



**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO**  
**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CONKAL**

**EXTRACTOS DE PLANTAS NATIVAS DE LA PENÍNSULA DE  
YUCATÁN CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA CONTRA HONGOS DE**  
*Solanum lycopersicum*

**TESIS**

Que presenta:

**Alejandra Anahy Arjona Cruz**

Como requisito parcial para obtener el grado de:

**Licenciada en Biología.**

Director de tesis:

**Dra. Felicia Amalia Moo Koh**

Conkal, Yucatán, México

Diciembre, 2022.



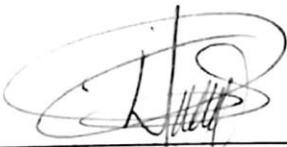
**TecNM**



La presente Tesis fue realizada por Alejandra Anahy Arjona Cruz de la carrera de Licenciatura en Biología, con orientación en Manejo Biorracional de Parásitos y con el número de control 15800203, con el título “Extractos de plantas nativas de la Península de Yucatán con actividad antifúngica contra hongos de *Solanum lycopersicum*”, la cual fue dirigida, asesorada y revisada por el comité que fue asignado en su oportunidad, y cuyos integrantes firman su consentimiento para que este trabajo sea presentado como requisito parcial para la titulación, de acuerdo al Proceso de Titulación Integral y al Manual de Lineamientos Académicos-Administrativos del Tecnológico Nacional de México.

DIRECTORA  \_\_\_\_\_

Dra. Felicia Amalia Moo Koh

ASESOR  \_\_\_\_\_

Dr. Jairo Cristobal Alejo

REVISOR  \_\_\_\_\_

Dr. Arturo Reyes Ramirez

Conkal, Yucatán. Diciembre 2022.

## DEDICATORIAS

A **DIOS**, por guiarme en el camino correcto cada que me sentía perdida, por sentir su presencia en cada momento de angustia y por siempre cuidarme y bendecirme.

A mi esposo: **JESÚS EVIA CANCHÉ**, porque sin su apoyo esto no sería posible, por su paciencia y consejos, por ser mi fuerza y motivo, por siempre darme ánimos y estar para mí cada que lo necesito. ¡Lo logramos Chu! Tú sabes lo que todo esto significa. ¡Te amo!

A mis padres: **JUAN DIEGO ARJONA ESTRELLA Y CONCEPCIÓN CRUZ CANUL**, por siempre estar para mí, por darme la vida y por ser mi ejemplo de perseverancia, por llenarme de valores y consejos que me han llevado hasta donde estoy. Esto es mío, nuestro, de ustedes. ¡Los amo!

A mi hermanita: **KAROL ARJONA CRUZ**, por estar ahí siempre que la necesito y por sólo el hecho de ser mi hermanita. ¡Te quiero negris!

## AGRADECIMIENTOS

Al **Tecnológico Nacional de México/ Campus Conkal**, Yucatán por haberme dado la oportunidad de realizar mis estudios de licenciatura y contribuir en mi formación profesional.

A la **Dra. Felicia Amalia Moo Koh**, por haber dirigido esta tesis, por su tiempo, paciencia y dedicación para la elaboración de la misma, por los conocimientos adquiridos a través de ella, por sus consejos y disponibilidad en todo momento, pero sobre todo por la amistad forjada y la confianza que en mi depositó.

Al **Dr. Jairo Cristóbal Alejo** por sus consejos, asesoría y observaciones brindadas para la elaboración de este trabajo.

A mis compañeras del Laboratorio de Fitopatología **Nahila, Maryjose, María y Esthefany** que siempre estuvieron ahí para ayudarme, pero sobre todo por su amistad incondicional y los momentos tan gratos que pasamos.

## RESUMEN

Los extractos de plantas nativas son una alternativa potencial para el control de fitopatógenos en cultivos hortícolas. Con el objetivo de evaluar extractos acuosos de plantas nativas del estado de Yucatán con actividad antifúngica en el cultivo de *Solanum lycopersicum* y su inocuidad contra organismos benéficos, se determinó la efectividad *in vitro* e *in vivo* de 11 extractos acuosos contra hongos aislados de *S. lycopersicum*. En el primer caso, se evaluó la inhibición de crecimiento micelial, esporulación y germinación de conidios; en el segundo caso, el control de *Corynespora cassiicola* en plantas de tomate en invernadero. Se estimó la severidad de la enfermedad en tres evaluaciones durante 21 días, con la ayuda de una escala pictórica-diagramática para *C. cassiicola* en el cultivo indicado. Los resultados *in vitro* mostraron con el extracto de *Croton chichenensis* mayor efectividad contra los organismos con rango 99.2-100% en la primera variable, 100% en la segunda y 70.5-100% en la tercera, superior que con *Mosanona depressa* (tallo y raíz) y *Bonellia flammea* (tallo) quienes demostraron similar rango de inhibición. Se aplicó una dosis al 12% de extracto de *C. chichenensis* a plantas de tomate en condiciones protegidas con la que se estimó menor severidad de la enfermedad, respecto al testigo sin la aplicación del extracto.

## ABSTRACT

Native plant extracts are a potential alternative for the control of phytopathogens in horticultural crops. In order to evaluate aqueous extracts of native plants from the state of Yucatan with antifungal activity in *Solanum lycopersicum* and their safety against beneficial organisms, the in vitro and in vivo effectiveness of 11 aqueous extracts against fungi isolated from *S. lycopersicum* was determined. In the first case, the inhibition of mycelial growth, sporulation and germination of conidia was evaluated; in the second case, the control of *Corynespora cassiicola* on tomato plants in greenhouses was evaluated. Disease severity was estimated in three evaluations during 21 days, with the help of a pictorial-diagrammatic scale for *C. cassiicola* in the indicated crop. The in vitro results showed that *Croton chichenensis* extract was more effective against the organisms with a range of 99.2-100% in the first variable, 100% in the second and 70.5-100% in the third, higher than *Mosanona depressa* (stem and root) and *Bonellia flammea* (stem), which showed a similar range of inhibition. A 12% dose of *C. chichenensis* extract was applied to tomato plants under protected conditions, with which less severity of the disease was estimated, compared to the control without the application of the extract.

## INDICE DE CONTENIDO

	<b>Página</b>
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INDICE DE CONTENIDO	7
INDICE DE TABLAS	10
INDICE DE FIGURAS	11
I. INTRODUCCIÓN	13
II. OBJETIVOS	14
2.1. Objetivo general	14
2.1.1. Objetivo específico	14
III. Hipótesis	15
IV. FUNDAMENTO TEÓRICO	16
4.1 Plantas nativas con potencial biológico en México	16
4.2 Evaluación <i>in vitro</i> de extractos vegetales contra hongos fitopatógenos.	17
4.3 Extractos vegetales a partir de plantas nativas	18
4.4 Hongos fitopatógenos en el cultivo de <i>S. lycopersicum</i>	21
4.5 Mancha foliar del tomate ( <i>Corynespora cassiicola</i> )	21
4.5.1 Síndrome	21

4.6. Compatibilidad de extractos vegetales con organismos antagonistas de fitopatógenos	22
<b>V. DESARROLLO DEL PROYECTO</b>	<b>26</b>
5.1. Recolecta del material vegetal	26
5.2. Organismos en estudio	26
5.3. Obtención de extractos	27
5.3.1 Extractos acuosos	27
5.4 Determinación de actividad antifúngica <i>in vitro</i> de los extractos vegetales	27
5.5 Evaluación de fitotoxicidad del extracto acuoso de <i>C. chichenensis</i> en <i>S. lycopersicum</i>	29
5.6 Determinación de compatibilidad <i>in vitro</i> del extracto acuoso de <i>C. chichenensis</i> con organismos benéficos	30
5.7 Elaboración de escala pictórica-diagramática de la mancha foliar en tomate	32
5.8 Evaluación del extracto acuoso de <i>C. chichenensis</i> con actividad antifúngica en condiciones protegidas	33
5.8.1 Aplicación de los extractos	34
5.9 Análisis de datos	35
<b>VI. RESULTADOS</b>	<b>36</b>
6.1 Actividad extractos acuosos contra cuatro hongos fitopatógenos de <i>S. lycopersicum</i>	36

6.2 Fitotoxicidad de <i>Croton chichenensis</i> en <i>Solanum lycopersicum</i>	45
6.3 Determinación de la compatibilidad del extracto de <i>C. chichenensis</i> al 12% contra organismos benéficos	47
6.4. Determinación de la severidad de la mancha foliar en <i>S. lycopersicum</i> en condiciones protegidas	49
VII. CONCLUSIONES	53
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

## INDICE DE TABLAS

		<b>Página</b>
Tabla 1.	Fitopatógenos en estudio aislados de <i>S. lycopersicum</i>	26
Tabla 2.	Organismos promotores de crecimiento vegetal utilizados en el estudio de compatibilidad <i>in vitro</i>	30
Tabla 3.	Insecticidas utilizados en el mantenimiento del cultivo de tomate	34
Tabla 4.	Inhibición (%) del crecimiento micelial de hongos fitopatógenos con extractos acuosos de especies vegetales.	37
Tabla 5.	Inhibición (%) de la esporulación de conidios de hongos fitopatógenos con extractos acuosos de especies vegetales	38
Tabla 6.	Inhibición (%) de la germinación de conidios de hongos fitopatógenos con extractos acuosos de especies vegetales	39
Tabla 7.	Efecto de tratamiento en la severidad final la mancha foliar del tomate causada por <i>C. cassicola</i>	49

## INDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
Figura 1. Técnica del estriado utilizada para la siembra de <i>B.subtillis</i> .	31
Figura 2. Escala logarítmica diagramática para la evaluación del patosistema <i>C. cassiicola</i> - <i>S. lycopersicum</i>	33
Figura 3. Distribución de los tratamientos en bloques. E= extracto acuoso <i>C. chichenensis</i> , T= Testigo (agua).	35
Figura 4. Efecto del extracto acuoso de <i>C. chichenensis</i> en la inhibición del crecimiento micelial de hongos fitopatógenos de tomate (Izq.control/der. extracto)	40
Figura 5. Efecto del extracto acuoso de <i>M. depressa</i> en la inhibición del crecimiento micelial de cuatro hongos fitopatógenos de tomate (Izq. control/ der. extracto).	41
Figura 6. Efecto del extracto acuoso de <i>B. flammea</i> en la inhibición del crecimiento micelial de hongos fitopatógenos de tomate (Izq.control/der. extracto)	42
Figura 7. Efecto del extracto acuoso del tallo de <i>M. depressa</i> en los conidios de hongos fitopatógenos de tomate (Izq.control/der. extracto)	43
Figura 8. Efecto del extracto acuoso de <i>C. chichenensis</i> al 12% sobre hojas de <i>Solanum lycopersicum</i> después de siete días de aplicación.	46
Figura 9. Compatibilidad de <i>T. asperellum</i> (Ta 13-17) y <i>B. subtillis</i> con el extracto de <i>C. chichenensis</i> al 12% (Extracto a y c, Testigo b y d).	47

Figura 10. Efectividad del extracto acuoso de *C. chichenensis* (12%) en el 50 biocontrol de la mancha foliar en *S. lycopersicum* (Testigo a, Extracto b).

## I. INTRODUCCIÓN

Los sistemas agrícolas son afectados por el abuso de agroquímicos al controlar el ataque de maleza, plagas y enfermedades, lo que ha generado problemas en la salud humana y ambientales como la reducción de la biodiversidad y la pérdida en la salud del suelo (Gan y Wickings, 2017).

Nuevas alternativas de control biológico se están desarrollando, que incluyen estimulantes de la defensa en las plantas, técnicas de control biológico y derivados de productos naturales, a los que se les llaman bioinsumos (insecticidas, herbicidas, acaricidas, nematocidas y fungicidas) (Sharma y Malik, 2012; Isman y Grieneisen, 2014; Ordanza, 2017).

Estas alternativas implican el uso de tecnologías con bajo impacto ambiental y que permiten reducir significativamente la aplicación de plaguicidas sintéticos. En un contexto de manejo integrado, la utilización de extractos vegetales representa una alternativa para el control de plagas y enfermedades en los cultivos (Batista *et al.*, 2015).

