



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA  
ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA

EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO FUNGICIDA DE EXTRACTOS VEGETALES  
PARA EL CONTROL DE *Mycosphaerella fijiensis* M. Morelet (1969) (SIGATOKA  
NEGRA).

TESIS

Que para obtener el grado de

Licenciatura en Biología

PRESENTA:

JOSÉ MANUEL IBARRA MAYÉN

Directora: DRA. ELIAZAR AQUINO TORRES

Co-director: DR. ALFREDO MADARIAGA NAVARRETE

Asesoras: DRA. JUDITH PRIETO MÉNDEZ

DRA. LETICIA ROMERO BAUTISTA.

DRA. DULCE MARÍA GALVÁN HERNÁNDEZ

TULANCINGO DE BRAVO, HIDALGO, SEPTIEMBRE DE 2020.





Fecha: 14 de septiembre de 2020  
 Asunto: Autorización de impresión de Tesis.

**M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO**  
**DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR, UAEH**  
**PRESENTE**

Con base en lo establecido en el artículo 40, Capítulo I del Título Cuarto del Reglamento de Titulación, le comunico que el Jurado asignado al pasante de Licenciatura en Biología **José Manuel Ibarra Mayén**, quien presenta el trabajo recepcional de tesis titulado **"EFECTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO DE EXTRACTOS VEGETALES PARA EL CONTROL DE *Mycosphaerella fijiensis* (SIGATOKA NEGRA)"**, ha decidido autorizar la impresión del mismo, después de revisarlo en reunión de sinodales, hechas las correcciones acordadas.

A continuación, se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del Jurado:

PRESIDENTE:	Dra. Leticia Romero Bautista	
SECRETARIO	Dr. Alfredo Madariaga Navarrete	
PRIMER VOCAL:	Dra. Eliazar Aquino Torres	
SUPLENTE:	Dra. Dulce María Galván Hernández	

Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi más atenta consideración.

**ATENTAMENTE**

**M. en C. MAGDALENA MEZA SÁNCHEZ**  
**COORDINADOR ADJUNTO DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA**



Ciudad del Conocimiento  
 Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5 Colonia Carboneras  
 Mineral de la Reforma, Hidalgo, México C.P. 42184  
 Teléfono: +52 (771) 71 720 00 ext. 6640, 6642 Fax 2112  
 aab icbi@uah.edu.mx

[www.uaeh.edu.mx](http://www.uaeh.edu.mx)

## Agradecimientos

Me gustaría que todo aquel que leyera estas líneas sean aquellas personas que colaboraron para la realización de este trabajo:

A mis formadores:

Me gustaría agradecer primero a los investigadores del Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAp), UAEH por la oportunidad para el desarrollo de este proyecto de investigación. Además, de agradecer su paciencia, su tiempo y dedicación. También agradezco el conocimiento que me fue transmitido por cada uno de mis formadores, gracias a ellos pude culminar este proyecto de vida, gracias totales.

A mi familia:

A esas maravillosas personas que ya no están aquí y a esas otras que se esforzaron por ayudarme y llegar hasta aquí. Los amos a todos.

Agradezco a la gente que vibra, que no hay que empujarla, que no hay que decirle que haga las cosas, sino que sabe lo que hay que hacer y que lo hace. La gente que cultiva sus sueños hasta que esos sueños se apoderan de su propia realidad. Agradezco a la gente con capacidad para asumir las consecuencias de sus acciones, la gente que arriesga lo cierto por lo incierto para ir detrás de un sueño.

Agradecer a la gente que es justa con su gente y consigo misma, la gente que agradece el nuevo día, las cosas buenas que existen en su vida, que vive cada hora con buen ánimo dando lo mejor de sí, agradecido de estar vivo, de poder regalar sonrisas, de ofrecer sus manos y ayudar generosamente sin esperar nada a cambio.

Agradezco a gente que me critica constructivamente y de frente, pero sin lastimarme ni herirme. La gente que tiene tacto. Me gusta la gente que posee sentido de la justicia.

A estos los llamo mis **amigos**.

## **Dedicatoria:**

Este trabajo está dedicado a las mujeres, de manos acariciadoras, tan de seda, tan de ellas, blancas y bien hechoras. ¡Sólo ellas, mis santas, sólo sé que ellas me aman, las que nada me reclaman! ¡Las que sacan las espinas y se las clavan en ellas! Gracias por siempre cuidarme Mamá; Abuelita., Hermana.

# Índice

Índice de figuras .....	I
Índice de tablas .....	I
Índice de graficas .....	II
Resumen .....	III
1. Introducción .....	1
2. Antecedentes .....	2
2.1. Hongos fitopatógenos de importancia económica.....	2
2.2.    Biología de <i>M. fijiensis</i> .....	7
2.2.1 Infección y Sintomatología .....	9
2.3.    Efectos de <i>M. fijiensis</i> en cultivos de importancia económica.....	11
2.4.    Manejo integral de <i>M. fijiensis</i> .....	11
2.4.1 Control químico de <i>M. fijiensis</i> en los campos agrícolas .....	14
2.4.2 Control biológico.....	16
2.4.3 Extractos vegetales.....	19
3.    Justificación.....	24
4.    Hipótesis .....	25
5.    Objetivos.....	25
5.1. Objetivo general.....	25
5.2. Objetivos específicos .....	25
5.2.1    Evaluar la actividad antifúngica de hidrolatos de <i>Cinnamomum verum</i> , <i>Origanum vulgare</i> , <i>Schinus molle</i> , <i>Eucalyptus cinerea</i> , <i>Ruta graveolens</i> y <i>Tagetes lucida</i> en condiciones <i>in vitro</i> . .....	25
5.2.2    Comparar inhibición del crecimiento micelial de <i>M. fijiensis</i> que presentan los hidrolatos a tres concentraciones experimentales (1 mL, 3 mL y 5 mL) en condiciones <i>in vitro</i> . .....	25
5.2.3    Determinar la dosis óptima de aplicación de hidrolatos que ejercen inhibición del crecimiento micelial de <i>M. fijiensis</i> bajo condiciones <i>in vitro</i> .....	25
6.    Método .....	26
6.1. Obtención de extractos por proceso de hidrodestilación .....	27
6.2.    Siembra de <i>M. fijiensis</i> en cajas Petri para ensayos <i>in vitro</i> .....	27
6.3.    Efecto fungicida en ensayos <i>in vitro</i> por el método de envenenamiento del medio 28	
7.    Análisis estadístico.....	29

