



Revista Mexicana de Fitopatología

ISSN: 0185-3309

mrlegarreta@prodigy.net.mx

Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C.

México

Lira Saldívar, Ricardo Hugo

Estado Actual del Conocimiento sobre las Propiedades Biocidas de la Gobernadora [*Larrea tridentata*
(D.C.) Coville]

Revista Mexicana de Fitopatología, vol. 21, núm. 2, julio-diciembre, 2003, pp. 214-222

Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C.

Texcoco, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221217>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Estado Actual del Conocimiento Sobre las Propiedades Biocidas de la Gobernadora [*Larrea tridentata* (D.C.) Coville]

Ricardo Hugo Lira-Saldívar, Gerencia de Biopolímeros, Centro de Investigación en Química Aplicada, Blvd. Enrique Reyna 140, Saltillo, Coahuila, México CP 25100.
Correspondencia: rhlira@polimex.cqua.mx

(Recibido: Abril 14, 2003 Aceptado: Mayo 23, 2003)

Lira-Saldívar, R.H. 2003. Estado actual del conocimiento sobre las propiedades biocidas de la gobernadora [*Larrea tridentata* (D.C.) Coville]. Revista Mexicana de Fitopatología 21:214-222.

Resumen. La gobernadora (*Larrea tridentata*), es un arbusto perenne de los desiertos Chihuahuense, Sonorense y Mojave de Norteamérica. Sus hojas contienen una espesa resina que se comporta como un antitranspirante debido a que forma una barrera que disminuye la transpiración. Los metabolitos secundarios de la resina (entre los que destacan fenoles, lignanos y flavonoides), son defensas bioquímicas para repeler la agresión de animales herbívoros, hongos y otros microorganismos, ya que no se conocen plagas, enfermedades o animales que ataquen esta planta. Numerosos estudios han demostrado que los extractos de gobernadora tienen acción antifúngica bajo condiciones *in vitro* en al menos 17 hongos fitopatógenos de importancia económica; de igual manera, extractos y material vegetativo molido en polvo e incorporado al suelo han confirmado inhibir o controlar *in vivo* seis hongos en cultivos agrícolas. Algunos trabajos también han consignado el efecto nematicida o nematostático de *L. tridentata* contra nueve géneros de nemátodos y repelencia en un insecto. Por otro lado, bioensayos con microorganismos que atacan a humanos han indicado que más de 45 bacterias son susceptibles a la resina de *L. tridentata* o sus constituyentes, así como 10 levaduras, nueve hongos y tres parásitos intestinales. El efecto antiviral de la gobernadora también se ha documentado, indicando que los flavonoides de la resina son activos contra virus que afectan el RNA, y que ocasionan graves enfermedades como polio, sida y herpes. Con base en esta información, queda claro el potencial que tiene este arbusto de las zonas áridas para elaborar productos orgánicos vegetales derivados de su resina, que ayuden a promover una agricultura sostenible y de menor impacto ambiental.

Palabras clave adicionales: Extractos de plantas, biocidas orgánicos, flavonoides.

Abstract. Creosote bush (*Larrea tridentata*) is a perennial shrub from the Chihuahuan, Sonoran and Mohave deserts of North America. The leaves contain a thick resin, which behaves as a barrier that diminishes transpiration. Resin

secondary metabolites like phenols, lignans and flavonoids, appear to be biochemical defenses that repel the aggression of herbivores, fungi, and other microorganisms, since there are not known pests, diseases, or animals that attack this plant. Numerous studies have established that creosote bush extracts have antifungal activity *in vitro* in at least 17 fungal pathogens of economic importance; likewise, extracts and ground plant material incorporated into the soil as powder inhibit or control *in vivo* six fungi that affect agricultural crops. Some studies also have reported the nematicidal or nematostatic effect of *L. tridentata* against nine genera of nematodes, and to act as repellent against one insect. On the other hand, there have been bioassays with microorganisms that attack humans, indicating that more than 45 bacteria, 10 yeast, nine fungi and three intestinal parasites are susceptible to *L. tridentata* resin or its constituents. The antiviral effect of creosote bush also has been documented, demonstrating that flavonoids are active against virus that affect RNA, and that cause severe diseases like polio, AIDS and herpes. Based on this information, it is clear the potential that this shrub from the arid zones has for the development of organic plant products originated from its resin, that can be useful to support and promote a sustainable agriculture with low environmental impact.

Additional keywords: Plant extracts, organic biocides, flavonoids.

Las zonas áridas representan un gran potencial porque guardan una riqueza basada no tanto en su densidad, como en su especialización biológica, donde la flora y la fauna son el producto de miles de años de adaptación fisiológica para su supervivencia. Un caso típico de estas condiciones lo representa la gobernadora *Larrea tridentata* (D.C.) Coville de la familia Zygophyllaceae. Esta especie perenne es la más ampliamente distribuida en las zonas áridas de los desiertos Mojave, Sonorense y Chihuahuense (Barbour, 1969). Comúnmente en México se le conoce con el sugestivo nombre de gobernadora por su dominancia en las grandes extensiones de las zonas áridas del norte de México. Pero también se le conoce como sonora, tasajo, jarilla y hediondo o hediondilla por el peculiar olor que tiene, sobre todo después de una lluvia (Brinker, 1993). Las hojas de este arbusto xerófito están

envueltas en una gruesa capa de resina producida por tricomas glandulares durante el desarrollo de las hojas, y puede llegar a formar parte del 20% del peso seco de las hojas (Rhoades, 1977) o más (Lira-Saldivar *et al.*, 2003a). La resina tiene la propiedad de hacer menos digestivo el follaje, de manera similar al efecto que producen los taninos (Rhoades, 1977); también se comporta como un antitranspirante ideal debido a que forma una barrera en la superficie de las hojas que disminuye la transpiración más que la tasa de asimilación de CO₂ (Meinzer *et al.*, 1990; González-Coloma *et al.*, 1994). Se considera que la resina funciona como un filtro contra la radiación solar UV, y protege a la planta contra el herbivorismo de insectos y animales (Barbour *et al.*, 1977; Downum *et al.*, 1988). Los arbustos de *L. tridentata* enfrentan fuertes presiones de animales herbívoros, debido a que las hojas están siempre verdes durante los meses del año sin lluvia, época en que son pocos los recursos vegetales que pueden encontrar insectos y animales; sin embargo, el herbivorismo en *Larrea* es limitado, probablemente debido a los metabolitos secundarios como los biopolímeros fenólicos y el ácido nordihidroguaiaretico (NDGA) que se encuentran presentes en la resina producida en hojas y tallos, los cuales resultan ser defensas bioquímicas para repeler el ataque de animales herbívoros, hongos y otros microorganismos (Valesi *et al.*, 1972; Wisdom *et al.*, 1987; Rundel *et al.*, 1994).