En la península de Yucatán, se ha llevado a cabo investigaciones de extractos de plantas nativas, que reducen la presencia de plagas y enfermedades, entre ellas los de *Eugenia winserlingii*; con efecto contra *Myzus persicae* y *Bemisia tabaci* y *Meloidogyne incognita*. En otro estudio con 40 plantas nativas de Yucatán, en la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium equiseti* y *F.oxysporum*, tres resultaron eficaces: *Mossanona depressa*, *Parathesis cubana* y *Piper neesianum*. También, el extracto acuoso de *Bonellia flammea*, mostró actividad inhibitoria contra hongos fitopatógenos (Moo *et al.*, 2014; Cruz *et al.*, 2019; Cruz *et al.*, 2020).

## II. OBJETIVOS

### 2.1 General

Evaluar extractos acuosos de plantas nativas del estado de Yucatán con actividad antifúngica en el cultivo de *Solanum lycopersicum* y su inocuidad contra organismos benéficos.

#### 2.1.1 Específicos

- Determinar la actividad antifúngica *in vitro* de extractos vegetales acuosos de la península de Yucatán
- Estimar el control de *Corynespora cassicola* en el cultivo del *Solanum lycopersicum* con la aplicación de un extracto vegetal acuoso.
- Determinar *in vitro* la compatibilidad de los extractos vegetales acuosos con *Trichoderma asperellum* y *Bacillus subtilis*.

## II. HIPÓTESIS

Los extractos vegetales acuosos *in vitro* inhiben el crecimiento de hongos fitopatógenos de *S. lycopersicum* y reducen la severidad causada por *C. cassicola* en follaje, y son compatibles con *T. asperellum* y *B. subtilis*.

## IV. FUNDAMENTO TEÓRICO

### 4.1. Plantas nativas con potencial biológico en México

México por su diversidad vegetal de 23, 314 especies, lo ubica en el cuarto lugar, después de Brasil, China y Colombia, al menos el 50% de estas especies, son endémicas del país (Villaseñor, 2016). Lo anterior conduce a la exploración de alternativas naturales de control de enfermedades, estas alternativas son el uso de extractos vegetales a partir de plantas nativas; y con los que se ha obtenido resultados prometedores. Estos extractos, tienen las ventajas de poseer un origen biológico, ser degradables y causar un mínimo impacto negativo sobre la salud humana y el ambiente (Bravo *et al.*, 2000; Montes, 1996; Vázquez *et al.*, 1996)

La familia con mayores reportes de actividad biológica es Piperaceae, lo que las convierte en una de las familias con mayor exploración de extractos o compuestos con aplicaciones en los problemas fitosanitarios. Las plantas como parte de su metabolismo secundario producen compuestos denominados metabolitos secundarios, los cuales tienen un papel como agentes de control biológico; una aproximación de identificación de metabolitos de valor práctico se puede tener al identificar plantas que son resistentes al ataque de insectos y separar sus principios activos. En Myrtaceae, Asteraceae y Piperaceae se estudiaron por los terpenoides y grupos de amidas con efecto antialimentario, repelente e insecticida, lo que inhiben el desarrollo y el crecimiento de insectos del orden Lepidóptera (Baladrin *et al.*, 1985 y Srivastava *et al.*, 2001).

## 4.2 Evaluación *in vitro* de extractos vegetales contra hongos fitopatógenos

Las plantas sintetizan una variedad de compuestos de diversos grupos funcionales, llamados metabolitos secundarios, los cuales se pueden producir de forma natural como mecanismos de defensa, el proceso para obtenerlos es variable, se pueden obtener extractos acuosos (Bautista *et al.*, 2004) o utilizar disolventes para obtener compuestos, según su polaridad (Abou-Jawdah *et al.*, 2002). Se considera que la mayoría de los compuestos obtenidos de las plantas son biodegradables e inoos.

En condiciones *in vitro* los extractos pueden inhibir el crecimiento micelial, la formación y la germinación de esporas de hongos, de modo que ayudan al control de enfermedades fúngicas (Hernández *et al.*, 2007). A continuación, se mencionan algunas de las evaluaciones con extractos vegetales, los cuales mostraron el potencial contra hongos fitopatógenos.

López *et al.* (2005) evaluaron el efecto inhibitorio de extractos acuosos de ajo (*Allium sativum* L.), gobernadora (*Larrea tridentata* Sessé & Moc. ex DC.), clavo (*Syzygium aromaticum* L.) y canela (*Cinnamomum zeylanicum* L.), en concentraciones de 5 y 10%, sobre el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Verticillium dahliae*; los extractos mostraron una tendencia a incrementar su efecto inhibitorio con el aumento de la concentración.

Con el extracto de tomillo (*Thymus vulgaris* L.) contra *F. oxysporum*, las evaluaciones *in vitro* mostraron una inhibición del crecimiento micelial en un 74% (Lizcano 2007). Así mismo, Barrera y García (2008), evaluaron el aceite de *T. vulgaris* contra *Fusarium* spp. en frutos de papaya (*Carica papaya* L.) y comprobaron que el aceite de tomillo ejerció total inhibición del crecimiento micelial a dosis de 200, 250 y 300  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

En la última década, los estudios sobre productos botánicos para el control de hongos fitopatógenos se han incrementado notablemente (Dellvalle *et al.*, 2011; Gahukar 2012; Talibi *et al.*, 2012). Las Familias de plantas que han sido estudiadas por sus propiedades antifúngicas son *Acanthaceae*, *Amaryllidaceae*, *Apocynaceae*, *Asteraceae*, *Euphorbiaceae*, *Lamiaceae* y *Meliaceae* (Gahukar 2012; Ravikumar y Garampalli 2013; Zaker, 2013).

#### **4.3 Extractos vegetales a partir de plantas nativas.**

Estudios con extractos, son los realizados con 98 especies vegetales pertenecientes a 46 familias botánicas (7 monocotiledóneas; 46 dicotiledóneas; 1 conífera y 2 pteridofitas) para determinar su posible efecto fungicida o bactericida. Nueve de los extractos (ajo, cebolla, quebracho colorado, agríal, palo santo, chirca, guayaba, eucalipto y pino) demostraron inhibición de 100% crecimiento de la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. La inhibición del crecimiento fungoso solo se obtuvo con extractos de ajo y cebolla (utilizados como referencia), así como con el extracto de mamón contra *Colletotrichum* sp. (Stauffer *et al.*, 2000). El extracto de ajo tuvo efecto inhibitor sobre seis hongos y un oomyceto (*Penicillium italicum*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium* sp., *R. solani*, *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp. y *Pythium* sp.). El efecto con cebolla fue menor en intensidad ya que solo afectó a *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp. y *Pythium* sp. (Aquinos y Stauffer, 2000).

A partir de hojas de dos *Euphorbiaceae* (*Croton rhamnifolius* var. *Caudatus* y otra aún sin identificar) y una *Sterculiaceae* (*Waltheria* sp.), se evaluaron contra *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici*, causante de la marchitez del tomate; los resultados mostraron un potencial de

uso de estos extractos en un programa de control del patógeno (Rodríguez *et al.*, 2003 y García *et al.*, 2006).

Con *Bonellia flammea*, evaluaron *in vitro* el extracto acuoso al 3% contra diez hongos fitopatógenos, y tuvo una actividad inhibitoria en *Curvularia verruculosa*, *Curvularia lunata*, *Exserohilum rostratum*, *Bipolaris setariae*, *Corynespora cassiicola*, *Lasiodiplodia parva*, con un rango de inhibición de 20-100% en el crecimiento micelial, 58-100% en la esporulación de conidios y 73-100% en la germinación de conidios (Moo *et al.*, 2014).

Por su parte, Caamal (2014) con raíz de *Acalypha gaumeri*, evaluó *in vitro* el extracto acuoso al 3% y etanólico a dosis de 2 mg mL<sup>-1</sup> contra 10 hongos fitopatógenos; dos aislados de *Curvularia lunata*, dos de *Fusarium oxysporum*, dos aislados de *Fusarium equiseti*, y uno de *Sethosphaeria rostrata*, *Nigrospora oryzae*, *Helminthosporium speciferum*, *Alternaria* sp. Los resultados mostraron una inhibición en el crecimiento micelial de 11.04% y 18.60% en *C. lunata* y *H. speciferum* aislados de la planta de *Eustoma grandiflorum*. Además, se observó que promovió en el crecimiento micelial y en la producción de esporas en algunos hongos.

Otro trabajo *in vitro* con raíz de *A. gaumeri* fue el de Vargas (2014), quien evaluó los extractos etanólicos (75%) y acuosos (50%), también utilizaron el extracto acuoso (>50%) de la corteza de *B. flammea* contra *A. chrysanthemi*. *A. gaumeri* inhibió el crecimiento micelial de *Curvularia* sp. (ITC10) del 78.12%. Además, los extractos acuosos fueron evaluados en cultivo de Crisantemo con una reducción de la enfermedad hasta de un 67 y 49%.

Hoil (2016) evaluó el efecto antifúngico *in vitro* e *in vivo* del extracto acuoso de *B. flammea* contra hongos postcosecha. Los hongos en estudio fueron *Penicillium oxalicum* y *Curvularia lunata* (aislado de *C. chinense*); *A. brassicicola*, *C. capsici*, *C. truncatum* y *A. alternata* (aislado de *C. annuum*). La mayor efectividad *in vitro* del extracto se obtuvo en la variable de inhibición de la germinación de esporas de *P. oxalicum*, *C. lunata*, *A. brassicicola* y *C. capsici* con intervalos de inhibición 60-100%.

Pérez (2019) evaluó los extractos etanólicos de *Mosanona depressa*, *Calea jamaicensis*, *Croton chichenensis* y *Acalypha gaumeri* contra *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *F. equiseti* y *C. lunata* provenientes de semillas de *C. chinense*. Los extractos de *C. jamaicensis*, *C. chichenensis*, *A. gaumeri* y *M. depressa* (tallo), mostraron una efectividad del 100% en la cepa de *C. lunata* (ITC C02), mientras que el de *M. depressa* (raíz) fue efectivo en un 76%.

Otro estudio con los extractos etanólicos de *M. depressa* (hoja y raíz) contra *A. alternata*, *A. brassicicola*, *C. capsici*, *C. truncatum* y *P. oxalicum*, mostró el potencial fungicida en el control de fitopatógenos poscosecha de *Capsicum* spp. específicamente contra *P. oxalicum* (Godoy, 2019).

Cruz *et al.* (2020) evaluaron extractos etanólicos y acuosos, obtenidos de 40 plantas nativas tropicales de Yucatán y de diferentes partes vegetativas. Los extractos se evaluaron contra *F. equiseti* (FCHE) y *Fusarium oxysporum* (FCHJ) aislados de raíces de plántulas chile habanero (*C. chinense* Jacq.). En el estudio seis extractos fueron efectivos. El extracto etanólico de *M. depressa* (corteza de tallos y raíces), *Parathesis cubana* (raíces) y *Piper neesianum* (hojas) inhibieron el crecimiento micelial de los hongos.

#### **4.4 Hongos fitopatógenos en el cultivo de *S. lycopersicum***

Los hongos fitopatógenos, anualmente destruyen un tercio de las cosechas producidas. Específicamente en: arroz, trigo, maíz, papa y soya, que a nivel mundial son de los más importantes. Si estos cinco cultivos fueran infectados simultáneamente, a tal grado de que toda la planta se perdiera, más del 60% de la población mundial no tendría qué comer. Dentro de los géneros de hongos que atacan a estos cultivos se encuentran: *Fusarium*, *Giberella*, *Rhizoctonia*, *Verticillium*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Curvularia* y *Corynespora* entre otros.

Las enfermedades causadas por hongos causan una amplia variedad de síntomas, pueden producir manchas cloróticas y necróticas, cribados, canchales, tizones, podredumbres húmedas o secas, momias, agallas, abolladuras, costras, ahogamientos, marchitamientos y pústulas. Entre las principales enfermedades que se presentan en el cultivo de tomate se encuentran las causadas por hongos, virus y nematodos (Martín, 2015).