<b>8.</b>	<b>Resultados y Discusión .....</b>	<b>29</b>
8.1.	Obtención de extractos por proceso de hidrodestilación .....	29
8.2.	Siembra de <i>M. fijiensis</i> en cajas Petri para ensayos <i>in vitro</i> .....	30
8.3.	Efecto fungicida en ensayos <i>in vitro</i> por el método de envenenamiento del medio 31	
8.3.1.	<i>Origanum vulgare</i> .....	31
8.3.2.	<i>Cinnamomum verum</i> .....	32
8.3.3.	<i>Schinus molle</i> .....	33
8.3.4.	<i>Ruta graveolens</i> .....	34
8.3.5.	<i>Eucalyptus cinerea</i> .....	35
8.3.6.	<i>Tagetes lucida</i> .....	36
8.4	Comparación de los porcentajes de inhibición de los hidrolatos vegetales .....	37
<b>9.</b>	<b>Conclusión .....</b>	<b>41</b>
<b>10.</b>	<b>Recomendaciones y sugerencias .....</b>	<b>42</b>
<b>11.</b>	<b>Referencias .....</b>	<b>43</b>
<b>12.</b>	<b>Anexo .....</b>	<b>53</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Ciclo de vida de <i>M. fijiensis</i> y el desarrollo de la enfermedad de la raya de la hoja negra de <i>Musa</i> spp.....	8
<b>Figura 2.</b> Síntomas de manchas foliares por <i>Mycosphaerella</i> en banano, donde se observa una reducción del área fotosintética de la hoja: (a) sigatoka amarilla, (b) sigatoka negra y (c) mancha foliar en Musáceas.....	9
<b>Figura 3.</b> Estados del desarrollo de la enfermedad de la raya negra. A) Estado 1 decoloración, B) Estado 2 puntos C) Estado 3 raya, D) Estados 4 mancha negra y E) estado 5 mancha negra con halo amarillento, F) Estado 6 mancha con centro de color gris o blanco .....	10
<b>Figura 4.</b> Especies vegetales utilizadas para evaluar efectos antifúngicos contra la sigatoka negra A) <i>O. vulgare</i> B) <i>C. verum</i> C) <i>R. graveolens</i> D) <i>S. molle</i> E) <i>E. cinerea</i> F) <i>T. lucida</i> .....	26
<b>Figura 5.</b> (A) Obtención de extractos por proceso de hidrodestilación, (B) Cajas Petri con medio PDA a las distintas concentraciones de hidrolato de cada extracto, (C) Siembra de <i>M. fijiensis</i> en cajas Petri para ensayos <i>in vitro</i> , (D) Incubación de los tratamientos a 28 °C por 96 horas. ....	28
<b>Figura 6.</b> (A) Micelio con apariencia algodonosa y de forma circular, (B) Ascosporas. ....	30
<b>Figura 7.</b> Efecto del extracto de (A) <i>O. vulgare</i> , (B) <i>C. verum</i> , (C) <i>S. molle</i> , (D) <i>T. lucida</i> y (E) <i>E. cinerea</i> a 1, 3 y 5 mL en <i>M. fijiensis</i> . ....	;Error! Marcador no definido.
<b>Figura 8.</b> <i>R. graveolens</i> a las 24, 48, 72 y 96 horas.....	39

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Resultados del proceso de extracción por arrastre de vapor.....	30
<b>Tabla 2.</b> Porcentaje de inhibición del crecimiento de <i>M. fijiensis</i> con extracto de <i>Origanum vulgare</i> .....	31
<b>Tabla 3.</b> Porcentaje de inhibición del crecimiento de <i>M. fijiensis</i> con extracto de <i>Cinnamomum verum</i> . ....	32
<b>Tabla 4.</b> Porcentaje de inhibición del crecimiento de <i>M. fijiensis</i> con extracto de <i>Schinus molle</i> . ....	33
<b>Tabla 5.</b> Porcentaje de inhibición del crecimiento de <i>M. fijiensis</i> con extracto de <i>Ruta graveolens</i> . ....	34
<b>Tabla 6.</b> Porcentaje de inhibición del crecimiento de <i>M. fijiensis</i> con extracto de <i>Eucalyptus cinerea</i> . ....	35
<b>Tabla 7.</b> Porcentaje de inhibición del crecimiento de <i>M. fijiensis</i> con extracto de <i>Tagetes lucida</i> . ....	36

## Índice de graficas

<b>Gráfica 1.</b> Inhibición del hongo <i>M. fijiensis</i> (%) en el hidrolato obtenido de <i>O. vulgare</i> ... 32	32
<b>Gráfica 2.</b> Inhibición del hongo <i>M. fijiensis</i> (%) en el hidrolato obtenido de <i>C. verum</i> . .... 33	33
<b>Gráfica 3.</b> Inhibición del hongo <i>M. fijiensis</i> (%) en el hidrolato obtenido de <i>S. molle</i> . ..... 34	34
<b>Gráfica 4.</b> Inhibición del hongo <i>M. fijiensis</i> (%) en el hidrolato obtenido de <i>R. graveolens</i> . ..... 35	35
<b>Gráfica 5.</b> Inhibición del hongo <i>M. fijiensis</i> (%) en el hidrolato obtenido de <i>E. cinerea</i> .... 36	36
<b>Gráfica 6 .</b> Inhibición del hongo <i>M. fijiensis</i> (%) en el hidrolato obtenido de <i>T. lucida</i> ..... 37	37

## Resumen

Los hongos fitopatógenos causan una serie de enfermedades en cultivos de importancia agrícola y forestal. Además de causar grandes pérdidas económicas, el uso de agroquímicos para el control de estos patógenos, representan un peligro a la biodiversidad y al ambiente. *Mycosphaerella fijiensis* causa la enfermedad foliar conocida comúnmente como sigatoka negra en la familia de las musáceas (bananas). El objetivo del presente trabajo fue valorar el efecto inhibitorio de seis extractos vegetales (hidrolatos): *Cinnamomum verum*, *Origanum vulgare*, *Schinus molle*, *Eucalyptus cinerea*, *Ruta graveolens* y *Tagetes lucida*, sobre el crecimiento micelial de *M. fijiensis* en condiciones *in vitro*. Los extractos se obtuvieron por hidrodestilación, utilizándose para las pruebas 1, 3 y 5 mL de hidrolato que se mezcló con el medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA). La inhibición del crecimiento se midió con un vernier digital, expresándose en milímetros a las 24, 48, 72 y 96 horas después de la siembra. Los hidrolatos mostraron un porcentaje de inhibición de crecimiento micelial con *M. fijiensis* que van desde un 12% hasta el 100%, siendo los hidrolatos de *C. verum* y *O. vulgare* los que mostraron una inhibición del 100%. Los resultados sugieren el uso potencial de estos hidrolatos como una alternativa sustentable para el control biológico.