Distribución geográfica. *L. tridentata* domina aproximadamente 17.5 millones de ha desde el oeste de Texas hasta el sur de California en los Estados Unidos (Duisberg, 1952). Su rango en el Desierto Mojave va desde la parte sur de California y Nevada a la parte central de Arizona y Nuevo México, limitado por heladas invernales o lluvias excesivas de invierno. En la República Mexicana, la gobernadora se encuentra en parte del Desierto Sonorense, incluyendo los estados de Baja California Norte, Baja California Sur y Sonora, y en el Desierto Chihuahuense incluyendo los estados de Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Zacatecas, San Luis Potosí y Durango. Se estima que el 25% (500,000 km²) del territorio nacional está cubierto con este arbusto de las zonas áridas (Belmares *et al.*, 1979). Las razas de esta especie se caracterizan por ser diferentes en su número cromosómico, ya que las plantas del Desierto Chihuahuense son diploides ($n = 13$), las del Sonorense son tetraploides ($n = 26$) y las del Mojave son hexaploides ($n = 39$) (Sakakibara *et al.*, 1976; Mabry *et al.*, 1977). Su rango de adaptación en elevación es de menos del nivel del mar en el Valle de la Muerte en California, hasta más de los 2,500 m en las sierras del norte de México (Van Davender, 1990). Crece bien en planicies secas y mesas, rodeando colinas y declives, y en varios tipos de suelos, excepto arcillosos, salinos o graníticos (Shreve y Wiggins, 1964). Su crecimiento ampliamente distribuido en áreas generalmente consideradas como improductivas, ha conducido a hacer estudios de su potencial valor comercial. Se ha estimado que la gobernadora representa una fuente potencial de más de un millón de ton de forraje seco y unas

100,000 ton de resina con un rendimiento anual sostenido cuando se coseche cada 2 a 4 años (Duisberg, 1952).

Descripción botánica. *L. tridentata* es un arbusto perenne xerófito siempre verde. Su edad puede exceder los 100 años, aunque algunas plantas pueden sobrevivir cientos o miles de años a través de reproducción vegetativa asexual, ya que las raíces producen brotes o retoños que después se convierten en nuevas plantas. La edad se determina por el tamaño de la corona radicular. La raíz crece sólo cerca de 170 cm hacia abajo, pero se ramifica hasta más de 4 m lateralmente (Brinker, 1993). El tamaño de la planta varía de 0.5 a 4 m en altura dependiendo de la lluvia de invierno o verano, y la altura promedio varía de acuerdo a su raza de ploidía (diploide 86 cm, hexaploide 112 cm y tetraploide 138 cm). No hay un tallo principal, pero las ramas gruesas crecen vertical u oblicuamente desde la corona radicular y se hace dicotómica lateralmente (Coyle y Roberts, 1975). Las hojas son pequeñas y bifoliadas, de un verde oscuro a verde amarillento con cutículas gruesas y una capa resinosa, tienen pecíolos cortos y crecen opuestas en las ramas. Las flores son amarillas, usualmente aparecen al final del invierno o a principios de la primavera, pero pueden florecer en cualquier momento después de una lluvia; crecen cerca de las terminaciones de los retoños jóvenes como capullos solitarios con cinco pétalos (Fig. 1) y su polen y néctar atraen muchas abejas (unas 30 especies diferentes). Los frutos son pequeños (4 a 7 mm de diámetro), tienen una cubierta vellosa y contienen cinco semillas que se esparcen en primavera y al principio del otoño por el viento y la lluvia (Shreve y Wiggins, 1964; Coyle y Roberts, 1975).

Constituyentes fitoquímicos. Los principales compuestos en la resina de *L. tridentata* reportados en la literatura son numerosos, sin embargo, en el Cuadro 1 se presenta un resumen de los más importantes. Destacan por su mayor contenido en base al peso seco del follaje los lignanos fenólicos, seguidos por las saponinas, flavonoides, aminoácidos y minerales. El compuesto más importante que se encuentra en la resina de las células cercanas a las capas epidermales superior e inferior de las hojas (Fig. 2) y tallos es el ácido nordihidroguaiarético (NDGA), uno de los antioxidantes mejor conocido (Seigler *et al.*, 1974). Químicamente se le ha descrito como beta, gamadimetil-alfa, delta-bis (3,4-dihidroxifenil) butano. Se ha determinado que este ácido tiene propiedades como antioxidante, antiinflamatorio, citotóxica, antimicrobial e inhibidor de enzimas (Mabry *et al.*, 1977; Fernández, 1979; Brinker, 1993). Este fuerte antioxidante se presenta en todas las especies e híbridos de *Larrea*, habiendo una ligera diferencia en concentración entre las razas de ploidía en lo que se avanza a través del Desierto Chihuahuense (2.62%) hacia el Sonorense (3.84%) y hacia el Mojave (4.86%), (Gisvold, 1948; Downum *et al.*, 1988). El propósito del NDGA y su derivativo o-quinona es evidentemente un repelente de herbívoros (Janzen *et al.*, 1977; Greenfield *et al.*, 1987; Rundel *et al.*, 1994). El ganado no consume normalmente el



Fig. 1. Follaje de un arbusto de gobernadora (*Larrea tridentata*) donde se aprecian algunas características distintivas de las hojas bifoliadas, flores y los frutos con su cubierta vellosa.

follaje de *Larrea* (Kearney y Peebles, 1951; Zamora, 1988), pero puede hacerlo si se remueve la resina, ya que es una fuente excelente de proteína, comparable a la alfalfa (Duisberg, 1952). Estudios interpoblacionales de *L. tridentata* realizados en el Desierto Sonorense revelaron que las concentraciones de NDGA encontradas en la resina de sus hojas variaron en función de la latitud y de la época del año (Downum *et al.*, 1988), así como con factores ecológicos, ya que la concentración de NDGA puede reducirse por la contaminación ambiental provocada por concentraciones elevadas de ozono (González-Coloma *et al.*, 1988). La concentración de NDGA es de cerca del 50% de la resina que forma parte de un 10 a 15% del peso seco de las hojas (Sakakibara *et al.*, 1976). También hay más de 20 flavonoides metil aglyconas que constituyen la otra mitad de la resina. Los posibles efectos de todos los diferentes flavonoides y otros constituyentes son numerosos y variados. Los efectos combinados de estos constituyentes apuntan hacia un sinergismo que amplía el efecto del compuesto activo primario (NDGA), esto sugiere la ventaja de usar un extracto de la estructura entera hoja/ramas en comparación con usar una preparación de NDGA purificado o sintetizado.