#### **4.5 Mancha foliar del tomate (*Corynespora cassicola*)**

##### **4.5.1 Síndrome**

La enfermedad de la mancha foliar es inducida por *C. cassicola* este se presenta como pequeñas lesiones necróticas con centros de color café claro y márgenes oscuros. Los síntomas suelen comenzar dentro del dosel de la planta, también puede presentarse como manchas necróticas concéntricas con un estrecho halo amarillo. En los frutos maduros se observan manchas redondas, hundidas, con los centros agrietados, cubiertas por una vellosidad negra (conidios). Estas manchas pueden tener hasta 2 cm de diámetro. Por lo general *C. cassicola* es favorecida por temperaturas de 16-32°C. Además de que este

patógeno tiene una amplia gama de hospederos que incluyen: pepino, soya, papaya y ornamentales (Martín, 2015).

La enfermedad se presenta con manchas en las hojas en forma de punto, elíptica o irregular de color café en el centro produciendo una necrosis extensiva en haz y en el envés, generalmente en los bordes de las hojas, con halos cloróticos frecuentemente alrededor de las lesiones. Los síntomas más frecuentes son observados en hojas, sin embargo, también afecta tallos y frutos. Es una especie cosmopolita especialmente en trópicos puede atacar al menos 530 especies pertenecientes a 380 géneros. Entre sus hospederos se encuentran: soya, gramíneas, chile, pepino, tomate, papaya, melón, sandía, sorgo y una gran variedad de cultivos de los trópicos y subtropicos (Jayasuriya y Thennakoon, 2007; Kurt, 2005; Shimomoto *et al.*, 2008). Los principales fungicidas utilizados para su control son: azoxistrobin, carbendazim, cloratalonil y mancozeb (Thomson, 2004).

En medio de cultivo, el crecimiento micelial es gris o marrones oliváceos. Micelio sin estroma, con conidióforos de color marrón, derechos o curvos, de 110–850  $\mu\text{m}$  de largo y de 4–11  $\mu\text{m}$  de ancho. Conidios solitarios o muy variables en forma, obclavados o cilíndricos, rectos o curvos, de color olivo, gris con 4–20 pseudoseptas con 40–220  $\mu\text{m}$  de largo y 9–22  $\mu\text{m}$  de ancho y 4–8  $\mu$  de ancho en la base (Ellis, 1993).

#### **4.6 Compatibilidad de extractos vegetales con organismos antagonistas de fitopatógenos**

La combinación de organismos antagónicos con extractos vegetales es efectiva en el manejo integrado de plagas y enfermedades, por esta razón, es importante realizar evaluaciones de compatibilidad *in vitro*. Estudios reportan la compatibilidad de especies de *Trichoderma* con fungicidas y extractos vegetales, sin embargo, son pocos los estudios documentados (Sánchez

*et al.*, 2021). A continuación, se mencionan evaluaciones de antagonismo y compatibilidad, de especies de *Trichoderma* y *Bacillus*.

Gomez *et al.* (2003) realizaron evaluaciones *in vitro* del efecto tóxico de extractos vegetales acuosos de barbasco (*Phyllanthus* sp), neem (*Azadirachta indica*) y cempazuchil (*Tagetes patula*) sobre *Trichoderma* y *Metarhizium* utilizando diferentes concentraciones (0%, 10%, 15% y 20%). Los extractos de neem, barbasco y cempazuchil en un 15%, causaron inhibiciones entre un 10-50% en *Trichoderma*; estos extractos a la misma concentración con *Metarhizium* indujeron un rango de inhibición del 32-50%; por lo que ninguno extractos afectó a estos hongos benéficos.

Con los extractos etanólicos de neem al 2.25% y orégano (*Lippia organoides*) al 37 % y 75%, y la combinación de ambos extractos al 75%, fueron evaluados en compatibilidad *in vitro* con *T. harzianum*. Como resultado se obtuvo compatibilidad potencial de *T. harzianum* con respecto a neem al 37%, y a la combinación de ambos extractos al 75%, lo que sugiere que los extractos vegetales y *Trichoderma* pueden ser utilizados en el manejo integrado de enfermedades (Alvarado *et al.*, 2011).

En condiciones *in vitro* se evaluó el extracto de neem, pulsiana (*Melia azederach* Lin), salvia (*Salvia officinalis* L) y *T. harzianum* frente a *F. oxysporum* aislado de *Coffea arabica* en concentraciones de 0.6%, 1.25% y 1.9% de extractos vegetales y *T. harzianum* ( $2.5 \times 10^9$  conidios·mL). Los porcentajes de inhibición de crecimiento micelial fue mayor en el hongo que en los extractos a la dosis más alta. En *T. harzianum* el porcentaje fue del 70%; seguido por las mayores concentraciones de pulsiana y salvia a una concentración de 1.9% (Revilla *et al.*, 2020).

Aislados de *T. aggressivum* f. *europaeum* previnieron la aparición de síntomas foliares causados por *Botrytis cinerea*, *S. sclerotiorum* y *Mycosphaerella melonis* en los cultivos de pimiento y tomate, con 100, 100 y 93%, respectivamente. A la par fue comparado con Cambiar (ciprodinil 37,5% y fludioxonil 25% (WG) p / p; a 600 ppm), este estudio por la compatibilidad de *T. aggressivum* f. *europaeum* con fungicidas se recomendó uso en combinación como estrategia de manejo de diferentes enfermedades foliares (Sánchez *et al.*, 2021).

Bacterias del género *Bacillus* son clasificadas como promotores de crecimiento vegetal, su evaluación en compatibilidad con extractos vegetales constituye la base para su implementación en el manejo integrado de enfermedades. Estudios de extractos vegetales en compatibilidad con *Bacillus* son los de Colivet y Genette (2006), quienes evaluaron el efecto inhibitorio *in vitro* de extractos etanólicos, etéreos y acuosos de frutos de *C. chinense* sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Bacillus* sp. Los extractos tuvieron características bactericidas a partir de 50%; con frutos verdes secados a 100 °C tuvieron un efecto inhibitor mayor en *E. coli*. Los extractos de frutos secos enteros fueron los que presentaron mayor inhibición en el crecimiento de *Bacillus* sp.

Otros estudios de extractos sin efecto sobre bacterias, son con extractos etanólicos de ruda (*Ruta graveolens*) y neem (*Azadirachta indica*), en concentraciones de 0%, 5%, 15%, 20%, 25% y 30% sobre bacterias fitopatógenas del género *Erwinia*, aisladas de berenjena (*S. melongena*), mango (*Manguifera indica*), papa, maíz y parchita (*Passiflora edulis*). Los extractos tuvieron efecto directamente proporcional a la concentración evaluada; el extracto etanólico de ruda no evidenció efecto inhibitorio sobre ninguna de las bacterias fitopatógenas.

Sin embargo, el neem (30%) presentó efecto inhibitorio sobre *Erwinia* sp. (Briceño *et al.*, 2011).

Los extractos de coquito (*Cyperus rotundus*), moringa (*Moringa oleífera*), neem (*A. indica*) a concentración de 10 mL L<sup>-1</sup> y lechosa (*Euphorbia heterophylla*) con 20 mL L<sup>-1</sup> sobre el desarrollo de *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaky y Aizawai. Los extractos de coquito y lechosa no tuvieron efecto sobre las cepas de *B. thuringiensis*, solo extractos de moringa y neem tuvieron efecto sobre la bacteria (Carpio, 2021).

Lo anterior demuestra que el efecto de los extractos sobre las bacterias depende del extracto, así como de la concentración, por lo que en futuros estudios deben estar dirigidos a la combinación de extractos vegetales y las concentraciones mínimas de los mismos sobre organismos antagonistas en el manejo integrado de plagas y enfermedades en plantas establecidas.

## V. DESARROLLO DEL PROYECTO

### 5.1 Recolecta del material vegetal

Las plantas nativas en el estudio se seleccionaron por los antecedentes previos con actividad fúngica contra fitopatógenos. Las muestras se separaron en raíces y parte aérea (hoja y tallo), se secaron en una secadora con lámparas a aproximadamente 50-60 °C, hasta sequedad total. Las hojas se trituraron en un molino y se almacenaron a 4 °C, para su posterior utilización.

### 5.2 Organismos en estudio

Los hongos que se utilizaron para la determinación de la actividad antifúngica, se obtuvieron del cepario de Laboratorio de Fitopatología, del Tecnológico Nacional de México/Campus Conkal (Tabla 1), estos organismos fueron aislados de diferentes órganos de *S. lycopersicum*.

Tabla 1.

*Fitopatógenos en estudio aislados de S. lycopersicum*

Hongo	Clave	Órgano de donde se aisló
<i>A. alternata</i>	ITC24	Hoja
<i>C. cassiicola</i>	ITC23	Hoja
<i>C. lunata</i>	ITC22	Hoja
<i>F. equiseti</i>	ITC32	Fruto

### **5.3 Obtención de extractos**

#### **5.3.1 Extractos acuosos**

Para la elaboración de los extractos acuosos y bioensayos *in vitro*, el material vegetal (30 g·L) se depositó en 500 mL de agua destilada en ebullición por 20 min. Posteriormente, con el objetivo de esterilizar los extractos acuosos, se filtró en una membrana de 22 µm (Millipore Merck), el filtrado se guardó en congelación por 24 h a 4 °C hasta su utilización en los bioensayos.

#### **5.4 Determinación de actividad antifúngica *in vitro* de los extractos vegetales**

Los extractos acuosos filtrados y esterilizados se evaluaron en dilución en agar con medio de cultivo PDA estéril a 50°C, a una concentración final de 3% como dosis de partida base. La mezcla obtenida se depositó en cajas petri, después de 24 horas se colocó en el centro de la caja petri un disco de micelio de 5 mm de diámetro de los hongos en estudio, se sellaron las cajas y se conservaron a 28± 2°C 12 h luz/12 h oscuridad, para su posterior medición cada 24 h (Moo-Koh *et al.*, 2014).

Se midieron las siguientes variables: crecimiento micelial, esporulación, germinación de conidios.

Crecimiento micelial: Se midió el diámetro del crecimiento del hongo de manera longitudinal con un vernier cada 24 horas hasta que el testigo sin aplicación del extracto cubrió por completo la caja petri. Lo que permitió calcular la efectividad del extracto sobre cada hongo, esta se estimó con la fórmula de Abbott (1925).

$$E (\%) = \left( \frac{Test - Trat}{Test} \right) (100)$$

E= Efectividad (%), Test= Crecimiento micelial del testigo (cm), Trat= Crecimiento micelial del tratamiento (cm) y 100= Constante

Esporulación: En las cajas donde no se observó el 100 % de crecimiento micelial a cada caja petri con el hongo fitopatógeno se agregaron 9 mL de agua estéril para la recolección de las esporas. Con un portaobjetos se raspó el micelio y la solución obtenida se filtró con ayuda de gasas estériles, esta solución (madre), se depositó en un tubo de ensayo. Posteriormente, se tomaron 100 µL de la solución madre y se depositó en un vial estéril, con 900 µL de agua destilada estéril, dicha solución se agitó y transfirieron 9 µL de en la cámara de Neubauer. El número de esporas se determinó para cada hongo fitopatógeno mediante la fórmula

$$NE = \left( \frac{X}{0.1} \right) (1000)(9)$$

NE: es el número de esporas (mL), X: promedio de esporas por los 4 campos de la cámara, 0.1: profundidad de la cámara, 1000: es una constante y 9: de la dilución.

Germinación de conidios: a las cajas petri con las colonias de los hongos se le agregó 9 mL de agua destilada estéril, se realizó el raspado con un portaobjetos, el agua con el micelio y esporas se filtrará a través de gasas estériles, la solución restante se depositó en un tubo de ensayo. Se tomó 100 µL de la solución madre y se depositó en un vial estéril y se adicionaron 900 µL de agua destilada estéril, se agitó y se transfirieron 9 µL de la

solución de esporas en cada cuadrante de una caja petri con medio de cultivo PDA y otra con PDA más extracto previamente preparado y las observaciones de las esporas se realizaron cada hora. Las observaciones fueron a través de un microscopio compuesto a magnificación de 10X considerando como conidios germinados la emisión del tubo germinativo

El diseño experimental fue un diseño completamente al azar, con cinco repeticiones por tratamiento. Con los datos de porcentaje de inhibición de crecimiento micelial, esporulación y germinación de esporas, se realizaron análisis de varianza previa transformación de los datos mediante la fórmula:  $y = \arcsin(\sqrt{y/100})$ ; la separación de medias se realizó con el método de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Los análisis estadísticos se realizaron con ayuda del paquete estadístico SAS Ver. 9.4. para Windows®.