## 1. Introducción

Los hongos fitopatógenos a nivel mundial constituyen un grupo importante ocasionando enfermedades y plagas en su etapa de desarrollo, causan grandes pérdidas económicas en cultivos agrícolas, también modifican el crecimiento y desarrollo de las plantas hospedantes (Juárez *et al.*, 2010). Debido a su gran número y su alta capacidad de reproducción son microorganismos difíciles de controlar (García, 2005). Se conocen alrededor de 8000 especies de hongos fitopatógenos, además se sabe que un solo hongo fitopatógeno puede ser hospedero de más de un tipo de familia de plantas (Dávila, 2013). La mayoría son parásitos endopatógenos y la otra parte, cumplen su ciclo biológico en el suelo (saprófitos). Habitualmente la reproducción se produce en la superficie de tejidos de la planta hospedera, lo que beneficia al hongo para que las esporas o ascosporas se propaguen fácilmente (Juárez *et al.*, 2010).

Existen fungicidas químicos efectivos para el control de hongos fitopatógenos; sin embargo, estos hongos patógenos han logrado desarrollar resistencia; a su vez, el uso excesivo de plaguicidas y las repercusiones que conlleva ha generado nuevas regulaciones y restricciones, además de una búsqueda del uso de organismos benéficos, o sus metabolitos secundarios para su uso contra los agentes patógenos (Ezziyani *et al.*, 2006). Por otro lado, existe un aumento en la demanda de productos orgánicos, que utilizan técnicas alternas para el control y manejo de enfermedades fungosas (Dávila, 2013). Esto genera la necesidad de buscar nuevas alternativas que sean menos costosas, menos agresivas con el ambiente y que puedan controlar a las poblaciones de estos fitopatógenos.

El control biológico constituye una alternativa importante para el uso eficiente de los recursos naturales, además de minimizar el impacto causado al ambiente por el uso excesivo de químicos (Pieckenstain, 2002; Tovar Castaño, 2008). Un ejemplo de control biológico es el uso de extractos vegetales que consiste en aprovechar los compuestos derivados de los metabolitos secundarios, estos sirven para erradicar total o parcialmente poblaciones de patógenos, también sirven como preventivos totales o parcialmente sobre estos o para proteger directamente a las plantas en el sitio de infección, antes o después de que ocurra la infección (Guzmán, 2012). Una de las desventajas de los extractos es su disponibilidad, ya

que algunas especies solo son de temporada. Para obtener extractos es necesario utilizar especies vegetales disponibles todo el año, para facilitar la sustentabilidad. Sin embargo, falta formular productos que puedan resistir bajo condiciones de campo, debido a que los compuestos encontrados en estos son muy diversos y algunos son volátiles.

La sigatoka negra, es una enfermedad que causa rayado y manchas de color negro en las hojas, provocado por el hongo ascomiceto *Mycosphaerella fijiensis* M. Morelet (1969). Es la enfermedad foliar más destructiva de la familia Musáceae a nivel mundial (Marín *et al.*, 2003).

El banano se cultiva en todas las regiones tropicales representando un ingreso económico importante para varios países en desarrollo, ya que constituye una fuente para mejorar las condiciones sociales, a través de la generación de empleos directos e indirectos debido a que es un alimento básico, ocupando el cuarto cultivo alimentario más importante del mundo, después del arroz, el trigo y el maíz (Horta, 2009).

Por lo tanto, se consideró importante buscar las investigaciones recientes disponibles en la literatura sobre el uso de extractos vegetales contra hongos patógenos y posteriormente evaluar los hidrolatos de seis diferentes plantas, sobre la inhibición del crecimiento y formación de micelio de *M. fijiensis* en condiciones de laboratorio, utilizando los hidrolatos diluidos en medio PDA a tres concentraciones diferentes con tres repeticiones más un testigo. Actualmente, las cepas de diferentes hongos fitopatógenos se pueden evaluar para su manejo con pruebas en laboratorio, como base para la formulación de fungicidas a base de plantas han demostrado ser un buen control de enfermedades causadas por hongos patógenos (España, 2016).

## **2. Antecedentes**

### **2.1. Hongos fitopatógenos de importancia económica**

Los hongos fitopatógenos que se presentan con mayor frecuencia en la región central de México son: *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme*, *F. verticillioides*, *Phytophthora fragariae*, *Rhizoctonia solani*, *R. fragariae*, *Alternaria* spp., *Pythium aphanidermatum*, *Verticillium alboatrum*, *Colletotrichum* spp., *Cylindrocladium* spp., y *Ramularia* spp., éstos causan pérdidas significativas de la producción de cultivos.

Los géneros como *Bipolaris* spp., *Fusarium* spp., *Helminthosporium* spp., *Septoria* spp., y *Pythium* sp., son importantes en climas templados, *Sclerotium rolfii* en el subtrópico y *Gaeumannomyces graminis* prevalece en zonas frías y lluviosas. Parte del problema son las condiciones ambientales, el manejo del cultivo y tipo de suelo (Dávalos *et al.*, 1992; Castro y Dávalos, 1990; Ceja *et al.*, 2008; Rodríguez y Flores, 2018).

También se encuentran otros hongos fitopatógenos denominados secundarios como son; *Alternaria* spp., *Curvularia* spp., *Nigrospora* spp., *Cladosporium* spp., que pueden sobrevivir prácticamente bajo cualquier condición climática al igual que los géneros saprófitos *Stemphylium* spp., *Torula* spp., *Phoma* spp., *Epicoccum* spp., *Penicillium* spp., *Paecilomyces* spp., *Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp. y *Mucor* spp., que son del suelo (Zillinsky, 1983). Del género *Fusarium*, están las especies *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, y *F. equiseti* (Zillinsky, 1983; Franco *et al.*, 2020). Otro género importante es el *Helminthosporium* causante de tizones foliares, de los cuales se han identificado a las especies; *H. sativum*, *H. tritici-repentis*, *H. avenae*, *H. teres*, *H. gramineum*, *H. giganteum* y *H. speciferum* (Zillinsky, 1983; Franco *et al.*, 2020).

En suelos de cultivos existen una gran cantidad de hongos fitopatógenos que atacan cultivos de importancia económica. Se conocen alrededor de 8000 especies de hongos fitopatógenos, además un solo hongo puede ser hospedero de más de un tipo de familia de planta (Dávila, 2013).