Propiedades antifúngicas *in vitro* de *Larrea tridentata*. Uno de los primeros trabajos sobre el efecto fungicida y/o fungistático de la resina de gobernadora reporta que al utilizar extractos crudos de cloroformo y etanol los hongos *Rhizoctonia solani* Kühn, *Pythium* sp. Pringsh. y *Rhizopus nigricans* Ehrenb. fueron controlados *in vitro*, tanto con el extracto metanólico como con el clorofórmico; no fue el caso

Cuadro 1. Principales constituyentes fitoquímicos de *Larrea tridentata* (Brinker, 1993).

Porcentaje del peso seco	Tipo	Compuesto
16-21	Lignanos Fenólicos	Ácido Dihidroguaíarético Hemi-norisoguaíacin Ácido nordihidroguaíaretico Nordihidroguaíacin
5-7.5	Flavonoides	Apigenin Kaempferol
10-15	Saponinas Triterpenos	Larreagenin A Ácido Larréico
0.1-0.2	Monoterpenos Volátiles Hidrocarbonos 35	Alpha penene Delta-3-carene Limoneno Benzaldheido Benzilacetato Benzilbutano Metil naftaleno
	Aromáticos	Beta-sítosterol Colesterol Campesterol
	Esteroides	
	Taninos	
	Carbohidratos	Glucosa Sucrosa
70.1 (de tallos)	Lípidos	Alkil esteres (C46-C56)
16.6	Aminoácidos	Fenilalanina Isoleucina Ácido glutámico Ácido aspártico Glicina
	Vitaminas	
15.6 mg/lb		Caroteno
19.8 mg/100 g		Vitamina C
13.7	Minerales	Sodio Potasio Calcio Magnesio Hierro Azufre Fósforo

de *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr., ya que con 1,000 ppm de cada extracto, sólo se controló en un 76 y 93%, respectivamente (Fernández *et al.*, 1979). Posteriormente, otros autores han venido corroborando *in vitro* las propiedades antifúngicas de la gobernadora, ya sea con productos obtenidos con diferentes extractantes, o bien con material vegetativo seco y molido. Los resultados obtenidos por Velásquez (1981), indican que el extracto que mejor efecto manifestó en estudios *in vitro* fue la fracción etanólica a dosis de 2,000 ppm, observando un crecimiento nulo a los 15 días después de la inoculación del hongo *Cytosporina* sp. (Sacc.) Sacc., estado asexual de *Eutypa armeniaca* Hansf. y M.V. Carter agente causal del brazo muerto de la vid; además, inhibió la germinación de ascosporas de *E. armeniaca* a la misma dosis, pero con extractos en base a etanol y cloroformo. Los estudios efectuados por Salazar *et al.* (1990) mostraron

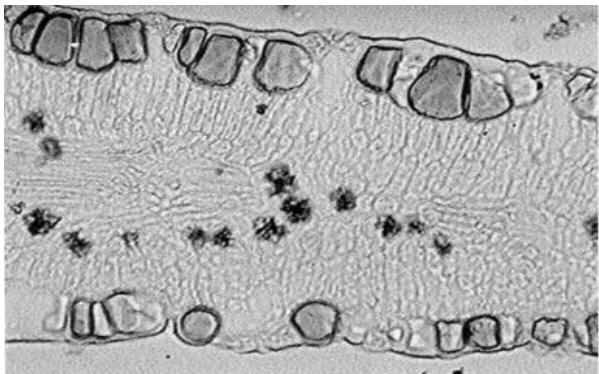


Fig. 2. Corte transversal que muestra la resina contenida en las células epidermales del haz y envés de un folíolo de *Larrea tridentata* (160 X).

que el polvo de hojas y el extracto en acetona de *L. tridentata* también inhibieron *in vitro* el crecimiento de *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. En el trabajo realizado por Vargas-Arispuro *et al.* (1997) sobre la actividad antiaflatoxigenica *in vitro* de 10 extractos vegetales, se destaca el efecto del extracto de *L. tridentata* obtenido con diclorometano, ya que inhibió en 92 y 86% el crecimiento de *Aspergillus flavus* Link:Fr. y *A. parasiticus* Speare, respectivamente; en cambio los extractos metanólicos tuvieron poco efecto. En un ensayo realizado por Lara *et al.* (1997), se aplicó gobernadora en polvo y extractos obtenidos con acetona y agua para estudiar el efecto inhibidor *in vitro* de estos productos sobre *Pythium ultimum* Trow. Los extractos se adicionaron al 2% (v/v) en el medio de cultivo 3P (selectivo a Pythiaceos) antes del vaciado, mientras que el polvo fue adicionado en la proporción antes mencionada a las cajas de Petri antes del vaciado. Los resultados indicaron que el polvo y el extracto en acetona inhibieron el crecimiento del patógeno, en tanto que el extracto en agua tuvo un comportamiento similar al testigo. Por su parte, Verástegui *et al.* (1996) determinaron el efecto de extractos etanólicos de *L. tridentata* en el crecimiento de hongos, levaduras y bacterias que afectan la salud de humanos y animales. Sus resultados mostraron que los extractos inhibieron diversos actinomicetos y hongos entre los que destacan: *Candida krusei* (A. Castellani) Berkhout, *C. albicans* (C.P. Robin) Berkhout, *C. rugosa* (Anderson) Diddens y Lodder, *Cryptococcus albidus* (K. Saito) C.E. Skinner, *C. laurentii* (Kuff.) C.E. Skinner y *C. neoformans* var. *neoformans* Bemis, así como las bacterias *Listeria monocytogenes* (Murray, Webb y Swann) Pirie, *Clostridium perfringens* (Veillon y Zuber) Hauduroy, Ehringer, Urbain, Guillot y Magrou, *Shigella dysenteriae* (Shiga) Castellani y Chalmers, *Yersinia enterocolitica* (Schleifstein y Coleman) Frederiksen y *Proteus vulgaris* Hauser. Debido a que existen pocos fungicidas comerciales que han sido efectivos en inhibir la germinación de teliosporas de *Tilletia indica* Mitra, el agente causal del