### **5.5 Evaluación de fitotoxicidad del extracto acuoso de *C. chichenensis* en *S. lycopersicum***

La toxicidad del extracto de *C. chichenensis* se evaluó a dosis del 12%, sobre las hojas de *S. lycopersicum*, se preparó el extracto acuoso (120 g·L) en agua destilada a ebullición por 20 min. Posteriormente, se realizó un solo filtrado con papel Whatman No. 1 para la eliminación de residuos vegetales.

A partir de plantas de *S. lycopersicum* previamente establecido en el invernadero se colectaron 10 hojas al azar. Las hojas fueron trasladadas al Laboratorio de Fitopatología donde se realizaron cortes de 2 cm<sup>2</sup>, cada corte fue desinfectado con cloro 2% por 2 minutos, y un doble lavado con agua destilada, después, se procedió a secarlas con la ayuda de sanitas estériles, se colocaron en cajas petri provistas de agar-agar (previamente preparado: 23 g·L) y se adicionaron 50 µL del extracto sobre la hoja, con la ayuda de una

micropipeta, también se consideró un testigo con la aplicación de solo 50 µL de agua destilada estéril (Vargas *et al.*, 2014).

Se realizaron tres repeticiones por tratamiento, se mantuvieron en observación cada 24 h por 15 días, hasta observar la presencia de daño con necrosis del material vegetal, o tonalidades oscuras en el área donde se depositó el extracto.

### **5.6 Determinación de compatibilidad *in vitro* del extracto acuoso de *C. chichenensis* con organismos benéficos**

Para estimar la compatibilidad del extracto de *C. chichenensis* se evaluó la dosis más alta probada en toxicidad en hojas de tomate (12%) sobre organismos con antecedentes de promoción de crecimiento vegetal, ya que estos son utilizados por su plasticidad, biología y beneficios hacia las plantas; las especies evaluadas que fueron proporcionadas por los Laboratorios de Microbiología y Fitopatología del Campus; indicado en la tabla 2.

Tabla 2.

*Organismos promotores de crecimiento vegetal utilizados en el estudio de compatibilidad in vitro.*

Cepa	Clave	Origen
<i>Bacillus subtilis</i>	CBCK47	19.12 N 89.09 W
<i>Trichoderma asperellum</i>	Ta13-17	21°04'48.8"N 89°29'58.4"W

Para la evaluación de compatibilidad *in viro* del extracto acuoso con *Bacillus subtilis* (CBCK47), el cultivo utilizado fue agar bacteriológico (23 g L<sup>-1</sup>) el cual se mezcló con el extracto acuoso previamente preparado al 12%. Primeramente, con la ayuda de un asa

bacteriológica y utilizando la técnica del estriado, se sembró *B. subtilis* como se muestra en la figura 1; después se sellaron las cajas y se observó el desarrollo de las colonias bacterianas por 10 días, al final se cuantificó la cantidad de colonias bacterianas desarrolladas en cada sección de las cajas. También se consideró un tratamiento testigo el cual fue representado por cajas de Petri sin extracto y con la presencia de colonias bacterianas.

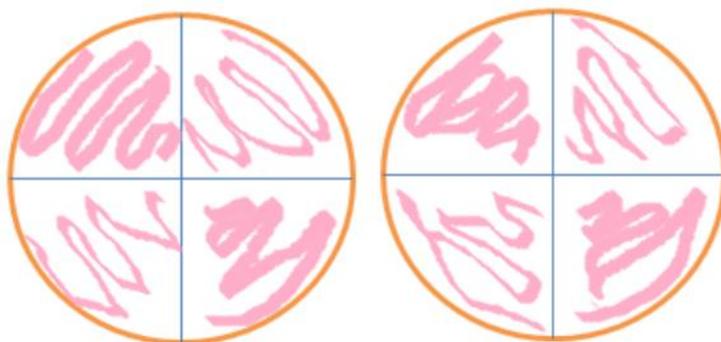


Figura 1. Técnica del estriado utilizada para la siembra de *B. subtilis*

La metodología utilizada para la compatibilidad *in vitro* del extracto acuoso con el hongo de *T. asperellum* (Ta13-17), fue la descrita anteriormente para la actividad antifúngica en la cual estimó la efectividad del extracto (%) mediante la medición del crecimiento micelial. Se tomaron discos de micelio de 5 mm de diámetro de *T. asperellum* (Ta13-17) y se sembraron en el centro de la caja de Petri, también se adicionó un testigo de referencia. Se midió el diámetro del crecimiento del hongo de manera longitudinal con la ayuda de un vernier, las mediciones fueron cada 24 h hasta que el testigo sin aplicación del extracto cubrió por completo la caja de Petri. La compatibilidad del extracto con el hongo se estimó con la fórmula de Abbott (1925).

## **5.7 Elaboración de escala pictórica-diagramática de la mancha foliar en tomate**

La severidad de *C. cassiicola* en el cultivo de tomate se midió con una escala logarítmica diagramática elaborada para este estudio, a partir de 42 fotografías tomadas de hojas con presencia la mancha foliar causada por *C. cassiicola*. Cada hoja dañada se le midió el área foliar total y dañada con el programa de procesamiento de imagen (ImagenJ), con las áreas calculadas se procedió a la estimación de la severidad (%), dividiendo el área enferma de la hoja (AEH) entre el área total de la hoja (ATH) por 100 para expresarlo en porcentaje.

Para la elaboración de la escala logarítmica diagramática se utilizó el programa de cómputo 2LOG (Osada y Mora, 1997), y mediante el principio de Horsfall-Barrat (Campbell y Madden, 1990). Con los datos de severidad calculados, se introdujo en el programa 2LOG el valor más alto en porcentaje, que representó el máximo valor de la escala y obtener las clases dentro del rango observable de la intensidad de enfermedad. El número de clases de determinó con respecto a la capacidad medible del evaluador y que en otros casos se ha recomendado en 6 (figura 2).

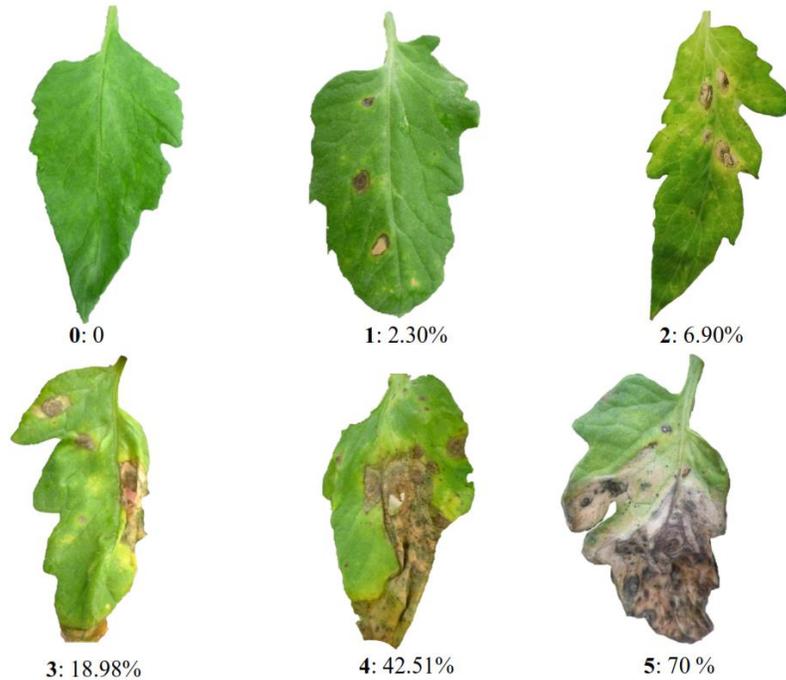


Figura 2. Escala logarítmica diagramática para la evaluación del patosistema *C. cassicola*-*S. lycopersicum*

### 5.8 Evaluación del extracto acuoso de *C. chichenensis* con actividad antifúngica en condiciones protegidas

Para la determinación de la actividad antifúngica se procedió a establecer plantas de *S. lycopersicum* en invernadero. En charolas de poliestireno de 200 cavidades se sembraron semillas de tomate híbrido (DR8558), con sustrato Cosmopeat® mezclado previamente con agrolita (1:1 v:v). Después de 15 días de la siembra, se procedió al trasplante, en macetas de 9 pulgadas se depositaron en suelo tipo Luvisol ródico, las plantas se mantuvieron con riego y fertilización constante (solución recomendada para el cultivo), la sanidad del mismo se

mantuvo utilizando insecticidas descritos en la tabla 3, para el control de araña roja y mosquita blanca.

### 5.8.1 Aplicación de los extractos

Después de 30 días del trasplante, se procedió a la aplicación del extracto a dosis de 12% mediante aspersión, la aplicación fue hecha de manera foliar, se dejó por 24 h y posteriormente se inoculó por aspersión foliar esporas del hongo *C. cassiicola* (en solución de conidios previamente preparada aproximadamente  $10^6$  conidios·mL).

El porcentaje de área foliar afectado por la enfermedad se registró con la escala logarítmica diagramática elaborada descrita en la figura 2, se seleccionó un total de 10 hojas por maceta de cada tratamiento. Estas evaluaciones se iniciaron cuando se detectaron los primeros síntomas de la enfermedad en el cultivo, y se continuaron de manera semanal durante tres semanas.

Tabla 3.

*Insecticidas utilizados en el mantenimiento del cultivo de tomate.*

<b>Nombre</b>	<b>Ingrediente activo</b>	<b>Cantidad</b>
Cinnamix <sup>®</sup>	Terpenos de naranja ( <i>Citrus sinensis</i> ) D-limoneno	5 ml·L
Biodie <sup>®</sup>	Argemonina 3.5% + Berberina 2.20% + Ricinina 2.8% + Alfa-terthienil 3.50%	10 ml·L
Confial <sup>®</sup>	Imidacloprid	2 ml·L
Murralla <sup>®</sup>	Imidacloprid + Betacyflutrin	2 ml·L

Se utilizaron en total de 16 macetas distribuidas en dos filas, cada fila representó un tratamiento, este contenía 8 macetas (figura 3).

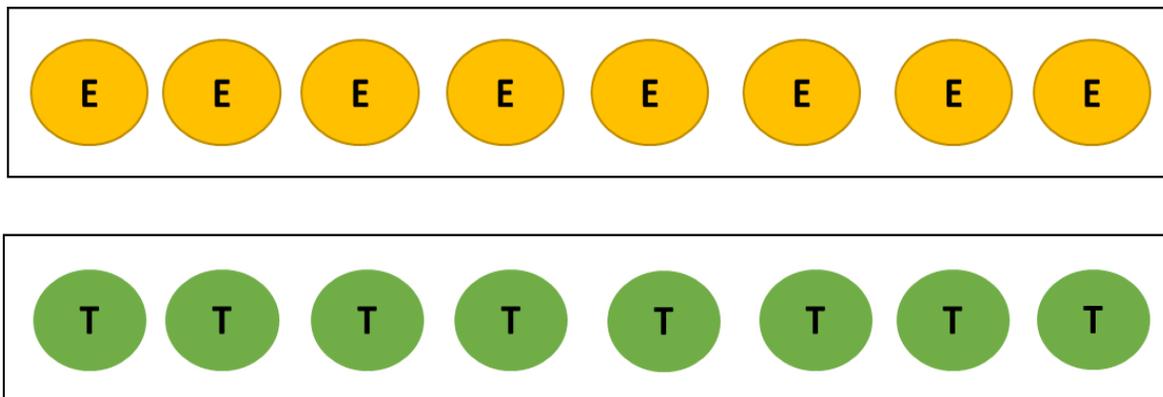


Figura 3. Distribución de los tratamientos en bloques. E= Extracto acuoso *Croton chichenensis*, T= Testigo (agua).

### 5.9 Análisis de datos

Con los porcentajes de severidad de las evaluaciones se construyeron curvas del progreso de la enfermedad (Campbell & Madden, 1990) y se estimaron los siguientes parámetros epidemiológicos:

$Y_{final}$ . Estimación del porcentaje la severidad de la enfermedad al final del cultivo.

Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE). Parámetro estimado mediante el método de integración trapezoidal.

Efectividad del extracto. Medias obtenidas mediante la prueba Abbot, para determinar la eficacia del extracto en campo.