La mayoría son parásitos endopatógenos y la otra parte, cumplen su ciclo biológico en el suelo (saprófitos). Habitualmente la reproducción se realiza en la superficie de tejidos de la planta hospedera, lo que beneficia al hongo para que las esporas o ascosporas se propaguen fácilmente (Juárez *et al.*, 2010). Las enfermedades fungosas generalmente causan dos tipos de efectos; la primera de tipo local, afectando una parte del tejido, la segunda de tipo general provoca un daño completo a toda la planta, dependiendo del tipo de planta que hospeden (Juárez *et al.*, 2010). Principalmente los síntomas se manifiestan con necrosis en el tejido, así como atrofia en algunas de sus partes o hipertrofia si el crecimiento del hongo es excesivo (García, 2005).

Los factores que favorecen el desarrollo de enfermedades causadas por estos patógenos son: la temperatura, niveles altos de fertilización nitrogenada, genotipos susceptibles, baja

luminosidad, virulencia de los patógenos involucrados, alta humedad relativa y altitud identificaron hongos patógenos asociados al complejo mancha de asfalto en el maíz, uno de los cultivos más importantes en México (Siller *et al.*, 2017). Ríos *et al.* 2017 identificaron hongos fitopatógenos asociados a la mancha de asfalto en maíz. A través de muestreos de hojas con síntomas de la enfermedad, donde encontraron a *Phyllachora maydis*, y *Curvularia lunata* como primer reporte de la asociación a este síndrome denominado mancha de asfalto (Ríos *et al.*, 2017).

Los hongos fitopatógenos pueden tener efectos devastadores en una amplia gama de cultivos, como cereales, granos, frutas y hortalizas, causando pérdidas en el rendimiento de estos, que son costosos para la economía agrícola y amenazan la seguridad alimentaria (Price *et al.*, 2015). Utilizan antifúngicos azólicos (componente antimicótico); sin embargo, mencionan que ha surgido resistencia contra estos compuestos que podrían causar graves pérdidas. Por lo que señalan la importancia de comprender cómo se utilizan estos fungicidas y cómo surge la resistencia para abordar el problema. Este trabajo expone una descripción general del problema y discuten los mecanismos que intervienen en la resistencia a los compuestos azólicos en la agricultura.

Como ya se mencionó, los hongos fitopatógenos son la principal causa de problemas fitosanitarios en cultivos agrícolas, además de las pérdidas económicas a nivel global, también causan problemas fitosanitarios, ya que se han encontrado diferentes patógenos a los habituales en diversos cultivos, ocasionando que el agricultor no tenga éxito al aplicar algún tipo de control. Una segunda problemática surge cuando el agricultor debe costear algún tipo de servicio profesional para combatir la enfermedad (Andrade *et al.*, 2019).

Andrade *et al.* (2019) identificaron algunos agentes causantes de enfermedades fungosas del tomate en Sonora, México como: *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani* y *Botrytis cinerea* reconociendo el estado fitosanitario del cultivo. Bajo este panorama realizaron múltiples investigaciones que evalúan el potencial de extractos, su elaboración a través de técnicas simples y fácilmente reproducibles por los productores a partir de especies vegetales procedentes del mismo agroecosistema, para que sea sustentable y más económico. Utilizaron distintas partes del material vegetal; como semillas, hojas y madurez de la planta, para posteriormente, en medios de cultivo *in vitro*, aislar e identificar hongos patógenos de importancia económica en el cultivo de tomate.

A una escala global, se menciona a la sigatoka negra como una de las principales enfermedades que afectan a la familia de las Musáceas (bananas), causada por *M. fijiensis* dando como resultado una baja producción de este fruto (Marcano *et al.*, 2016). Destacan que este cultivo es de gran importancia económica por su exportación en varios países tropicales y subtropicales.

El fitopatógeno *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*, es una enfermedad criptogámica que afecta la producción y exportación de rosas a nivel mundial (Cisneros, 2019). Cisneros (2019) propone utilizar extractos vegetales de *Piper carpunya* como agente antifúngico en el cultivo de rosa. Para la extracción utilizó hojas con 3 diferentes solventes (etanol, alcohol de caña y H<sub>2</sub>O estéril) a diferentes diluciones 30, 60 y 90 %; con el objetivo de determinar que concentración sería la más eficaz permitiendo un buen control biológico sobre *S. pannosa* var. *Rosae*. Además, estableció que metabolitos secundarios se encontraban presentes en *P. carpunya*. Como resultado obtuvo que el método de extracción por hidrodestilación al 90 % fue el más efectivo.

*Fusarium oxysporum* afecta diversos cultivos como: *Sorghum bicolor* (sorgo), *Zea mays* (maíz) y *Medicago sativa* (alfalfa) en distintas etapas fenológicas, además son patógenos de árboles frutales y forestales (Singh *et al.*, 2007).

En el cultivo de *Capsicum annuum* pimiento se presentan una serie de enfermedades fungosas de importancia económica. Jaramillo y Lobo (1983) mencionan que algunas de estas enfermedades son causadas por *Fusarium* sp. La enfermedad se caracteriza por reducir la germinación y pudrición de la semilla. Si esta germina las plántulas mueren por estrangulamiento de la base, también se pueden observar lesiones rojizas o pardas, provocando necrosis en las raíces y podredumbre en otros órganos.

*Sclerotium rolfsii* es un fitopatógeno de hábito saprófito de gran importancia epidemiológica, está relacionada a la formación de esclerocios, causante de pudriciones del tallo y raíces (Polanco y Castro, 2005). Caneloríguez *et al.* (2018) utilizaron el hongo *Trichoderma harzianum* Rifaii como antagonista de este patógeno debido a su capacidad para colonizar sustratos rápidamente, inducir resistencia sistémica en plantas (ISR), promover el crecimiento vegetal y poseer actividad antagonista contra otras especies de hongos

patógenos. Concluyen que *T. harzianum* posee potencial para el control biológico de *S. rolfsii*.

*Alternaria* sp. es el agente causal de la mancha foliar en el pimiento, las manchas crecen rápidamente y cubren toda la hoja, donde se produce un gran número de esporas que son dispersadas por el viento y la lluvia (Terrones, 2018). Terrones (2018) determinó el efecto antifúngico de diferentes concentraciones del extracto etanólico de frutos secos de *Capsicum annuum* var. *annuum* sobre el crecimiento de *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum* y *Aspergillus niger*. Sus resultados mostraron que el extracto etanólico de *C. annuum* var. *annuum* inhibió el crecimiento de *A. solani*, *F. oxysporum*, sin embargo, no obtuvo inhibición en el crecimiento en *A. niger*. Concluye que, el extracto etanólico de frutos secos de *C. annuum* presentó efecto antifúngico sobre el crecimiento de *Alternaria* y *Fusarium*

La secadera de la fresa *Fragaria ananassa* es la enfermedad principal del cultivo de fresa y causa pérdidas de hasta el 50 % de la producción, esta afección se asocia con catorce especies de hongos (Mariscal *et al.*, 2017). Mariscal *et al.* (2017) realizaron un estudio para conocer la presencia y frecuencia de hongos patógenos e identificar otras especies asociadas a la enfermedad de las fresas, analizaron plantas con la sintomatología de la secadera provenientes de distintos cultivos durante las estaciones primavera-verano. Mediante la amplificación y secuenciación de las regiones espaciadoras transcritas (ITS). Posteriormente identificaron cuatro especies del género *Fusarium* no reportadas en el cultivo de la fresa.

