación.

La forma mas efectiva de exponer el hongo al extracto fue la mezcla homogénea en el medio de crecimiento, de esta manera el patógeno está en contacto con el producto desde el inicio de su desarrollo. Los otros métodos evaluados permiten el crecimiento de la colonia por cierto tiempo antes de que el extracto alcance el micelio. Utilizando este método, el extracto mas efectivo en el control del hongo fue el de *L. origanoides*, lo cual ha sido consistente con lo observado en otras pruebas donde se evaluó contra *Bipolaris maydis*, *Rhizoctonia solani* (Rodríguez y Sanabria, 2005) y *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Henríquez *et al.*, 2005). Este comportamiento del extracto ha sido asociado con los fenoles (Rodríguez, 2007), aunque no se ha definido cual de ellos es el responsable. El segundo extracto con efectividad sobre *C. gloeosporioides*, pero utilizando el método de papel impregnado, fue el de *H. indicum*, con el cual se obtuvo una disminución del crecimiento micelial del 78 %. Este EE también ha mostrado tener efecto sobre *Mycosphaerella fijiensis* en plátano (Vargas, 2008) y podría ser considerado su uso, posiblemente, con dosis mayores.

Los resultados del ensayo *in vivo* corroboraron los obtenidos *in vitro*, demostrándose el potencial de *L. origanoides* para el control de la antracnosis en mango. *Colletotrichum* puede penetrar el vegetal

directamente o por heridas (O'Connell *et al.*, 2000), por lo que el presente ensayo se estableció con una infección forzada, posterior a la herida causada en el mango; bajo tales condiciones el EE de *L. origanoides* logró mantener la severidad de la antracnosis con un 37 % menos que en el control. En condiciones menos severas de infección y con un tratamiento preventivo, es posible que el nivel de protección con el extracto sea mayor. En cuanto a *G. sepium*, su extracto mostró igualmente su acción en la reducción de la antracnosis, a pesar de que la prueba *in vitro* indicaba poca efectividad sobre el patógeno; esto quizás se deba a la presencia de algún tipo de resistencia inducida, en la que el extracto haya promovido la formación de algún compuesto (fenólico) que haya frenado el desarrollo de la enfermedad (El Modafar y El Boustani, 2004); sin embargo, esto merece ser investigado. Los otros extractos evaluados también mostraron cierto nivel de control, lo que indica que puede haber más de un extracto con potencial de uso para la prevención de la antracnosis en mango y que posiblemente su acción dependa de la dosis utilizada.

## CONCLUSIONES

El extracto mas significativo para el control *in vitro* e *in vivo* de *C. gloeosporioides* fue el de las hojas de 'orégano silvestre', el cual en dosis bajas podría ser utilizado para prevenir la enfermedad. Los extractos de 'mata ratón' (*G. sepium*), 'rabo de alacrán' (*H. indicum*), 'algodón de seda' (*C. procera*), 'flor escondida' (*P. niruri*) y 'nim' (*A. indica*) fueron también efectivos en la reducción de la enfermedad y se recomienda evaluarlos con dosis mas altas.

## LITERATURA CITADA

- Araujo, D.; D. Rodríguez y M. Sanabria. 2008. Respuesta del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, causante del Mal de Panamá, a algunos extractos y fungicidas. Fitopatología Venezolana 21: 2-8.
- Arias B. y L. Carrizales. 2007. Control químico de la antracnosis del mango (*Mangifera indica* L.) en pre y postcosecha en el municipio Cedeño, estado Monagas, Venezuela. Bioagro. 19 (1): 19-25.
- Asher, K.; M. Isman, M. Jacobson and C. Ketkar. 1995. The neem tree (*Azadirachta indica*) and other Meliaceae Plants. Edit. H. Schmutterer, New York. 693 pp.