## VI. RESULTADOS

### 6.1. Actividad extractos acuosos contra cuatro hongos fitopatógenos de *S. lycopersicum*

Los extractos evaluados presentaron actividad estadísticamente significativa ( $p \leq 0.01$ ) sobre los cuatro fitopatógenos, los extractos con mayor porcentaje inhibición en las tres variables evaluadas fueron aquellos obtenidos de *B. flammaea* (tallo), *C. chichenensis* (raíz) y *M. depresa* (tallo y raíz).

En la variable inhibición de crecimiento micelial, el rango de inhibición de los organismos fue de 1.2-100%, *C. cassicola*, y *F. equiseti* fueron los más sensibles al efecto de los extractos acuosos en esta variable. En la inhibición de la esporulación de conidios el rango fue de 10.5-100%, solo el extracto de *P. cubana* no presentó efecto sobre los cuatro hongos. En la germinación de conidios el rango de inhibición fue de 11.3-100%, solo el extracto de *C. chichenensis* tuvo actividad en *A. alternata*, los demás extractos no afectaron la germinación de los conidios, a diferencia de los demás hongos en donde la actividad de los extractos fue variable incluso se observó una deformación en los tubos germinativos de los conidios de cada fitopatógeno (Tabla 4, 5 y 6).

Tabla 4.

*Inhibición (%) del crecimiento micelial de hongos fitopatógenos con extractos acuosos de especies vegetales.*

Planta	<i>A. alternata</i>	<i>C. cassiicola</i>	<i>C. lunata</i>	<i>F. equiseti</i>
<i>A. gaumeri</i>	0 e	7.1 h	1.2 f	0 e
<i>B. flammea</i>	0 e	27.3 d	93.7 b	8.1 c
<i>C. chichenensis</i>	0 e	100 a	99.2 a	100 a
<i>C. jamaicensis</i>	0 e	5.7 h	0 g	0 e
<i>Licaria</i> sp (hoja)	0 e	2.4 i	22.1 cd	2.3 d
<i>Licaria</i> sp (raíz)	0 e	6.5 h	4.9 e	0 e
<i>Licaria</i> sp (tallo)	0 e	15.5 ef	4.8 e	0 e
<i>M. depressa</i> (raíz)	2.4 d	12.4 g	24.7 cd	7.9 c
<i>M. depressa</i> (tallo)	35.9 a	48.9 b	19.5 d	44.6 b
<i>P. cubana</i>	0 e	37.9 c	7.8 e	2.2 d
<i>P. neesianum</i>	10.2 c	13.8 fg	28.7 c	0 e
Control	0 e	0 j	0 g	0 e

Letras con misma literal entre columnas son estadísticamente iguales (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

El extracto de raíz de *C. chichenensis* mostró mayor actividad sobre los organismos en las tres variables evaluadas con rango 99.2-100%. En la primera variable, 100% en la segunda y 70.5-100%; seguido del extracto del tallo de *M. depressa* con rangos de porcentaje del 44.6-48.9%, 98.1-100% y 50.7-100% en el mismo orden en las variables evaluadas; el extracto de raíz de *M. depressa* también presentó mayores rangos de actividad del 99.4-100% en la inhibición de la esporulación de conidios y del 52.8-100% en la inhibición de la germinación de conidios (Figura 5). Cabe mencionar que el extracto del tallo de *B. flammea* también presentó actividad en la variable de inhibición de la esporulación con un rango del 83.4-100%, ver tabla 6.

Tabla 5.

*Inhibición (%) de la esporulación de conidios de hongos fitopatógenos con extractos acuosos de especies vegetales.*

Planta	<i>A. alternata</i>	<i>C. cassiicola</i>	<i>C. lunata</i>	<i>F. equiseti</i>
<i>A. gaumeri</i>	100 a	0 e	100 a	89.9 c
<i>B. flammea</i>	100 a	83.4 b	100 a	93.3 b
<i>C. chichenensis</i>	100 a	100 a	100 a	100 c
<i>C. jamaicensis</i>	100 a	10.5 d	0 e	0 g
<i>Licaria</i> sp (hoja)	100 a	99.5 a	0 e	49.5 e
<i>Licaria</i> sp (raíz)	89.1 b	0 e	90.1 c	0 g
<i>Licaria</i> sp (tallo)	100.0	20.7 c	96.8 b	100 a
<i>M. depresa</i> (raíz)	27.7 c	21.7 c	100 a	69.9 d
<i>M. depresa</i> (tallo)	100 a	0 e	100 a	0 g
<i>P. cubana</i>	0 d	0 e	0 e	0 g
<i>P. neesianum</i>	27.7 c	21.7 c	100 a	69.9 d
Control	0 d	0 e	0 a	0 g

Letras con misma literal entre columnas son estadística mente iguales (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

Tabla 6.

*Inhibición (%) de la germinación de conidios de hongos fitopatógenos con extractos acuosos de especies vegetales.*

Planta	<i>A. alternata</i>	<i>C. cassiicola</i>	<i>C. lunata</i>	<i>F. equiseti</i>
<i>A. gaumeri</i>	0 b	0 f	100 a	100 a
<i>B. flammea</i>	0 b	20.3 d	98.9 a	100 a
<i>C. chichenensis</i>	80.9 a	100 a	100 a	70.5 b
<i>C. jamaicensis</i>	0 b	11.3 e	0 c	0 c
<i>Licaria</i> sp (hoja)	0 b	100 a	0 c	0 c
<i>Licaria</i> sp (raíz)	0 b	0 f	85.2 b	0 c
<i>Licaria</i> sp (tallo)	0 b	19.9 d	100 a	100 a
<i>M. depresa</i> (raíz)	0 b	80.1 c	100 a	61.3 b
<i>M. depresa</i> (tallo)	0 b	83.7 b	100 a	0 c
<i>P. cubana</i>	0 b	0 f	0 c	0 c
<i>P. neesianum</i>	0 b	80.1 c	100 a	61.3 b
Control	0 b	0 f	0 c	0 c

Letras con misma literal entre columnas son estadísticamente iguales (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

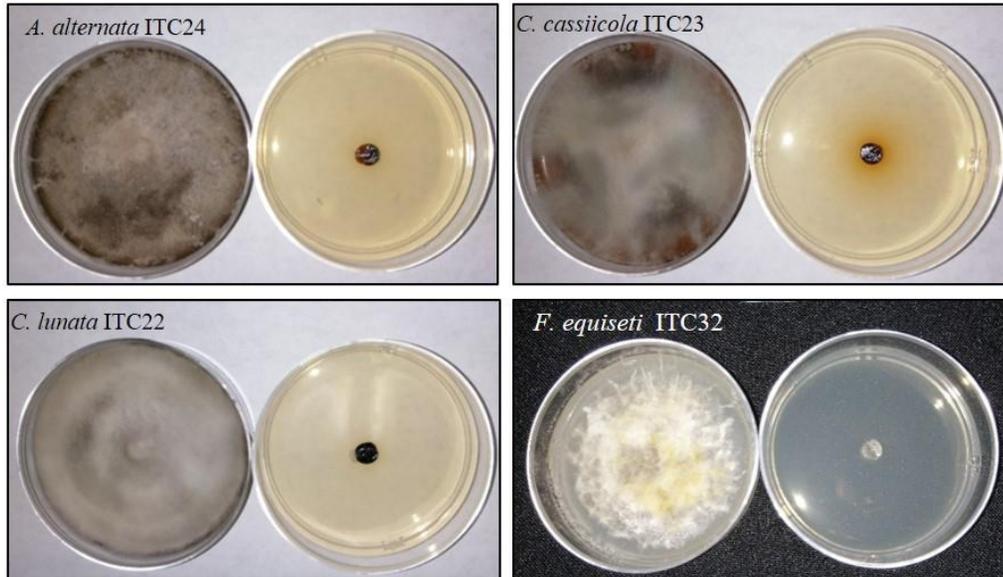


Figura 4. Efecto del extracto acuoso de *C. chichenensis* en la inhibición del crecimiento micelial de hongos fitopatógenos de tomate (Izq.control/ der. extracto).

El extracto de raíz de *C. chichenensis* mostró mayor actividad sobre los organismos en las tres variables evaluadas con rangos 99.2-100% en la primera variable (Figura 4), 100% en la segunda y 70.5-100%; seguido del extracto del tallo de *M. depresa* con rangos de porcentaje del 44.6-48.9%, 98.1-100% y 50.7-100% en el mismo orden en las variables evaluadas (Figura 5); el extracto de raíz de *M. depresa* también presentó mayores rangos de actividad del 99.4-100% en la inhibición de la esporulación de conidios, y del 52.8-100% en la inhibición de la germinación de conidios (Figura 7).

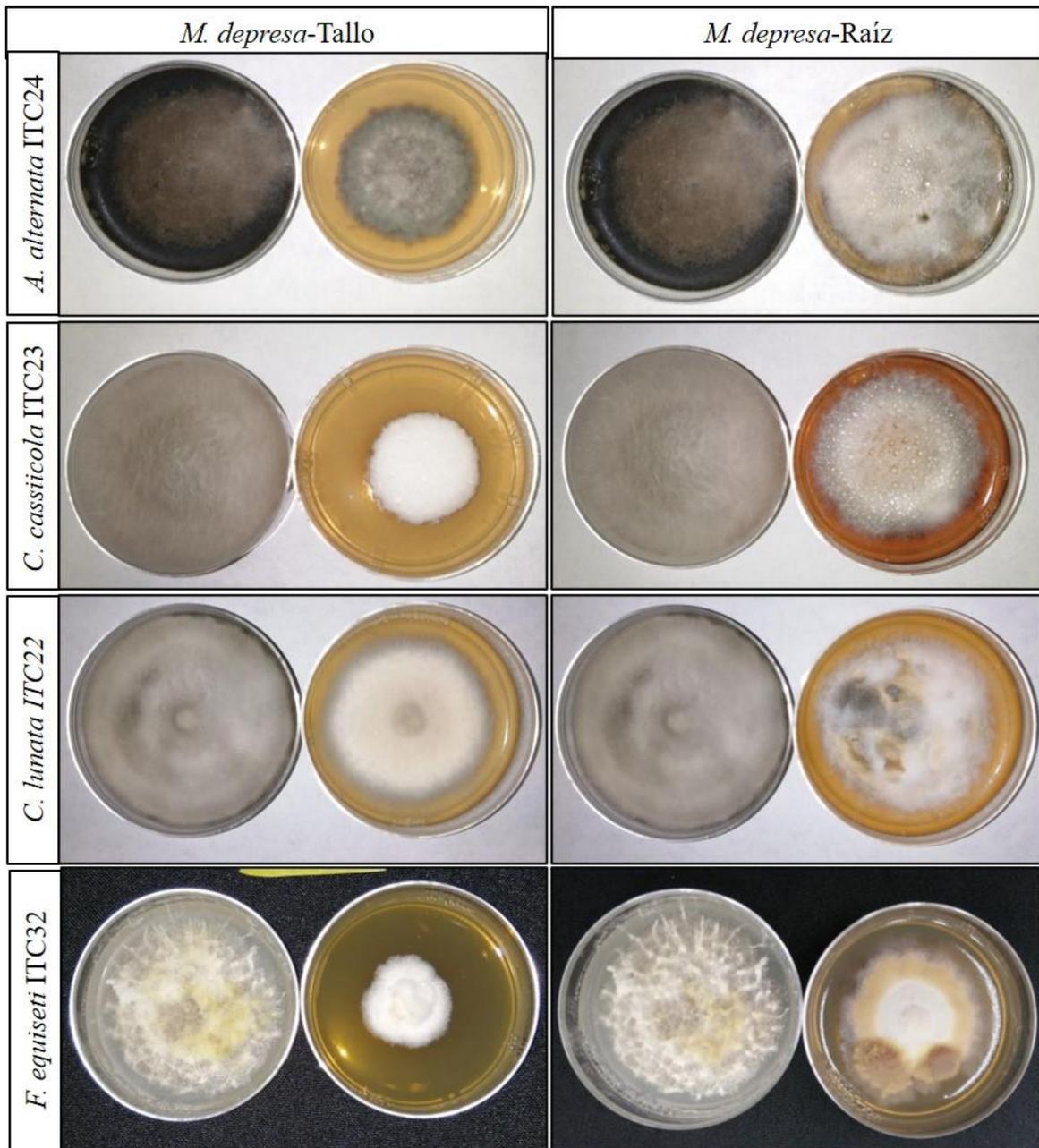


Figura 5. Efecto del extracto acuoso de *M. depressa* en la inhibición del crecimiento micelial de cuatro hongos fitopatógenos de tomate (Izq. control/ der. extracto).