El género *Septoria* es uno de los patógenos que causa tizones, donde se han identificado a *S. nodorum* y *S. tritici* (Zillinsky, 1983; Franco *et al.*, 2020). Franco *et al.* (2020) describen la enfermedad conocida como marchitez, amarillamiento o madurez prematura de plantas de trigo, llamada también por los productores como la secadera, fusariosis. También observaron que causa daño en cebada, maíz y sorgo donde causa la pudrición del tallo.

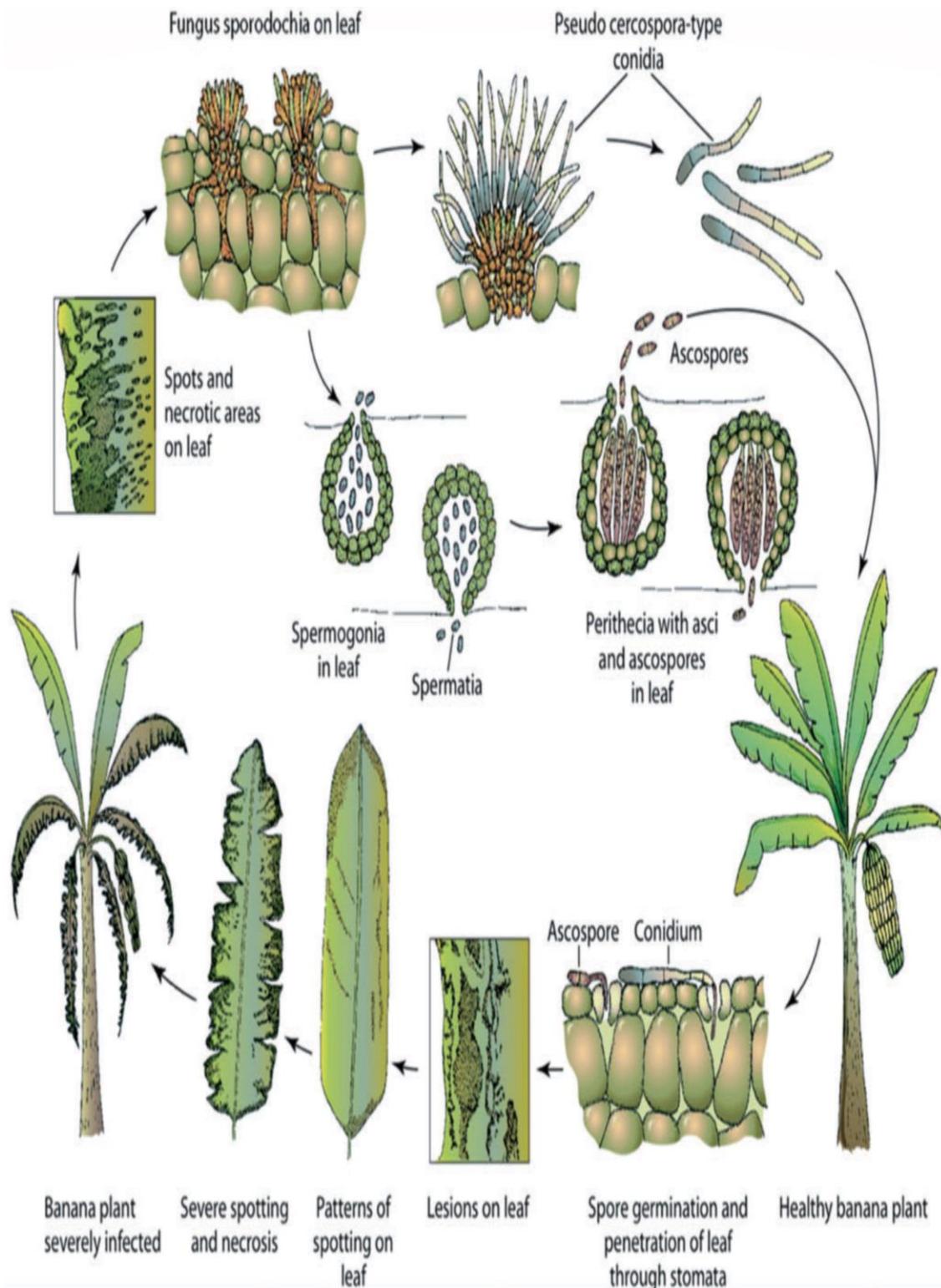
*Phytophthora cinnamomi* en México, causa una de las enfermedades de mayor importancia en el cultivo de aguacate, causando la pudrición de raíces (Zentmyer *et al.*, 1994). Zapata y Leal (2018) proponen alternativas para el Manejo Integrado de la Enfermedad (MIE), a través de prácticas basadas en manejo cultural y biológico, uso de patrones resistentes y manejo

químico como: a) esterilización del sustrato con fumigantes químicos, b) buena ventilación entre plantas, c) buenos drenajes y d) tratamiento en las semillas con fungicidas sistémicos.

## **2.2. Biología de *M. fijiensis***

*M. fijiensis* es un hongo fitopatógeno que pertenece al Filo: Ascomycota, Género: *Mycosphaerella* M. Morelet (1969). Estos patógenos se hospedan exclusivamente en el follaje de la Familia: Musáceae, presentando dos tipos de reproducción: asexual y sexual (Figura 1). El primer tipo de reproducción genera esporas (conidios), en la reproducción sexual se producen las ascosporas, lo que lo vuelve más exitoso en su propagación y reproducción (INTAGRI, 2018). Este hongo causa una enfermedad conocida como sigatoka negra o enfermedad de la raya de la hoja negra, obtiene este nombre debido al color negro de las rayas y manchas, es la enfermedad foliar más destructiva y en las hojas de la familia musácea a nivel mundial (Marín *et al.*, 2003).

Las manchas foliares reducen el área fotosintética de las plantas (Figura 2), causando la madurez prematura de los frutos y como consecuencia la disminución de la producción de fruta en un 38% (Marín *et al.*, 2003). *M. fijiensis* se encuentra ampliamente distribuido en la mayoría de los países productores del mundo, incluyendo las regiones bananeras de México.