- Avilán, L.; A. Rengifo y A. Carmelo. 1996. El mango. Editorial Americana, C.A. Caracas, Venezuela. 401 pp.
- Bittara, F. 2005. Evaluación de fungicidas y productos vegetales en el control de la sarna polvorienta de la papa causada por *Spongospora subterranea* (Wallr.) Langerh. Trabajo de Grado para Ingeniero Agrónomo. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". 78 pp.
- Dinham, B. and S. Malik. 2003. Pesticides and human rights. *Int. J. Occup. Environ. Health.* 9: 40-52.
- El Modafar, C. y E. S. El Boustani. 2004. Contribución de los polifenoles a los mecanismos de defensa de la plantas. *In: Biopesticidas de Origen Vegetal.* Editores Catherine Regnault-Roger, Bernard J. R. Philogène y Charles Vincent. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. p. 173-190.
- Gómez, C.; A. Soto y L. Flores. 2002. Evaluación de extractos vegetales para el manejo del picudo negro del plátano (*Cosmopolite sordidus* Germar.) Universidad de Caldas. Boletín de Fitotecnia No. 65. Manizales, Colombia. 20 pp.
- Henriques, L.; D. Rodríguez; M. E. Sanabria y O. Crescente. 2005. Inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* con extractos de *Opuntia* sp.; *Lippia organoides* y *Croton rhamnifolius*. *SABER.* 17: 133-134.
- Hernandez, J.; D. A. Rodríguez, M. E. Sanabria, G. Blanco y N. Sanabria. 2005. Efecto de extractos etanólicos de *Heliotropium indicum* L., *Lippia organoides* H.B.K. y *Phyllanthus niruri* L. en plantas de banano 'cambur manzano' (*Musa AAB*) para el control de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet en Yaracuy, Venezuela. XVII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas. Matanzas, Cuba. <http://gcrec.ifas.ufl.edu/ALAM/ALAM-Memorias2005.pdf>. Fecha de consulta: 15-01-2009.
- Izco, J. 2004. Botánica, 2ª Edición. Mc GrawHill. Interamericana de España, 906 pp.
- Marcano, D. y M. Hasegawa. 2002. Fitoquímica Orgánica. Caracas. U.C.V. CNDCH. 520 pp.
- Mitra, S. K. and E. A. Baldwin. 1997. Mango. *In: Postharvest Physiology and Storage of Tropical and Subtropical Fruits.* Ed. Sisir Mitra. CAB International. p. 85-122.
- O'Connell, R.; S. Perfect, B. Hughes, R. Carzaniga, J. Bailey and J. Green. 2000. Dissecting the cell biology of *Colletotrichum* infection process. *In: Colletotrichum Host Specificity, Pathology and Host-Pathogen Interaction.* Editores Dov Prusky, Stanley Freeman y Martin B. Dickman. APS Press St Paul, Minnesota. p. 37-77.
- Pierichi, G.; R. Crozzoli, B. Delgado, M. Ochoa, A. Masselli y C. Rosales. 2007. Evaluación preliminar *in vitro* de la actividad nematocida del extracto etanólico de hojas de algodón de seda sobre juveniles de segundo estadio de *Meloidogyne incognita*. *Fitopatología Venezolana* 20: 83. (Resumen).
- Piñol, M.; J. Palazón y R. Cusidó. 2000. Introducción al metabolismo secundario. *In: Fundamentos de Fisiología Vegetal.* Editores Joaquín Azcón Bieto y Manuel Talón. Mc GrawHill Interamericana. p. 261-283.
- Rodríguez, J. L. 2007. Aislamiento, cuantificación y efecto de los metabolitos secundarios de *Lippia organoides* H.B.K. *in vitro* sobre el crecimiento micelial y La esporulación de *Fusarium oxysporum* Schltdl. f.sp. *cubense* y *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Trabajo de Grado para Ingeniero Agrónomo. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". 56 pp.
- Rodríguez, D. y J. Montilla. 2002. Disminución de la marchitez causada por *Fusarium* en tomate con extracto de *Citrus paradise*. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 63: 46-50.
- Rodríguez, D. y M. E. Sanabria. 2005. Efecto del extracto de tres plantas silvestres sobre la rizoctoniosis, la mancha sureña del maíz y los patógenos que la causan. *Interciencia* 30 (12): 739-744.
- SAS Institute. 1999. SAS user's guide: Statistics. 8<sup>th</sup> edition. SAS Inst Inc., Cary, North Carolina, EEUU.
- Staufér, A.; A. Orrego y A. Aquino. 2000. Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y/o bactericida. *Revista de Ciencia y Tecnología, Dirección de Investigaciones (UNA)* 1 (2): 29-33.

- Steel, G. y J. Torrie. 1980. Bioestadística. Principios y Procedimientos. Ed. McGraw-Hill. New York. 301 pp.
- Torrealba, S. 2006. Cuantificación de metabolitos secundarios en extractos etanólicos de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud y *Calotropis procera* (Ait.) Ait.F. y el efecto de dichas plantas sobre el desarrollo *in vitro* de *Sclerotium rolfsii*. Trabajo de Grado para Ingeniero Agrónomo. Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado”. 59 pp.
- Usall, J.; P. Plaza e I. Viñas. 2003. Tratamientos químicos en poscosecha de frutas. Sistemas actuales y propuestas para mejoría. Vida Rural. No. 172. 25 pp.
- Valor, O. y J. Manzano. 2000. Efecto del tratamiento hidrotérmico, temperatura y tiempo de almacenamiento sobre el mango criollo “Bocado” (*Mangifera indica* L.) .II. Parámetros químicos. Tecnologías Postcosecha 3:11-15.
- Vargas, J. L. 2008. Evaluación del efecto de tres extractos vegetales sobre la Sigatoka Negra, el desarrollo y la producción en el cultivo de plátano (*Musa* AAB cv. ‘Harton’). Trabajo de Grado para Ingeniero Agrónomo. Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado”. 36 pp.
- Zapata, R.; M. E. Sanabria y D. Rodríguez. 2003. Reducción del desarrollo de hongos fitopatógenos con extractos de cardón lefaria (*Cereus deficiens* Otto & Diert). Interciencia 28: 302-306.