Carbón Karnal del trigo, Rivera-Castañeda *et al.* (2001), realizaron un trabajo para estudiar el efecto inhibitorio sobre este hongo de varios extractos de plantas del estado de Sonora. Sus resultados indican que la inhibición total *in vitro* del hongo ocurrió con 500 mg/ml del extracto de *L. tridentata* obtenido con diclorometano. Las teliosporas tratadas con este extracto no mostraron viabilidad cuando se transfirieron a medio de cultivo fresco, por lo que el extracto de gobernadora mostró su potencial como agente de control de *T. indica*. En comparación, los extractos obtenidos de *Chenopodium ambrosioides* L. (Aellen) y *Encelia farinosa* Gray ex Torr. sólo fueron parcialmente efectivos contra *T. indica*. Al comparar el efecto de extractos etanólicos de resina de gobernadora obtenida de follaje colectado en los desiertos Chihuahuense (D.Ch.) y Sonorense (D.S.), Balvantín (2001) encontró que el hongo *Pythium* Pringsh. fue significativamente inhibido en su desarrollo micelial, aún con las dosis más bajas evaluadas, ya que con 500 ppm se logró una inhibición del 100% con el extracto del D.S., mientras que con esa misma dosis del extracto del D.Ch. se redujo el crecimiento en un 70% en comparación con el testigo. En cuanto a los extractos proveniente del D.Ch. se observó un leve crecimiento del micelio con 1000 y 2000 ppm, pero a partir de 4000 ppm el hongo fue totalmente inhibido. En un estudio de Lira-Saldívar *et al.* (2002) se encontró que los extractos metanólicos hidrosolubles de resina de *L. tridentata* colectados a diferentes latitudes (paralelos 24, 25, 26, 27 y 28°) en los D.Ch. y D.S., mostraron claramente una acción inhibitoria sobre el crecimiento del hongo *F. oxysporum*, revelando un marcado efecto diferencial en relación con la región geográfica donde se colectó el follaje de gobernadora, debido a que la mayor inhibición (90.3%) ocurrió con los extractos de latitudes sur del D.S. Una respuesta similar sobre el hongo *Pythophthora infestans* con extractos metanólicos obtenidos a través de un gradiente latitudinal ha sido reportada por Gamboa-Alvarado *et al.* (2003), quienes encontraron diferencias estadísticas significativas en la inhibición del patógeno con los extractos de ambos desiertos, siendo más eficaces los del D.S. Estos resultados aluden que las condiciones ecológicas donde se desarrollan los arbustos de *Larrea* tienen un efecto en las características fitoquímicas de la resina y consecuentemente en su acción antifúngica. El efecto fungitoxico sobre *Alternaria solani* Sorauer de los extractos hidrosolubles etanólico, metanólico y clorofórmico obtenidos de poblaciones nativas de *L. tridentata* provenientes de los D.Ch y D.S. también fue consignado por Lira-Saldívar *et al.* (2003c), quienes encontraron que el crecimiento micelial del hongo fue significativamente afectado a partir de 2000 y 4000 ppm, pero sólamente se logró inhibirlo totalmente con los tres extractos de ambos desiertos a la dosis de 8000 ppm. Con base en los numerosos avances reportados, queda claro que los compuestos fitoquímicos presentes en la resina de gobernadora tienen una potente acción antifúngica *in vitro* e *in vivo* contra diversos hongos fitopatógenos de notable importancia económica, incluyendo algunos que han sido

señalados en la literatura por tener una gran capacidad metabólica, como son los géneros *Aspergillus* y *Fusarium* (Montes-Belmont *et al.*, 2000). En los resultados antes documentados también se advierte que independientemente de los solventes usados (etanol, metanol, cloroformo, diclorometano, acetona, agua, *etc.*) para la extracción de la resina encontrada en las hojas de este arbusto, la efectividad para inhibir el crecimiento de hongos invariablemente es consistente, lo cual no deja dudas sobre la seguridad de sus propiedades antifúngicas. En cuanto a los principios activos encontrados en la resina de *Larrea*, diversos autores (Brinker, 1993; Gnbare *et al.*, 1995; Clark, 1999) señalan a los lignanos fenólicos y especialmente al NDGA que sólamente es producido por esta planta, como el metabolito secundario que confiere las propiedades biocidas de la gobernadora; sin embargo, esto no ha sido plenamente demostrado con hongos fitopatógenos, quedando también pendientes la realización de trabajos de investigación para documentar en detalle el modo de acción de los extractos de *L. tridentata* sobre diversos microorganismos.

Efecto bactericida, nematicida y antiviral de *L. tridentata* y sus derivados. Muchas sustancias fenólicas son bactericidas porque reaccionan químicamente con los sistemas sensitivos de las enzimas y las vuelve catalíticamente inactivas (Tappel y Marr, 1954). Debido al efecto inhibidor en numerosos sistemas enzimáticos, *L. tridentata* y el NDGA tienen un amplio espectro de actividad como agentes antisépticos. Los estudios comparando varios extractos de *L. tridentata* mostraron que la fracción de NDGA no era responsable de toda la actividad antimicrobiana (Gisvold y Thaker, 1974; Zamora, 1988). La resina de gobernadora ha probado tener efectos bactericidas y bacteriostáticos a bajas dosis, como lo demuestra el trabajo de Velásquez (1983) al evaluar *in vitro* diversas dosis del extracto etanólico contra las bacterias fitopatógenas *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krumwiede, Rogers y Smith, *E. atroseptica* Hellmers y Dowson y *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith, sus resultados revelaron que la resina presenta un efecto selectivo contra las tres bacterias evaluadas, al no inhibir aún a dosis de 2000 ppm el desarrollo de *E. amylovora*, mientras que el crecimiento de *E. atroseptica* fue relativamente mínimo, no así a dosis relativamente bajas (250, 500 y 1000 ppm); además, los extractos de *L. tridentata* mostraron una excelente acción bactericida contra *P. solanacearum* aún a la dosis mínima. En el trabajo de Brinker (1993) enfocado a los usos etnobotánicos de *L. tridentata*, ha reportado que más de 45 bacterias, 10 levaduras, nueve hongos y tres parásitos intestinales son susceptibles a la resina de *L. tridentata* o sus constituyentes. El efecto de la resina como nematicida sólo ha sido consignado en pocos casos. Huerta (1986) señaló que en pruebas *in vitro*, la resina etanólica mostró una inactivación de los nematodos a los 27 min, mientras que en el testigo (agua) la actividad duró 3.5 h. Recientemente en un trabajo *in vitro* con nematodos colectados de suelo