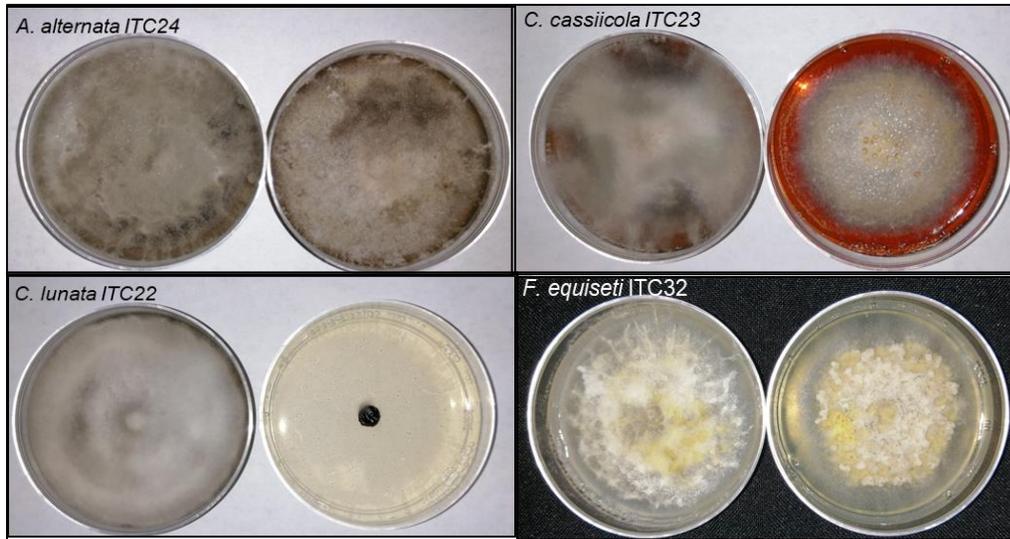


Figura 6. Efecto del extracto acuoso de *B. flammea* en la inhibición del crecimiento micelial de hongos fitopatógenos de tomate (Izq.control/ der. extracto)

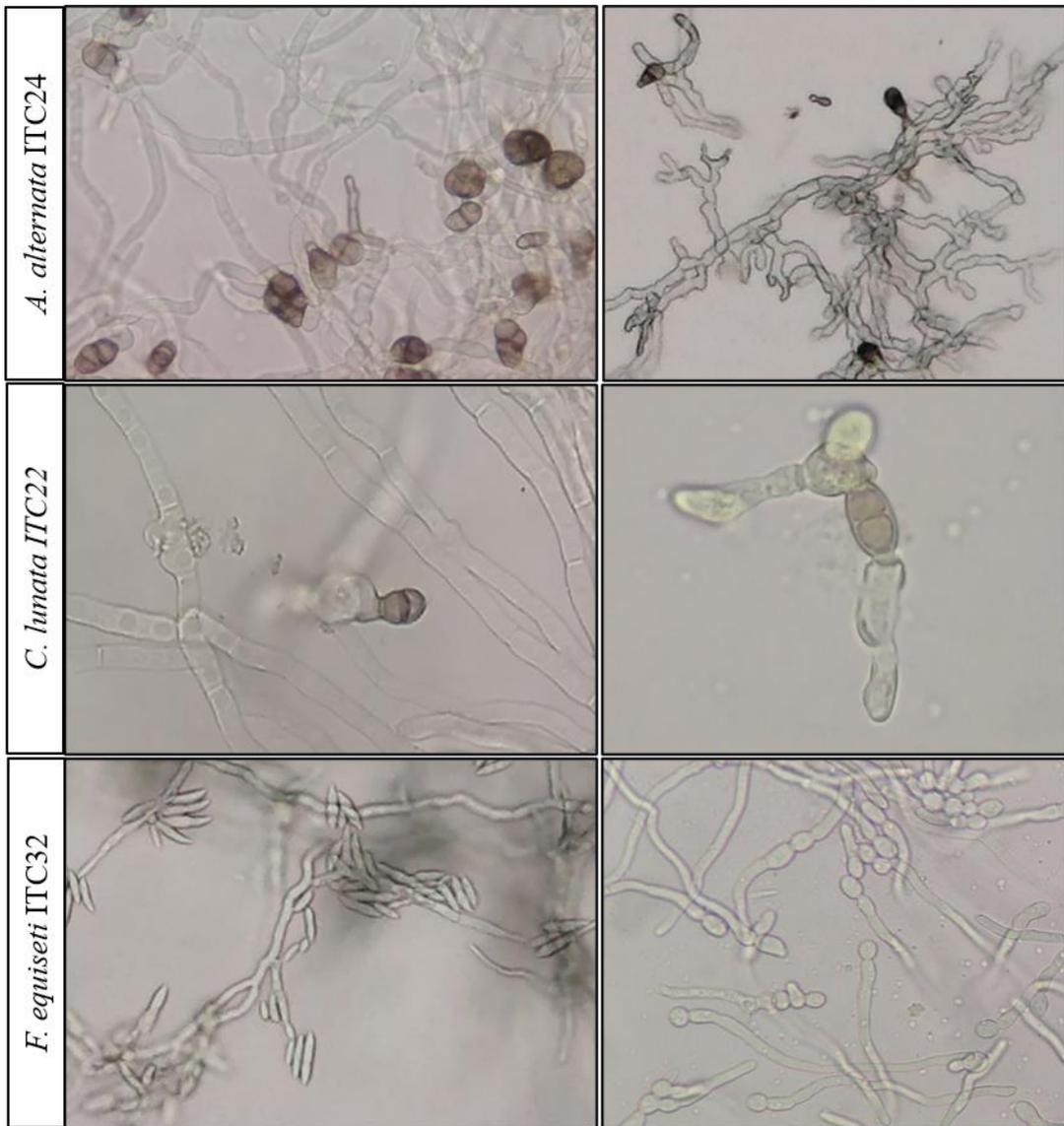


Figura 7. Efecto del extracto acuoso del tallo de *M. depressa* en los conidios de hongos fitopatógenos de tomate (Izq.control/der. extracto)

Los extractos de *B. flammea*, *A. gaumeri*, *C. chichenensis*, han sido evaluados en otros estudios con resultados potenciales, Canché (2013) evaluó *in vitro* e *in vivo* extractos acuosos de *B. flammea*, *A. gaumeri*, *C. chichenensis* y *T. vulgaris* al 3%, contra cinco hongos fitopatógenos que afectan en postcosecha al fruto de papaya, el extracto de *B. flammea* tuvo porcentajes de inhibición de 25 -100%, *A. gaumeri* de 19-100%, *C. chichenensis* de 11-

100% y *T. vulgaris* de 100% siendo el más efectivo de los cuatro evaluados, también la mezcla aplicados en frutos de papaya controló un 48% la afectación de los hongos; así mismo, el extracto de *B. flammea* fue evaluado en 10 hongos foliares aislados de diferentes hospederos con resultados de 20 a 100% en el crecimiento micelial, de 58 a 100% en la esporulación y de 73 a 100% en la germinación de conidios (Moo-Koh *et al.*, 2014).

Vargas *et al.* (2014) evaluaron el extracto de *A. gaumeri* y *B. flammea* contra *A. chrysanthemi*, con efecto antifúngico del 69 y 50% de inhibición respectivamente. También evaluaron el efecto del extracto de *C. chichenensis* sin efecto significativo, a diferencia del presente estudio donde se obtuvo efecto en los hongos evaluados; que puede deberse a la sensibilidad de los diferentes aislados fúngicos y la actividad de los metabolitos producidos por las plantas. Existen reportes de metabolitos identificados de los extractos crudos evaluados, en *B. flammea* la actividad antifúngica se atribuyó al metabolito sakurososaponina aislado de raíz, y que puede estar en el tallo (Sánchez *et al.*, 2010).

Otros estudios con patógenos de poscosecha fue el realizado con *B. flammea* para el control de seis hongos fitopatógenos que afectan a frutos de *C. annuum* y *C. chinense*, este causó la inhibición del 20 -100%, en frutos de *C. chinense* el extracto mostró una reducción de la severidad en un 77.7 % de *P. oxalicum*, mientras que contra *C. lunata* fue del 84.61% (Hoil, 2016), ante estos resultados, en algunos hongos la respuesta a los extractos es estimuladora en la esporulación de los hongos como se observó en el presente estudio ya que los extractos no inhibieron el crecimiento de los hongos (Moo-Koh *et al.*, 2014).

Godoy (2019) evaluó extractos acuosos y etanólicos de 15 especies, a partir de hojas, tallos y raíces, y encontró que los extractos acuosos y etanólicos de las diferentes partes vegetales

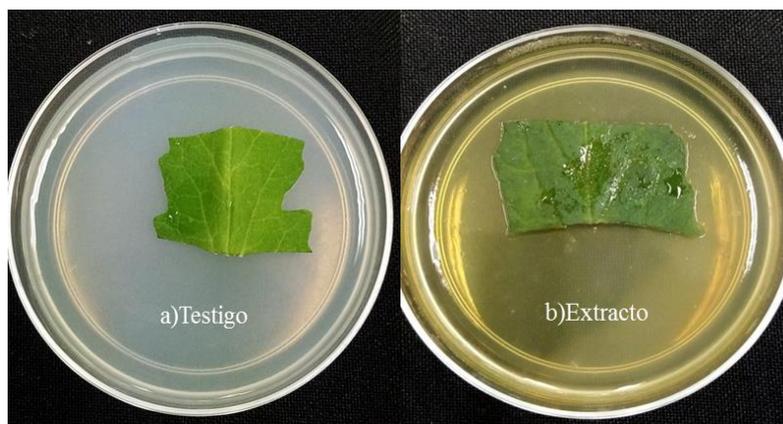
de *C. arboreus* y *C. itzaeus* al 3% contra los fitopatógenos: *A. brassicicola* y *A. alternata*, *P. oxalicum*, *C. capsici* y *C. truncatum* sin efecto en el crecimiento micelial; a diferencia de los extractos acuoso de hoja, tallo y raíz de *M. depressa*, el cual solo tuvo efecto sobre *P. oxalicum* y *C. truncatum*; pero los extractos etanólicos de esta especie mostraron efectos del 50 a 100% de inhibición de crecimiento micelial. En el presente estudio el efecto de *M. depressa* fue variable en los cuatro fitopatógenos evaluados, observando mayor inhibición con el extracto acuoso del tallo.

Otro estudio con los extractos acuosos al 3% de raíces de *A. gaumeri*, *C. chichenensis* y *P. cubana*, tallo y raíz de *M. depressa* y planta completa de *C. jamaicensis* sobre patógenos de semillas de *Capsicum* spp., los extractos acuosos no tuvieron efecto, pero los extractos etanólicos mostraron mayor efecto sobre dos aislados de *C. lunata* (Pérez, 2019). La actividad de los extractos etanólicos en comparación con los extractos acuosos, está relacionada con la presencia de metabolitos poco polares como flavonoides, taninos, saponinas, alcaloides; el caso de *M. depressa* (tallo), un estudio mostró la presencia 1,2,3,4-tetrametoxi-5-(2-propenil) benceno conocido como aliltetrametoxibenceno responsable de la actividad antifúngica contra *T. mentagrophytes* y *F.oxysporum* (Maneemegali y Naveen, 2010; Martínez *et al.*, 2010).

## **6.2 Fitotoxicidad de *Croton chichenensis* en *Solanum lycopersicum***

Al final de siete días de observación de las hojas de *S. lycopersicum* con el extracto *C. chichenensis* al 12%, éstas no presentaron daño aparente en el haz, en las nervaduras y margen de la hoja, no se observó necrosis ni efecto hipersensible por la aplicación del extracto (Figura 8).

Los ensayos de toxicidad son empleados para evaluar el efecto de agentes químicos o físicos en sistemas biológicos, esta herramienta tiene como objetivo de medir la afectación que una sustancia química produce en los organismos. Los ensayos son conocidos en las evaluaciones de herbicidas comerciales y extractos vegetales de partes aéreas y semillas, también sobre organismos benéfico incluso células de humanos (Kapanen e Itävaara, 2001).