**Figura 1.** Ciclo de vida de *M. fijiensis* y el desarrollo de la enfermedad de la raya de la hoja negra de *Musa* spp., (Fuente: Agrios, 2005; Churchill, 2011).



**Figura 2.** Síntomas de manchas foliares por *Mycosphaerella* en banano, donde se observa una reducción del área fotosintética de la hoja: (A) sigatoka amarilla, (B) sigatoka negra y (C) mancha foliar en Musáceas, (Fuente: Orozco *et al.*, 2013).

### 2.2.1 Infección y Sintomatología

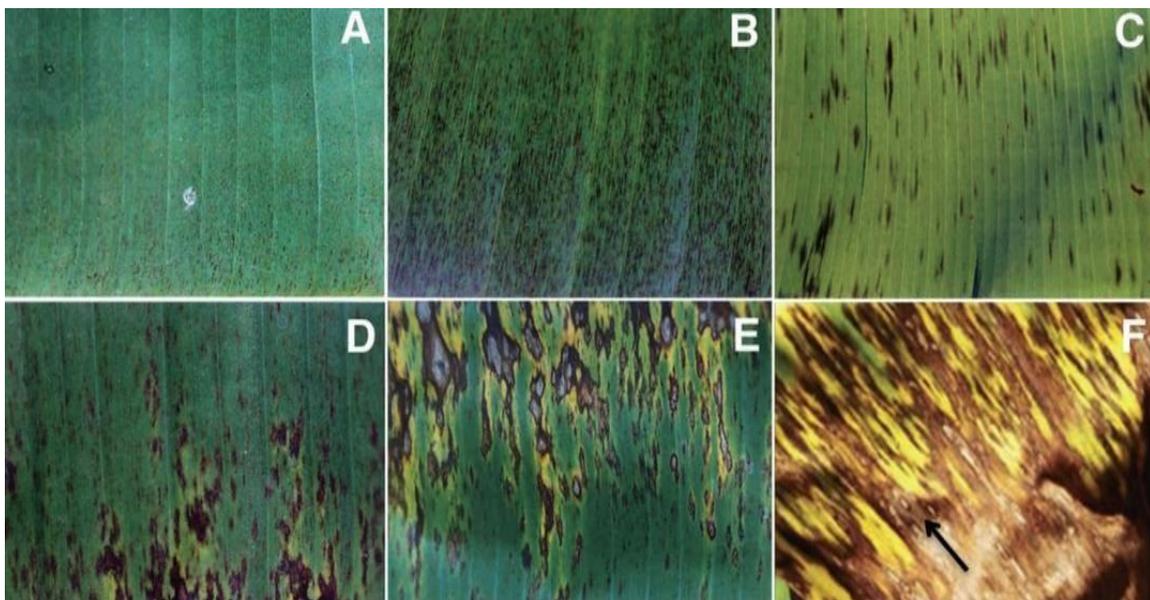
Las esporas (ascosporas y conidios) de sigatoka negra se propagan a través del viento, por la lluvia y el rocío de agua, las cuales son la principal fuente de infección (Marín *et al.*, 2003). Las ascosporas y conidios germinan en la hoja (Stover y Simmonds, 1987), seguido por un crecimiento epífito de los tubos germinativos, los cuales entran a la hoja a través del estoma (Meredith y Lawrence, 1970), para después proliferar en tejido intercelular de la hoja. El patógeno establece una relación biotrófica durante 3 a 4 semanas después de la penetración por el estoma antes de la aparición de síntomas necróticos (Hoss *et al.*, 2000). El desarrollo de la enfermedad es favorecido cuando existe alta humedad y altas precipitaciones, mientras que las temperaturas menores de 20 °C y períodos secos inhiben el crecimiento del hongo.

Se han identificado seis estados evolutivos de la sintomatología tanto de punto (uno), de raya (dos) y de mancha (tres) (Figura 3) (Sánchez *et al.*, 2005) que a continuación se describen:

- 1) Estado de punto inicial: aparición de puntos pequeños de color amarillo visibles en el envés de la hoja.
- 2) Primer estado de mancha: Formación de manchas de color castaño, visibles en el haz y paralelas a las venas laterales de la hoja.

- 3) Segundo estado de mancha: Alargamiento de las manchas hasta alcanzar una coloración marrón oscuro y son visibles en el envés como rayas amarillas.
- 4) Primer estado de mancha: Ensanchamiento de las rayas de color marrón oscuro y rodeado por una zona amarilla tenue.
- 5) Segundo estado de mancha: Inicio de color negro de la mancha y formación de un halo amarillo en el tejido foliar que rodea el borde de la mancha.
- 6) Tercer estado de mancha: El centro de la mancha se seca, adquiriendo un color gris tenue, tornándose en una forma comprimida. La mancha está rodeada por un borde estrecho, color pardo oscuro o negro. Entre este borde y el color verde de la hoja, hay una zona de transición amarillo brillante.

El agente causal de la enfermedad de la raya negra en *Mussa* spp., presenta una fase sexual o ascógena y una fase asexual o conídica.



**Figura 3.** Estados del desarrollo de la enfermedad de la raya negra de acuerdo con Fouré, (1985). A) Estado 1 decoloración, B) Estado 2 puntos, C) Estado 3 raya, D) Estados 4 mancha negra y E) estado 5 mancha negra con halo amarillento, F) Estado 6 mancha con centro de color gris o blanco. (Fuente: Churchill, 2011; Scot C. Nelson, Universidad de Hawái, Manoa: Fouré, 1985).

### **2.3. Efectos de *M. fijiensis* en cultivos de importancia económica**

Brown y Hammond (2012) mencionan que durante la infección de *M. fijiensis*, existe un contacto extracelular entre el patógeno y las células hospederas, donde se producen una secreción de proteínas fúngicas como celulasas, hemicelulasa, pectinasas, esterases, cutinases y oxidorreductasas, que participan en la nutrición fúngica y actúan degradando la pared celular de tejido foliar para que el hongo pueda cumplir su ciclo biológico. Un paso clave para el control de *M. fijiensis* es reconocer cada etapa de infección (Quevedo *et al.*, 2018).

Debido a la falta de resistencia efectiva del huésped, el manejo de esta enfermedad requiere aplicaciones frecuentes de fungicidas, lo que aumenta enormemente los costos económicos y ambientales para producir banano. Las aplicaciones semanales en la mayoría de las plantaciones de banano conducen a una rápida evolución de cepas resistentes a fungicidas en poblaciones que causan fallas en el control de enfermedades en todo el mundo (Arango *et al.*, 2016). Por tal motivo, el estudio del sistema patológico constituye una prioridad, sin embargo, los principales mecanismos activados en el banano después de la infección aún se desconocen y son una limitación para una mejor comprensión de esta compleja relación (Mendoza *et al.*, 2017).