infestado donde se tenía sembrado melón (*Cucumis melo* L.), vid (*Vitis vinifera* L.) y nogal [*Carya illinoensis* (F.A. Wagenheim) K. Koch], se comparó el efecto de cuatro dosis (1000, 2000, 4000 y 8000 ppm) del extracto etanólico contra el nematicida comercial Mocap. Los resultados obtenidos por De Anda (2003) indican un claro efecto nematicida con las dosis de 4000 y 8000 ppm; en este trabajo también se señala que el efecto de esas dosis resultaron ser estadísticamente iguales que el nematicida utilizado, como referencia para comparar el efecto del extracto de gobernadora. Una actividad interesante mostrada por ciertos constituyentes flavonoides de *L. tridentata* es el efecto antiviral atribuido a los 3-metoxiflavonoides, incluyendo 3-metil-kaempferol, 3,3'-dimetil-quercetin, y 3,7,3'-trimetil-quercetin (Xue *et al.*, 1988). En este estudio se encontró que estos flavonoides son activos contra los virus que afectan el RNA, incluyendo polio, coxsackie B2 y rino virus, y también contra la estomatitis vesicular y el virus bunya. Las sustancias antes mencionadas son consideradas como verdaderos antivirales, ya que afectan la replicación de los virus y la iniciación de la síntesis de RNA (Zamora, 1988). La actividad antiviral de los metabolitos de *L. tridentata* también ha sido claramente detectada en el trabajo de Gnbare *et al.* (1995), donde se consigna que el lignano 3-O-methyl del ácido nordihdroguaiaretico aislado de la resina del follaje tiene un efecto inhibidor en la actividad del virus del SIDA, ya que este lignano impide que el material genético de este virus se copie a si mismo, evitando la replicación del virus. Las propiedades antivirales de *L. tridentata* contra el virus causante de los diferentes tipos de herpes encontrados en humanos han sido reportadas por Clark (1999), quien menciona que el extracto de esta planta es 1000 veces más potente que las drogas sintéticas antivirales. En su trabajo se señala que cultivos de células de los virus causantes de herpes de los tipos HSV-1 y HZV sin extracto de *Larrea* fueron destruidas en 72 h, mientras que cultivos de células contenido 10 µg/ml del extracto de *Larrea* no fueron afectadas por el virus; los resultados clínicos de este autor indican que el derivado de gobernadora elimina más rápido el virus del herpes que la droga Zovirax (acyclovir), la cual es específica para este virus. Otros constituyentes fenólicos aparte de los flavonoides que imitan la actividad biológica del NDGA incluyen los lignanos norisoguaiacín, y ácido dihidroguaiáretico parcialmente demetilado. El lignano norisoguaiacín mostró actividad antimicrobiana y antioxidante (Gisvold y Taker, 1974), afectó el transporte mitocondrial de electrones e inhibió enzimas (Partini *et al.*, 1973). Entre los organismos inhibidos están los causantes de algunas enfermedades bacterianas: paratifoidea, ántrax, fiebre escarlata, nocardiosis, neumonía libar, infecciones en las heridas, infecciones del tracto respiratorio superior e urinarias y caries. El efecto en los organismos ha sido sólamente demostrado *in vitro* (excepto de *Streptococcus pneumoniae* (Klein) Chester tipo II en ratones), así que no es difícil asumir que los extractos de *Larrea* puedan controlar exitosamente

todas las infecciones arriba mencionadas (Brinker, 1993).

Propiedades de *Larrea tridentata* observadas *in vivo*. No son muchos los resultados generados *in vivo* con extractos, hojas o productos derivados de la gobernadora. Estudiando el efecto de residuos de *L. tridentata* sobre el hongo *Pythium aphanidermatum* y su efecto sobre la germinación y crecimiento de plántulas de frijol, Salazar *et al.* (1990) descubrieron que la muerte en la preemergencia fue más alta (80 al 100%) en los tratamientos inoculados con los patógenos, excepto en aquéllos donde se adicionó gobernadora, en los cuales el porcentaje de germinación fue del 100%. Al evaluar la supervivencia de plántulas de tomate trasplantadas en un suelo infestado con los patógenos *R. solani*, *Pythium aphanidermatum*, *Phytophthora capsici* Leonian y con sus combinaciones, García *et al.* (1997) encontraron un notable efecto en el abatimiento del porcentaje de incidencia de mortandad de plantas de chile (*Capsicum annuum* L.); lo anterior se observó cuando se adicionó gobernadora molida en polvo en proporción de 1% p/p. Estos autores señalan que tratándose de *P. capsici*, lograr un abatimiento tan importante en el porcentaje de mortandad (de 54% en ausencia de gobernadora a 6.25% cuando presente en 1%), es prácticamente imposible, sin la aplicación de fungicidas sistémicos de alto costo económico. Con la finalidad de evaluar el efecto de la gobernadora sobre patógenos radicales, Lara *et al.* (1997) sembraron bajo condiciones de invernadero semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Canario 107 en suelo previamente infestado con inóculo de *R. solani* y *P. aphanidermatum*, al cual se le agregó un polvo a base de hojas y ramas de gobernadora al 2% p/p. Ellos observaron que la muerte preemergente fue más alta (80 a 100%) en los tratamientos inoculados con los patógenos, excepto en los adicionados con gobernadora, en los cuales el porcentaje de germinación fue del 100%. El efecto de la gobernadora también se ha estudiado sobre hongos de almacén productores de aflatoxinas, tal es el caso de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. Vargas-Arispuro *et al.* (1997) encontraron que los mejores resultados se obtuvieron con el extracto de *Larrea* a 500 ppm obtenido con diclorometano, ya que inhibió en 92 y 86%, respectivamente, el crecimiento de los hongos antes mencionados. En cambio, el extracto metanólico tuvo poco efecto sobre el crecimiento de ambos patógenos. La acción benéfica de *L. tridentata* contra el ataque de los insectos en granos también ha sido documentado por Cortéz-Rocha *et al.* (1993). Ellos consignaron que la gobernadora provoca repelencia en insectos, ya que el gorgojo del frijol *Zabrotes subfasciatus* Bohemann fue significativamente menos atraído a granos de frijol tipo pinto que se mantuvieron almacenados y que previamente fueron tratados con polvo de hojas y flores de *L. tridentata*. Por otro lado, en un trabajo donde se utilizó la técnica de solarización más la incorporación al suelo de un extracto etanólico hidrosoluble de *L. tridentata* a razón de 20 kg ha⁻¹, Lira-Saldívar *et al.* (2003b) encontraron que las raíces de plantas de chile presentaron un ligero daño por