*Figura 8. Efecto del extracto acuoso de C. chichenensis al 12% sobre hojas de Solanum lycopersicum después de siete días de aplicación.*

En un estudio se demostró que el extracto acuoso obtenido a partir de material vegetal senescente (no activo fotosintéticamente) tuvo la más baja actividad fitotóxica, quizás por carecer de concentraciones significativas de metabolitos secundarios debido a esta carencia de actividad fotosintética. La actividad toxicológica de los extractos acuosos, se debe al mismo proceso de extracción con agua, considerado menos agresivo y con bajo poder de extracción de fitotóxicos (Oliveros *et al.*, 2011). Autores reconocen las actividades aleloquímicas porque ofrecen posibles usos benéficos en agricultura, incluyendo la

disminución de la dependencia de herbicidas sintéticos, insecticidas y nematicidas (Kobaisy *et al.*, 2001).

### 6.3 Determinación de la compatibilidad del extracto de *C. chichenensis* al 12% contra organismos benéficos

La dosis evaluada no presentó actividad estadísticamente significativa ( $p \leq 0.05$ ) sobre los organismos promotores de crecimiento vegetal. El extracto acuoso *C. chichenensis* al 12% no inhibió el crecimiento de *T. asperellum* (Ta 13-17) (figura 9) así como la cepa de *B. subtilis*.

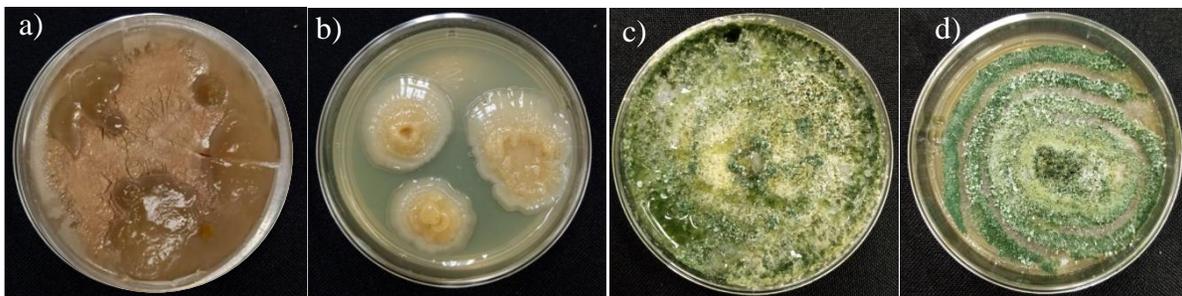


Figura 9. Compatibilidad de *T. asperellum* (Ta 13-17) y *B. subtilis* con el extracto de *C. chichenensis* al 12% (Extracto a y c, Testigo b y d).

Estudios realizados con el efecto de los extractos vegetales sobre organismos benéficos, muestran capacidad saprófita competitiva de los organismos antagónicos como *Trichoderma* y *Bacillus*, además de demostrar la compatibilidad entre estos organismos y los extractos para su uso; por ejemplo, autores reportaron el efecto inhibitorio *in vitro* de extractos etanólicos, etéreos y acuosos de frutos de *C. chinense* sobre el crecimiento de *E. coli* y *Bacillus* sp., estos extractos tuvieron características bactericidas a partir de la concentración del 50%, con extractos a partir de frutos verdes secados a 100°C tuvieron un efecto inhibitor

mayor para *E. coli* y los extractos de frutos secos enteros fueron los que presentaron mayor inhibición en el crecimiento de *Bacillus* sp., en el presente estudio la concentración del extracto de *C. chichenensis* fue menor por lo que la bacteria no fue afectada y la hace compatible con el extracto acuoso (Colivet y Genette, 2006).

Por otra parte, los extractos acuosos de barbasco (*Phyllanthus* sp.), neem (*Azadirachta indica*) y Cempazuchil (*Tagetes patula*) sobre *Trichoderma* y *Metarhizium* utilizando cinco concentraciones (0%, 10%, 15% y 20%). Los extractos de neem, barbasco y Cempazuchil en un 15%, causaron inhibiciones entre un 10-50% en *Trichoderma*; estos tres extractos a la misma concentración en *Metarhizium* indujeron un rango de inhibición del 32-50%; por lo tanto, ninguno de los extractos acuosos a concentraciones antes mencionadas afecta severamente a estos hongos benéficos (Gomez *et al.*, 2003).

Alvarado *et al.* (2011), evaluaron la compatibilidad *in vitro* de *T. harzianum* con los extractos etanólicos de neem (*A. indica*) a una dosis del 2.25% y orégano (*Lippia organoides*) al 37% y 75%, así como la combinación de ambos extractos al 75%. El hongo *T. harzianum* fue compatible con los extractos etanólicos evaluados excepto con la concentración de *L. organoides* al 75% al no presentar crecimiento micelial. Sánchez *et al.*, (2021) evaluaron 19 fungicidas usando dosis mínimas y máximas en *T. aggressivum* f. *europaeum* (TAET1), tres fueron inocuos (kresoxim-metil, pencicuron y cimoxanil; inhibición <30%) o compatibles, son pocos los productos que tienen compatibilidad con organismos benéficos, en el presente estudio se demostró que el extracto acuoso tiene compatibilidad con *T. asperellum* (Ta13-17); por lo que es de suma importancia las evaluaciones que permitan determinar la

compatibilidad entre organismos con el fin de combinar diferentes estrategias de manejo de plagas y enfermedades.

#### 6.4 Determinación de la severidad de la mancha foliar en *S. lycopersicum* en condiciones protegidas

Al final del experimento el análisis de la intensidad de la enfermedad en el cultivo de tomate mostró diferencias ( $P \leq 0.01$ ) entre el tratamiento con el extracto y el testigo, al final de las mediciones con la escala de severidad, el ABCPE calculó el porcentaje más bajo en el tratamiento con extracto, este también obtuvo la menor  $Y_{final}$ . La tasa de infección aparente  $1/b$  del modelo Weibull con el extracto de *C. chichenensis* mostró la menor severidad causada por *C. cassiicola* con respecto al tratamiento testigo sin la aplicación del extracto. El tratamiento con mayor intensidad de la enfermedad fue el testigo sin aplicación (Tabla 7).

Tabla 7.

*Efecto de tratamiento en la severidad final de la mancha foliar del tomate causada por C. cassiicola*

Tratamiento	ABCPE (% por día)	$Y_{final}$ (%)	Weibull Tasa $b^1$ (unidad % por día)	$r^2$ Ajuste del modelo
Extracto acuoso	64.56 b	10.43 b	0.01901 b	0.98
Testigo	1057.01 a	67.59 a	0.03012 a	0.96

Medias con diferente literal entre columnas son estadísticamente diferentes (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

Las hojas de las plantas del testigo presentaron un daño considerable al final de los primeros siete días de la inoculación de *C. cassiicola*, la enfermedad se presentó con manchas concéntricas y clorosis mientras que el tratamiento con el extracto de *C. chichenensis* las hojas presentaron una coloración verdosa y sin signo alguno de *C. cassiicola*. Al final de 14 días de la inoculación del hongo, la mayor parte de las plantas del tratamiento testigo se notaban afectadas por la enfermedad, la cual fue progresivo, sin embargo, las plantas con el extracto al 12% de *C. chichenensis* continuaron sin presencia de la enfermedad (Figura 10).

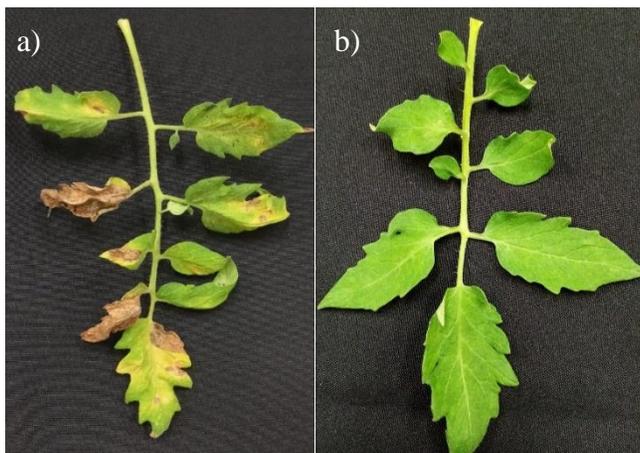


Figura 10. Efectividad del extracto acuoso de *C. chichenensis* (12%) en el biocontrol de la mancha foliar en *S. lycopersicum* (Testigo a, Extracto b).

Extractos de *C. chichenensis* han sido utilizados en combinación con los extractos de *B. flammea*, *Thymus vulgaris* y *A. gaumeri* al 6%, esta combinación resultó contraproducente ya que se obtuvo un 52.16% de severidad en evaluación en frutos de papaya, la mezcla no

mostró capacidad para disminuir la severidad ocasionada por *Fusarium* sp., *C. gloeosporoides*, *Curvularia* sp., *Penicillium* sp. y *Alternaria* sp. (Canché, 2013).

En otro estudio, con la utilización de extractos acuosos y etanólicos de las raíces de *C. chichenensis*, *A. gaumeri* y corteza de *B. flammea* tuvieron mayor potencial fungicida *in vitro* contra *A. tagetica*, *C. gloeosporoides* y *F. oxysporum* (Gamboa *et al.*, 2008), posteriormente, se evaluaron en condiciones protegidas los extractos de corteza de *B. flammea* y de raíz de *A. gaumeri*, también, se consideraron dos controles a base de agua y el fungicida Captan contra el hongo *A. chrysanthemi* en el cultivo de *C. morifolium*. La severidad observada en el estudio fue menor con el extracto de raíz de *A. gaumeri*; el área bajo la curva del progreso de la enfermedad con 165%, tasas de infección aparente con 0.017, severidad final y mayor efectividad para controlar la enfermedad fue de 8 y 67%, seguido por el extracto de corteza de *B. flammea* (186, 0.022, 13 y 50%, respectivamente), comparados con los controles Captan (179, 0.023, 14 y 45%) y agua (369, 0.025, 25 y 0%, respectivamente) (Vargas *et al.*, 2022). Lo que demostró que los extractos vegetales tienen potencial en el manejo de tizones foliares como sucedió en el presente estudio, al obtener valores menores de severidad de la enfermedad con el extracto.

Por otra parte, estudios con la implementación de escalas para la estimación de enfermedades permitieron determinar la viabilidad del uso de estas para calcular la severidad de enfermedades fúngicas. Ante esto se puede mencionar la escala diagramática de *Cercospora* sp. en hojas de chile, la precisión fue de 0.79 a 0.95 (Michereff *et al.*, 2006). También, la escala de patosistema *Annona cherimola-Colletotrichum gloeosporioides* tuvo una precisión de 0.61-0.95 (Tovar *et al.*, 2002), en el presente estudio se confirmó que se requiere de la

familiarización de los evaluadores para incrementar los valores de precisión y exactitud con el uso de las escalas.

La escala diagramática de severidad para el complejo mancha de asfalto del maíz (CMA) empleada, tuvo una precisión que fluctuó en un rango de 0.81 a 0.92 (Hernández y Sandoval, 2015), los valores de precisión obtenidos en el presente estudio y los encontrados en escalas reportadas demuestran que estas son herramientas fundamentales para la estimación de porcentajes de severidad de los patógenos que se deseen controlar.

## VII. CONCLUSIONES

Los extractos acuosos de *A. gaumeri*, *B. flammea* y *C. chichenensis* al 3% afectaron el desarrollo fúngico *in vitro*, al causar inhibición del crecimiento micelial, esporulación y germinación de conidios en *A. alternata* (ITC24), *C. cassiicola* (ITC23), *C. lunata* (ITC22) y *F. equiseti* (ITC33). El extracto acuoso de *C. chichenensis* al 12% no causa fitotoxicidad foliar en *S. lycopersicum* y el extracto es compatible con *T. asperellum* (Ta13-17) y *B. subtilis* (CBCK47) y los hace potenciales para su incorporación en un programa de manejo integrado de enfermedades.

El extracto acuoso de *C. chichenensis* al 12% es una alternativa para disminuir la severidad de la mancha foliar de tomate inducido por *C. cassiicola* bajo condiciones protegidas.