Espinoza (2017) menciona que el principal problema de exportaciones de banano en el Ecuador, es la presencia de sigatoka negra, (*M. fijiensis*) manifestando daños en las hojas con severas lesiones, o estrías, que conforme al crecimiento y reproducción del hongo se observan manchas necróticas que reducen la actividad fotosintética causando alteraciones en su fisiología, minimizando la productividad del cultivo, desmejorando la calidad de la fruta y la rentabilidad, generando así pérdidas hasta del 100%. El hongo causa pérdida en peso del racimo en un 50% y el 100% de la producción, debido a su deterioro en la calidad cuando no se realizan controles fitosanitarios en las plantaciones (Valdiviezo, 2018).

### **2.4. Manejo integral de *M. fijiensis***

Para combatir la enfermedad se requiere conocer su comportamiento a través del tiempo, su relación con el clima y las prácticas de manejo. La práctica más importante para reducir la fuente de inóculo es la remoción de hojas afectadas o porciones de éstas. El tejido removido

se deposita en el suelo, la aplicación de urea para acelerar su descomposición (Orozco-Santos, 2008). Menciona como una práctica alternativa al "mini composteo", que consiste en la degradación de materia orgánica producida por el mismo cultivo permitiendo reducir el inóculo, aportando nutrientes al suelo. La poda temprana de hojas jóvenes (antes de presentar lesiones) y la eliminación rápida de plantas cosechadas. También, menciona el manejo agronómico del cultivo; densidad de plantación, sistemas de drenaje, métodos de riego, control de malezas.

Borja (2019) presenta aspectos técnicos acerca de las alternativas para el control de la sigatoka negra *M. fijiensis* en el cultivo de banano resaltando labores culturales como el deshoje, la poda y la cirugía fitosanitarias. Además, este trabajo menciona la enfermedad de la sigatoka amarilla *Mycosphaerella musicola* para evitar confundir las dos especies de hongos.

Garnica (2000) menciona una pequeña región de Colombia que comenzó a realizar diferentes ensayos de investigación con distintos métodos, en donde se demostró que el cultivo de plátano bajo sombra, proporcionada por diferentes especies forestales reducía la severidad de la sigatoka negra y los costos de producción, al reducirse actividades como control de malezas, control fitosanitario, químico de la enfermedad y fertilización. Con base en análisis nutricionales y del suelo trata de explicar estas interacciones con especies forestales para ser aplicadas en diferentes casos.

El quitosano es un biopolímero catiónico empleado para el control la sigatoka negra debido a que es un producto natural biodegradable y no tóxico que no ocasiona daños a la salud humana y vegetal (Ayala *et al.*, 2014). Para ello elaboraron diferentes ácidos con el quitosano, los caracterizaron y se compararon con quitosanos comerciales, así mismo, en un ensayo *in vitro* observaron efectividad contra el hongo a partir de 50 mg/L de quitosano, haciendo comparaciones contra otros productos químicos usados para el combate del mismo hongo; como resultado observaron una mejora sustancial en el aspecto de las plantas, la cantidad de hojas sanas y al final de la cosecha.

Mendoza *et al.* (2017) determinaron un efecto perjudicial en la aplicación de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en las hojas de las plantas de banano durante el desarrollo de la enfermedad de la raya negra. Para este propósito, utilizaron las primeras tres hojas abiertas de cada planta

inoculándola con el aislado monoascospórico de *M. fijiensis*, posterior a tres días, pulverizaron diferentes concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10, 20, 30 y 40 mmol L<sup>-1</sup>) a las plantas inoculadas y no inoculadas. Las variables fueron: (1) distribución, frecuencia y factores determinantes de la enfermedad en plantas de banano inoculadas, (2) plantas rociadas con (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y plantas control (inoculadas con *M. fijiensis*), así como el área de las lesiones necróticas.

Sánchez y Stalin (2017) establecieron el impacto del uso de tres estimulantes orgánicos y fertilización sobre el desarrollo, producción y resistencia a la sigatoka negra en relación con el número de hojas por planta en el cultivo de banano. Este ensayo se realizó en un periodo de siete meses con un diseño completamente al azar con 6 tratamientos en tres repeticiones. Los tratamientos fueron: fertilización potásica al 150 %, fertilización potásica al 100 %, kelpak, agrostemín, nbo y un testigo. Dentro de los resultados, la fertilización potásica al 150% produjo más hojas a la parición con 15,4 (promedio de numero de hojas) siendo los tratamientos de fertilización potásica al 100% y agrostemín con los que las plantas llegaron con mayor número de hojas a la cosecha con un promedio de (7,5 hojas) habiendo menor pérdida de follaje por ataques de sigatoka negra.

Espinoza (2017) reporta pruebas realizadas con aceites minerales y sus resultados haciendo mención en los efectos fitotóxicos que son la gran problemática de estos. Los ensayos con aceites minerales a dosis altas minimizan el peso de la fruta, reducen la actividad fotosintética, pero presentan un alto efecto fungistático en el control del hongo. Determinó el efecto fungistático de aceites minerales parafínicos para el control de sigatoka negra en plantas de banano (*Musa* spp.) utilizando el método de hoja simple. Para este trabajo realizaron 7 tratamientos con 5 repeticiones incluyendo un testigo: T1 (spray oel), T2 (banole hv), T3 (max par) y T4 (harvestol), aceites minerales parafínicos al 100% y dos tratamientos T5 (banana film) y T6 (cosmo oil) coadyuvantes que actuaron como reemplazo de los aceites, el T7 (testigo absoluto). Aplicó los tratamientos en el margen derecho del haz de la hoja, 1 y 2 simulando una aplicación aérea comercial, obteniendo una homogeneidad sobre el margen de la hoja, con una dosis de 500 mL (150 mL de producto + emulad al 1% + Agua) para los aceites minerales parafínicos y 500 mL (26,42 mL de producto + Agua) para los coadyuvantes. Como variables utilizó la evaluación del crecimiento del hongo cada 7 días hasta llegar a los 49 días. También realizó un ANOVA de un factor y diseño bloques

completamente al azar. Concluye que el efecto de los aceites minerales sobre la hoja 1 y la hoja 2, los tratamientos 1, 2, 3 y 4 presentan un mejor control sobre la enfermedad, a diferencia de los coadyuvantes que no mostraron un efecto fungistático.