patógenos del suelo [*A. alternata* (Fr.:Fr.) Keissl., *Phytiun* sp. y *R. solani*], mientras que en el tratamiento con solarización sin adición de extracto etanólico las raíces de las plantas de chile mostraron un incremento de 134% en la severidad del daño. En cambio, el suelo no solarizado que tampoco recibió extracto de gobernadora reportó un incremento de 567% en el daño radical, en comparación con las plantas de parcelas solarizadas a las que se incorporaron 20 kg ha⁻¹ del extracto. Los estudios *in vivo* contra organismos fitopatógenos ya sea bajo condiciones de invernadero o campo son insuficientes, sin embargo, todos son consistentes al señalar un claro efecto inhibidor tanto de polvos de gobernadora, como de extractos de resina obtenidos con diversos solventes. Esta información es limitada, ya que sólo se ha investigado la incorporación al suelo de polvos de hojas de *Larrea* y de un extracto hidrosoluble; sin embargo, el estudio de polvos humectables o suspensiones acuosas, ya sea asperjados al suelo, o aplicados en el sistema de riego por goteo o aspersión, antes o después de la siembra para buscar un efecto preventivo o curativo no ha sido abordado. Trabajos experimentales enfocados a analizar el efecto de la resina de gobernadora contra microorganismos fitopatógenos del follaje tampoco han sido documentados. Poco o nada se conoce en relación con la época y dosis de aplicación, tanto para incorporar el producto al suelo como para aplicarlo al follaje; si los extractos se utilizaran para aplicarlos al follaje, es importante conocer si actúan como pesticidas de contacto o como sistémicos, y si tienen translocación basipétala o acropétala. Por las implicaciones para el follaje o frutos a cosechar es imperioso conocer la posibilidad de algún efecto fitotóxico. Debido a que es un producto de origen natural vegetal es necesario estudiar su tiempo de permanencia o degradación en el suelo. Seguramente las incógnitas que se plantean desde el punto de vista del manejo agronómico de los productos derivados de la gobernadora son más numerosas que las respuestas obtenidas hasta el momento, pero la amplia información generada con estudios realizados *in vitro* sobre una gran diversidad de microorganismos que atacan a plantas, animales y humanos, da la certeza de la bien documentada acción biocida de *L. tridentata*.

CONSIDERACIONES FINALES

Debido a que este arbusto perenne crece extensivamente en miles de km² de las zonas áridas, no se encuentra amenazado en esos ecosistemas, ni se aprovecha en la actualidad, la utilización racional de este recurso forestal no maderable se apegaría a la Ley Forestal. Su aprovechamiento controlado sólo implicaría cosechar o podar el tercio superior del follaje, lo cual no es detrimental para la planta, serviría para promoverle un mayor vigor y brotación de las yemas jóvenes que posteriormente producirían nuevas ramas, hojas y más follaje, que podría aprovecharse cada 2 ó 3 años. Es pertinente señalar que los agroquímicos sintéticos han sido efectivos para controlar microorganismos fitopatógenos, sin embargo, a pesar de ser efectivos, su uso continuado o repetido por

varias décadas ha roto el control biológico natural, ocasionando la aparición de plagas y enfermedades cada vez más resistentes, efectos indeseables en organismos benéficos, así como problemas ambientales y para la salud humana. Por esta razón, existe una clara necesidad de desarrollar nuevas alternativas de manejo bioracional, sin, o con una reducida cantidad de pesticidas convencionales. Diversas plantas con propiedades biocidas como *Larrea tridentata*, pueden representar buenas opciones potenciales para enfrentar plagas de gran importancia económica, ya que son fuente primordial de fitoquímicos bioactivos, además son biodegradables, y relativamente no tóxicos para humanos, animales y el medio ambiente.

Agradecimientos. Este material está basado en un trabajo apoyado por una subvención del Instituto México Estados Unidos de la Universidad de California (UC MEXUS) y el CONACYT, así como con recursos del Proyecto 20000601005 SIREYES-CONACYT. El autor también expresa su agradimiento a M.C. Roberto Gamboa-Alvarado, Q.F.B. Gloria Franciela Balvantín-García, Q.F.B. María del Rosario Sánchez-Ovalle, Ing. Jesús Cruz-Blasí, Ing. Jorge de Anda-Villareal, Dr. Francisco Daniel Hernández-Castillo, Dr. Raúl Guillermo López-Campos, M.C. Luis Alberto Villarreal-Cárdenas, Lic. Josefina Zamora-Rodríguez, T.L. María Angélica Martínez-Ortiz y M.C. Juana Estela Guerrero-Torres, por el apoyo técnico recibido, así como por el uso de materiales y equipo.