Se elaboró y validó una escala logarítmica diagramática para el patosistema *Solanum lycopersicum-Corinespora cassiicola*

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abou-Jawdah, Y.; Karakashian, A.; Sobh, H.; Martini, M y Lee, I.M. (2002). An epidemic of almond witches'-broom in Lebanon: Classification and phylogenetic relationship of the associated phytoplasma. *Plant Disease*, 86, 477-484.
- Alvarado, S; Ulacio, D; Sanabria, M y Jimenez, M. (2011). Compatibilidad *in vitro* de extractos vegetales y *Trichoderma harzianum* y su efecto en el crecimiento de *Sclerotium rolfsii* Sacc. y *Sclerotium cepivorum* Berk. *Bol. Centro Invest. Biol.* 45(3): 217-236.
- Aquinos, A. y Stauffer, A. (2000). Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y bactericida. *RECyT*, 1(2), 29-30.
- Baladrin, M.F., Klocke, J. A., Wurtele, E y Bollinger, H. (1985). Natural plant chemicals. Sources of industrial and medicinal material. *Science*, 228,1154-1160.
- Barrera, L y García, L. (2008). Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (*Carica papaya*). *UDO Agrícola*, 8(1), 33-41.
- Batista, A., Guerra, J y Barajona, L. (2015). Extractos vegetales para el control de plagas en el cultivo de pimentón. INDIAP.
- Bautista, B.S., Hernández M. L y Bosque E. M. (2004). Growth inhibition of selected fungi by chitosan and plant extracts. *Rev. Mex. Fitopatol.* 22, 178-186.

- Bravo, L.L., Bermúdez, T.K. y Montes, B.R. (2000). Inhibición de *Fusarium moniliforme* mediante polvos vegetales y algunos de sus componentes químicos. *Manejo Integrado de Plagas*, 57, 29-34.
- Briceño, G., García, J., Maselli, A y Rosales, L. (2011). Efecto de extractos etanólicos de ruda y neem sobre el control de bacterias fitopatógenas del género *Erwinia*. *Agronomía Trop*, 61(2) 0002-192.
- Caamal, V.G. (2014) *Capacidad inhibitorio del extracto acuoso y etanólico de Acalypha gaumeri contra especies de hongos fitopatógenos*. Tesis maestría. Instituto Tecnológico De Conkal. México.
- Campbell, C. L. y Madden, L. V. (1990). *Introduction to plant disease epidemiology*. New York: Wiley. doi: 10.1007/978-94-017-3302-1\_1.
- Canché, M.A. (2013). *Extractos acuosos para el control de hongos asociados en frutos postcosecha de papaya. (Carica papaya L)*. Tesis maestría. Instituto Tecnológico De Conkal. México.
- Carpio, N. (2021). *Efecto de extractos vegetales sobre el desarrollo de Bacillus thuringiensis en condiciones in vitro*. Tesis ingeniería. Universidad de Guayaquil. Ecuador.
- Colivet, J., Genette, H. (2006). Comparación del efecto inhibitor de extractos de ají dulce (*Capsicum chinense*) sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Bacillus* sp. Venezuela. *SABER*, 18(2), 168-173.

- Cruz, A., Ruiz, E y Gamboa, M. (2019). *Eugenia winzerlingii*: Especie cuasiendémica con propiedades bioplaguicidas al descubierto. Desde el Herbario, 11, 207-210. Recuperado de: [http://www.cicy.mx/sitios/desde\\_herbario/](http://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/).
- Cruz, P., et al. (2020). Extracts from six native plants of the Yucatán peninsula hinder mycelial growth of *Fusarium equiseti* and *F. oxysporum*, pathogens of *Capsicum chinense*. Pathogens, 9(827), 2-19. doi: 0.3390/pathogens9100827.
- Dellvalle, P., Cabrera, A., Alem, D., Larrañaga, P., Ferreira, F., and Rizza, M., (2011). Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungus *Alternaria* spp. Chilean Journal of Agricultural Research, 71, doi: 231-239.
- Ellis, M.B. (1993). Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. CAB INTERNATIONAL, 465.
- Gahukar R. (2012). Evaluation of plant-derived products against pests and diseases of medicinal plants: A review. Crop Protection, 42:202-209.
- Gan, H., y Wickings, K. (2017). Soil ecological responses to pest management in golf turf vary with management intensity, pesticide identity, and application program. Agriculture, Ecosystems & Environment, 246: 66-77.
- Godoy, T. (2019). *Actividad antifúngica de plantas nativas de la península de Yucatán para el control de fitopatógenos poscosecha de Capsicum spp.* Tesis maestría. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. México.

- Gomez, L; Aguirre, M y Segura J. (2003). Evaluación in vitro del efecto tóxico de los extractos vegetales acuosos Barbasco (*Phyllanthus* sp), Neem (*Azadirachta indica*) y Marigol (*Tagetes patula*) sobre *Trichoderma* y *Metarhizium*. Nataima.Colombia, 7, 35-40.
- Hernández, A. N., Bautista, S., Velázquez, M. G., y Hernández, A. (2007). Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades postcosecha en frutos. Revista Mexicana de Fitopatología, 25(1).
- Hoil, P.A. (2016). *Actividad inhibitoria del extracto acuoso de Bonellia flammae contra hongos postcosecha de Capsicum spp.* Tesis maestría. Instituto Tecnológico de Conkal. México.
- Isman, M., y Grieneisen, M. (2014). Botanical insecticide research: many publications, limited useful data. Trends in Plant Science, 19(3): 140-145.
- Jayasuriya, K. E y Thennakoon, B. I. (2007). First Report of *Corcassiicola* on *Codiaeum variegatum* (*croton*) in Sri LankaSci. Biology Science, 36(2), 138-141.
- Kapanen, A. y Itävaara, M. (2001). Ecotoxicity tests for compost applications. Ecotoxicology and environmental safety, 49(1), 1-16. Recuperado de: <https://doi.org/10.1006/eesa.2000.1927>.
- Kobaisy, M., Tellez, M. R., Webber, C. L., Dayan, F. E., Schrader, K. K., y Wedge, D. E. (2001). Phytotoxic and fungitoxic activities of the essential oil of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) leaves and its composition. Journal of agricultural and food chemistry, 49(8), 3768-3771.
- Kurt, S. (2005). Genetic variation in *Corynespora cassiicola*, the target leaf spot pathogen. Pakistan Journal of Biological Sciences, 8(4), 618 – 621.

- Lizcano, M. (2007). *Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de tomillo (Thymus vulgaris) contra Botrytis cinérea, Fusarium oxysporum y Sclerotinia sclerotiorum*. Tesis de doctorado. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia.
- López, et al. (2005) Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb. mediante extractos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(2), 0185-3309.
- Martín, M. (2015) Curso Manejo Integrado de plagas y Enfermedades en Cultivos. CYCY. [file://F:/consulta%20libros\(2\)%20Enfermedades%20de%20cultivos%20\(hongos\).pdf](file://F:/consulta%20libros(2)%20Enfermedades%20de%20cultivos%20(hongos).pdf)
- Martínez, T. S., Alvarez, E., Mamani, T., Vila, O. y Mollinedo, P. (2010). Actividad antifúngica *in vitro* de extractos polares de plantas del género *Baccharis* sobre fitopatógenos. *Rev. Boliv. Quím*, 27, 13-18.
- Montes, B.R. (1996). Productos naturales de origen vegetal para el combate de fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 14,9-14.
- Moo, F., Cristóbal, J. A. Reyes, R. J., Tun, S. R., Luna, S. J y Ramírez, P. (2014). Actividad *in vitro* del extracto acuoso de *Bonellia flammea* contra hongos fitopatógenos. *Agrociencia*, 48, 833-845.
- Oliveros, A. D., Rodríguez, D. C. y Calcagno, M. P. (2011). Estandarización de un bioensayo para la búsqueda de compuestos fitotóxicos en extractos vegetales. *Ciencia*, 19, 187-202.
- Ordanza, M.A. (2017). Biopesticidas: Tipos y aplicaciones en el control de plagas agrícolas. *Agroproductividad*, 10(3): 31-367.

- Osada, H. K., y Mora, G. (1997). 2LOG Programa para desarrollar escalas de severidad por el método de Horsfall y Barratt. Manual del Usuario. Colegio de Postgraduados, Montecillo.
- Pérez, C.L. (2019). *Aislamiento e identificación de hongos en semillas de Capsicum spp. y su sensibilidad in vitro a extractos vegetales*. Tesis Maestría. Instituto Tecnológico de Conkal. México.
- Ravikumar, M. y Garampalli, R. (2013). Antifungal activity of plants extracts against *Alternaria solani*, the causal agent of early blight of tomato. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 46, 1897-1903.
- Revilla, R., Vuelta, D. R. y Guerrero, D. (2020) Efecto *in vitro* de extractos vegetales y *Trichoderma harzianum* en el control de *Fusarium oxysporum* aislado de vivero de café (*Coffea arabica*). Centro de Información y Gestión Tecnológica de Santiago de Cuba, 1(2),48-65. doi:1027-2887.
- Rodríguez, D.A., Sanabria, M.E., Falcón, M.F., Quintero, A y Díaz. (2003). Reducción del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* con el extracto acuoso de tres plantas silvestres. Resumen XV Congreso Venezolano de Botánica. Recuperado de: [http://www.forest.ula.ve/~herbamer/ Resumenes](http://www.forest.ula.ve/~herbamer/Resumenes).
- Sánchez, B., Santos, M., Moreno, A., Marín, T., Gea, F. J. y Diánez F. (2021). Biological Control of Fungal Diseases by *Trichoderma aggressivum* f. *europaeum* and its compatibility with fungicides. J. Fungi, 7, 598. <https://doi.org/10.3390/jof7080598>
- Sánchez, et al. (2010). Identification of Sakurasosaponin as a Cytotoxic Principle from *Jacquinia flammea*. Recuperado de: <https://doi.org/10.1177/1934578X1000500304>

- Sharma, S., y Malik, P. (2012). Biopesticides: Types and Applications. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry*, 1(4). doi: 2277-4688.
- Shimomoto, Y., R. Adachi, Y. Morita, K. Yano, A. Kiba, Y. y Hikichi. (2008). *Corynespora* blight of sweet pepper (*Capsicum annum*) caused by *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt) Wei. *Journal of General Plant*, 74, 335 – 337.
- Srivastava, S., M. Gupta, V. Prajapati, A.K. Tripathi y S. Kumar. (2001). Insecticidal activity of Myristicin from *Piper mullesua*. *Pharmaceutical Biol*, 39(3), 226.
- Stauffer, B. A., Orrego, A. y Aquino, A. (2000). Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y/o bactericida. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 1(2), 29-33.
- Talibi, I., Askarne, L., Boubaker, H., Boudyach, E., Msanda, F., Saadi, B., y Aoumar, A. (2012). Antifungal activity of some Moroccan plants against *Geotrichum candidum*, the causal agent of postharvest citrus sour rot. *Crop Protection*, 35, 41-46.
- Thomson, (2004). *Diccionario de especialidades agroquímicas*.14, Bogotá, Colombia. DEAQ.
- Vargas, A. (2014). Alternativas naturales para el control de *Alternaria chrysanthemi* Simmons & Crosier. Tesis maestría. Centro de Investigación Científica de Yucatán. A. C.
- Vargas, A., Gamboa, M., Medina, L., Pérez, D., Cristóbal, J. y Ruiz, E. (2014). Evaluación de extractos de plantas nativas yucatecas contra *Alternaria chrysanthemi* y espectro de actividad antifúngica de *Acalypha gaumeri*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 32(6), 01-11.

- Vargas, A., Cristóbal, J., Canto, B., y Gamboa, M. (2022). Aqueous extracts from *Acalypha gaumeri* and *Bonellia flammea* for leaf blight control in *Chrysanthemum* (*Chrysanthemum morifolium*). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 40(1), 40-58.
- Vázquez, M.M., Rodríguez, G.R. y Silva, G.J. (1996). Efecto de extractos de plantas sobre el crecimiento de hongos patógenos de la raíz. *Memorias del XXIII Congreso de la Sociedad Mexicana de Fitopatología*.
- Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87,3.
- Zaker, M. (2013). Screening some medicinal plant extracts against *Alternaria sesame*, the causal agent of *Alternaria* leaf spot of sesame. *Journal of Ornamental and Horticultural Plants*, 3, 1-8.