LITERATURA CITADA

- Balvantín, G.G.F. 2001. Extractos hidrosolubles de *Larrea tridentata* y su efecto inhibitorio en el crecimiento *in vitro* del hongo *Pythium* sp. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila, México. 59 p.
- Barbour, M.G. 1969. Age and space distribution of the desert shrub *Larrea divaricata*. Ecology 50:679-685.
- Barbour, M.G., Cunningham, G., Oechel, W.O., and Bamberg, S.A. 1977. Growth and development, form and function. pp. 48-91. In: T.J. Mabry, J.H. Hunziker, D.R.Jr. DiFeo (eds.). Creosote Bush Biology and Chemistry of *Larrea* in New World Deserts. US/IBP Synthesis Series 6.
- Dowden, Hutchinson & Ross Inc., Stroudsburg, PA, USA.
- Belmares, H., Barrera, A., Ramos de V.L.F., Castillo, E., and Motomochi, V. 1979. Research and development of *L. tridentata* as a source of raw materials. pp. 247-276. In: E. Campos, T.J. Mabry, and T.S. Fernández (eds.). LARREA. Serie El Desierto CIQA, Saltillo, Coahuila, México. 411 p.
- Brinker, F. 1993. *Larrea tridentata* (D.C.) Coville (Chaparral or Creosote Bush). British Journal of Phytotherapy 3:10-30.
- Clark, D. 1999. Treating Herpes Naturally with *Larrea tridentata*. Published by U.S. Botanicals. Tempe, Arizona, USA. 42 p.
- Cortez-Rocha, M.O., Sánchez-Mariñez, G., Villaescusa-Moreno, M.I., and Cinco-Moroyoqui, F.J. 1993. Plant powders as stored grain protectants against *Zabrotes subfasciatus* (Boheman). Southwestern Entomologist 18:73-75.
- Coyle, J., and Roberts, N.C. 1975. A Field Guide to the Common and Interesting Plants of Baja California. Natural History Publisher Company. La Joya, California, USA. 43 p.
- De Anda, V.J. 2003. Biofumigación con solarización y extracto de resina de *Larrea tridentata*: Una alternativa tecnológica para el control de malezas y nematodos en el cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* var. itálica). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 93 p.
- Downum, K.R., Dole, J., and Rodríguez, E. 1988. Nordihydroguaiaretic acid: inter-and intrapopulational variation in the Sonoran Desert creosote bush (*Larrea tridentata*, Zygophyllaceae). Biochemical Systematics and Ecology 16:551-555.
- Duisberg, P.C. 1952. Development of a feed from the creosote bush and the determination of its nutritive value. Journal of Animal Science 11:174-180.
- Fernández, S., Hurtado, L.M., and Hernández, F. 1979. Fungicidal components of creosote bush resin. pp. 351-355. In: Advances in Pesticide Science (ed. H. Geissbühler). Pergamon Press Oxford and New York.
- Gamboa-Alvarado R., Hernández, F.D., Guerrero, E., Sánchez, A., Villarreal, L.A., López, R.G., Jiménez, F., and Lira-Saldivar, R.H. 2003. Antifungal effect of *Larrea tridentata* extracts on *Rhizoctonia solani* Kühn and *Phytophthora infestans* Mont. (De Bary). PHYTON-International Journal of Experimental Botany 2003:119-126.
- García, E.R., Cordobilla, M. del P., Vega, S.M.L. y Tlalpal, B.B. 1997. Alelopática y control de enfermedades de la raíz en jitomate con la adición al suelo de gobernadora (*Larrea tridentata* L.). Avances de la Investigación. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. pp. 72-74.
- Gisvold, O. 1948. A preliminary survey of the occurrence of nordihydroguaiaretic acid in *Larrea divaricata*. Journal of the American Pharmacology Association 37:194-196.
- Gisvold, O., and Taker, E. 1974. Lignans from *Larrea divaricata*. Journal of Pharmacology Science 63:1905-1907.
- Gnabre, J.N., Brady, J.L., and Clanton D.J. 1995 Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 transcription and replication by NDA sequence-selective plant lignan. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 92:11239-11246.
- Gonzalez-Coloma, A., Wisdom, Ch.S., and Rundel, P.W. 1988. Ozone impact on the antioxidant nordihydroguaiaretic acid content in the external leaf resin of *Larrea tridentata*. Biochemical Systematics and

- Ecology 16:59-64.
- Gonzalez-Coloma, A., Wisdom, C.S., Sharifi, M.R., and Rundel, P.W. 1994. Water and nitrogen manipulations of the desert shrub *Larrea divaricata* subsp. *Tridentata* (Zygophyllaceae). Journal of Arid Environment 28:139-146.
- Greenfield, M.D., Shelly, T.E., and Downum, K.R. 1987. Variations in host-plant quality implications for territoriality in a desert grasshopper. Ecology 68:828-838.
- Huerta de la, P.A. 1986. Acción nematicida de la resina de gobernadora *Larrea tridentata* Coville en el guayule *Parthenium argentatum* Gray bajo cultivo. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 53 p.
- Janzen, D.H., Juster, H.B., and Bell, E.A. 1977. Toxicity of secondary compounds to the seed-eating larvae of the brunched beetle *Callosobruchus maculatus*. Phytochemistry 16:223-227.
- Kearney, T.H., and Peebles, R.H. 1951. Arizona Flora. 2nd. ed. University of California Press, Berkeley, California, USA. 61 p.
- Lara, H.M.E., García, E.R.G., Valdez, A.L.A. y Tlalpal, B.B. 1997. Efecto de la gobernadora sobre patógenos radicales. Avances de la Investigación. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. pp. 74-75.
- Lira-Saldivar, R.H., Gamboa-Alvarado, R., Villarreal-Cárdenas, L.A., López-Campos, R.G., and Jiménez-Díaz, F. 2002. Hydrosoluble extracts of *Larrea tridentata* from two desertic zones in the north of Mexico and their inhibitory effect on *Fusarium oxysporum*. PHYTON-International Journal of Experimental Botany 2002:167-172.
- Lira-Saldivar, R.H., Balvantín-García, G.F., Hernández-Castillo, F.D., Jasso-Cantú, D., and Díaz-Jiménez, F. 2003a. Evaluation of resin content and the antifungal effect of *Larrea tridentata* (Seese and Moc. Ex DC.) Coville extracts from two Mexican deserts against *Pythium* sp. Pringsh. Revista Mexicana de Fitopatología (in press).
- Lira-Saldivar, R.H., Cruz-Blasi, J., Hernández-Castillo, F.D., Jiménez-Díaz, F., Flores-Olivas, A., and Gallegos-Morales, G. 2003b. Soil solarization and *Larrea tridentata* extract as a biocontrol agent on root damage and epidemiology of pepper plants. PHYTON-International Journal of Experimental Botany 2003:59-64.
- Lira-Saldivar, R.H., Sánchez, M.R., Gamboa R., Jasso, D., and Rodríguez, R. 2003c. Fungitoxic effect of *Larrea tridentata* resin extracts from the Chihuahuan and Sonoran Mexican deserts on *Alternaria solani*. Agrochimica 47:55-60.
- Mabry, T.J., DiFeo, D.R.Jr., Sakakibara, M., Bohnstedt, C.F., and Siegler, D. 1977. Biology and chemistry of *Larrea*. pp. 115-134. In: T.J. Mabry, J.H. Hunziker, D.R.Jr. DiFeo (eds.). Creosote Bush Bush-Biology and Chemistry of *Larrea* in New World Deserts. US/IBP Synthesis Series 6. Dowden, Hutchinson and Ross Inc., Stroudsburg, PA, USA.
- Meinzer, F.C., Wisdom, C.S., González-Coloma, A., Rundel, P.W., and Shultz, L.M. 1990. Effects of leaf resin on stomatal behavior and gas exchange of *Larrea tridentata* (D.C.) Cov. Functional Ecology 4:579-584.
- Montes-Belmont, R., Cruz-Cruz, V., Martínez-Martínez, G., Sandoval-García, G., García-Licona, R., Zilch-Domínguez, S., Bravo-Luna, L., Bermúdez-Torres, K., Flores-Moctezuma, H.E. y Carvajal-Moreno, M. 2000. Propiedades antifúngicas en plantas superiores. Análisis retrospectivo de investigaciones. Revista Mexicana de Fitopatología 18:125-131.
- Partini, R.S., Kim, C.H., Biagini, R., Morris, R.J., and Fletcher, D.C. 1973. Inhibition of mitochondrial electron-transport systems by nor-isoguaiasins. Biochemistry Pharmacology 22:1921-1925.
- Rhoades, D.F. 1977. The antiherbivore chemistry of *Larrea*. pp. 135-175. In: T.J. Mabry, J.H. Hunziker, D.R.Jr. DiFeo (eds.). Creosote Bush Bush-Biology and Chemistry of *Larrea* in New World Deserts. US/IBP Synthesis Series 6. Dowden, Hutchinson and Ross Inc., Stroudsburg, PA, USA.
- Rivera-Castañeda, G., Martínez-Téllez, M.A., Vallejo-Cohen, S., Alvarez-Manzanilla, G., Vargas-Arispuro, I., Moya-Sanz, P., and Primo-Yúfera, E. 2001. *In vitro* inhibition of mycelial growth of *Tilletia indica* by extracts of native plants from Sonora, Mexico. Revista Mexicana de Fitopatología 19:214-217.
- Rundel, P.W., Sharifi, M.R., and González-Coloma, A. 1994. Resource availability and herbivory in *Larrea tridentata*. pp. 105-114. In: M. Arianoustou and R.H. Groves (eds.). Plant-Animal Interactions in Mediterranean-Type Ecosystems. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Sakakibara, M., DiFeo, D.Jr., Nakatani, N., Timmerman, B., and Mabry, T.J. 1976. Flavonoid methyl ethers on the external leaf surface of *Larrea tridentata* and *L. divaricata*. Phytochemistry 15:727-731.
- Salazar, H.F.J., García, E.R. y Talalpal, B.B. 1990. Efecto de la incorporación de residuos secos de plantas de gobernadora (*Larrea tridentata*) y epazote (*Chenopodium ambrosioides* L.) en suelos infectados con *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani*, en la germinación y crecimiento de plantas de frijol. Revista Mexicana de Fitopatología 9:102-104.
- Seigler, D.S., Jakupcak, J., and Mabry, T.J. 1974. Wax esters from *Larrea divaricata*. Phytochemistry 13:983-986.
- Shreve, F., and Wiggins, I.L. 1964. Vegetation and Flora of the Sonoran Desert. Vol. II. Stanford University Press. Stanford, California, USA. 75 p.
- Tappel, A.L., and Marr, A.G. 1954. Antioxidants and enzymes-effect of alpha-tocopherol, propyl gallate and nordihydroguaiaretic acid on enzymatic reactions. Journal of Agriculture and Food Chemistry 2:554-558.
- Valesi, A.G., Rodríguez, E., Vander-Velde, G., and Mabry, T.J. 1972. Methylated flavonols in *Larrea cuneifolia*. Phytochemistry 11:2821-2826.

- Van Davender, T.R. 1990. Late quaternary vegetation and climate of the Chihuahuan desert, United States and Mexico. pp. 104-129. In: J.L. Betancourt, T.R. Van Davender, and P.S. Martin (eds.). *Pack Rat Middens: the Last 40,000 Years of Biotic Change*. The University of Arizona Press. Tucson, Arizona, USA.
- Vargas-Arispuro, I., Araujo-Bernal, S., Martínez-Téllez, M.A. y Ortega-Nieblas M. 1997. Efecto de extractos de plantas sobre el crecimiento y producción de aflatoxinas de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 15:91-95.
- Velásquez, M.J.L. 1983. Evaluación del poder bactericida o bacteriostático de la fracción etanólica de la resina de gobernadora contra las bacterias fitopatógenas *Erwinia amylovora*, *E. atroséptica* y *Pseudomonas solanacearum*. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 57 p.
- Velásquez, V.R. 1981. Evaluación de la actividad fungicida de la resina de gobernadora sobre *Eutypa armeniacae* Hans and Carter. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 48 p.
- Verástegui, M.A., Sánchez, C.A., Heredia, N.L., and García-Alvarado, J.S. 1996. Antimicrobial activity of extracts of three major plants from the Chihuahuan desert. *Journal of Ethnopharmacology* 52:175-177.
- Wisdom, C.S., Gonzalez-Coloma, A., and Rundel, P.W. 1987. Ecological tannin assays: evaluation of proanthocyanidins, protein binding assays and protein precipitating potential. *Oecologia* 72:395-401.
- Xue, H.Z., Lu, Z.Z., Cono C., Soejarto, D.D., Cordell, G.A., Fong, H.H.S., and Hodgson, W. 1988. 3-Beta-(3,4-Dihydroxycinnamoyl)-Eritrodiol and 3-Beta-(4-Hydroxycinnamoyl)-Erythrodiol from *Larrea tridentata*. *Phytochemistry* 27:233-235.
- Zamora, J.M. 1988. Cytotoxic, antimicrobial and phytochemical properties of *Larrea tridentata* Cav. Doctoral dissertation. Auburn University, Auburn, Alabama, USA. 82 p.