#### **2.4.1 Control químico de *M. fijiensis* en los campos agrícolas**

Un problema con el uso de fungicidas, además de la presión de selección, es la capacidad de generar resistencia ante estos químicos. Entre los diferentes mecanismos de resistencia se encuentran: 1) alteraciones en el sitio blanco, lo cual ocasiona la reducción de la sensibilidad del organismo al producto químico, 2) modificaciones en la vía metabólica, lo que evita que el compuesto llegue a su sitio de acción, 3) desactivación metabólica del fungicida, y 4) excreción del fungicida (Bosch et al., 2014). De acuerdo con Mena y Couoh (2015) el mecanismo de resistencia es la modificación genética del sitio de acción del fungicida, esta modificación es generada por un cambio en la secuencia genética codificadora de la enzima o proteína que constituye el sitio de acción en el hongo. De acuerdo con este criterio, los fungicidas pueden tener un sitio de acción múltiple (carbamatos) o sitios específicos (triazoles) (Zhan et al., 2014). Casco y Kronfle (2018) mencionan que el uso de químicos ha llevado al desarrollo de resistencia a nivel de campo.

Martínez et al. (2012) reportan que para el control de *M. fijiensis* de *Musa acuminata* Colla AAA y *Musa balbisiana* Colla AAB, se requieren aplicaciones de fungicidas, principalmente de triazoles que inducen alta presión de selección en poblaciones del patógeno. Esto se concluyó mediante bioensayos en medio PDA a diferentes concentraciones de los fungicidas propiconazol y tridemorf en varias cepas de *M. fijiensis* aisladas de plantas de banano en los estados de Tabasco y Chiapas, México, mostrando una correlación positiva entre el número de aplicaciones y concentraciones efectivas del 50 y 95% obtenidas mediante un análisis Probit.

Sepúlveda (2016) realizó una caracterización fenotípica de aislamientos de *M. fijiensis* con relación a su sensibilidad los fungicidas pyraclostrobin, epoxiconazole y tridemorf esperando complementar los métodos actuales de monitoreo de resistencia. Utilizando el tejido foliar sintomático, obteniendo aislamientos monospórica cuantificando la sensibilidad poblacional e individual. Posteriormente comparo la sensibilidad con los rasgos fenotípicos de cada aislamiento. Como resultado obtuvo los rasgos asociados con una mayor sensibilidad a

pyraclostrobin, estos mismos rasgos los obtuvo con el epoxiconazol. Para tridemorf observó un aparente dominio compartido entre individuos con rasgos asociados a baja y alta sensibilidad. Como conclusión, menciona que una caracterización fenotípica permitiría conocer si existe un mayor o menor número de individuos tolerantes y poder definir de esta forma el momento adecuado para aplicar este sin aumentar la presión de selección sobre estos individuos (Sepúlveda, 2016).

Murillo (2015) determinó la pérdida de sensibilidad *in vitro* de 11 fungicidas sistémicos contra la sigatoka negra y su eficacia biológica a nivel de campo. La investigación se llevó a cabo en dos etapas, dentro de tres localidades, con diferentes niveles de sensibilidad; Santa Clara (silvestre), La Rita (poco resistente) y Palacios (resistente), Costa Rica, con poblaciones de *M. fijiensis*. En la primera realizó un análisis de sensibilidad *in vitro* de las tres localidades, mediante ascosporas en medios de cultivo con diferentes concentraciones de los fungicidas. Determinó la pérdida de sensibilidad al propiconazol, difenconazole, tridemorf, fenpropimorf, spiroxamina, pyraclostrobin, boscalid, metil tiofanato y dietofencarb. En la segunda etapa realizó aplicaciones de los fungicidas a nivel de campo en 8, 12 y 16 días post infección, Los resultados que obtuvo son evidencia de un grave problema de resistencia en las poblaciones de *M. fijiensis*, a la mayoría de los fungicidas sistémicos empleados en el combate de la sigatoka negra (Murillo, 2015).

Portilla (2017) evaluó la respuesta de *Musa* spp., AAA Simmonds, cultivar Williams a las aspersiones foliares de tres fungicidas sistémicos, pyraclostrobin, pyrimethanil y epoxiconazole para el control de sigatoka negra con una duración de dos meses. Los resultados mostraron diferencias estadísticas. Concluye que la utilización de fungicidas sistémicos efectivos, aumentan el control de la sigatoka negra, disminuyendo el daño y la severidad que el hongo causa en la zona foliar del banano, aumentando sus mecanismos, como la capacidad fotosintética y minimizando la necrosis que provoca esta enfermedad.

Bautista (2017) evaluó la eficacia del fungicida dithane y emthane, productos comerciales cuyo ingrediente activo es mancozeb para el control de la sigatoka negra en el cultivo de banano (*Mussa acuminata* AAA, variedad Williams enano). Las variables fueron: eficacia del producto a través de las distintas dosis y testigos, hoja más joven infectada (YLI), área foliar afectada (AFA), hojas totales y datos económicos de los productos en un diseño completamente al Azar. Como resultados obtuvo que a los 49 días después de la aplicación

no tuvo diferencias estadísticas, pero resalta que el tratamiento de mancozeb a dosis media (T2) obtuvo un menor porcentaje de infección con un 20,5%. Para la variable hoja más joven infectada, tampoco observó diferencias estadísticas debido a que dithane en las diferentes dosis (T1, T2, T3) y emthane obtuvieron los mismos resultados al contener hojas libres de infección a los 49 días. En la variable AFA, observó diferencias estadísticas pero el tratamiento de dithane a dosis media (T2) presentó los mejores resultados con un 26,2% de infección. Para la variable hojas totales no hubo diferencia estadística para ninguno de los tratamientos incluido el testigo absoluto.

Valdiviezo (2018) realizó un experimento para determinar el efecto de dos fungicidas para el control de Sigatoka negra en plantas de banano entre 25 y 30 cm de altura. Los tratamientos fueron: Tratamiento 1 (banana film 1L), Tratamiento 2 (banana film 1L + bravo 1L (clorotalonil)), Tratamiento 3 (bravo 1L) y Tratamiento 4 (testigo) en un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) para pruebas estadísticas). La aplicación de los productos la realizó en el lado derecho de la lámina foliar 1 y 2, y la preparación de las mezclas se llevó a cabo con 52,85 mL de producto más 947,15 mL de agua dando como resultado la dosis final de 1,000 mL (1L). Las variables de respuesta fueron: la evaluación del progreso de la enfermedad cada 7, 14, 21, 28, 35, 42 días en hoja 1 y 2 de cada tratamiento aplicado y determinar la menor área bajo la curva del progreso de la enfermedad. De acuerdo con sus resultados los mejores tratamientos fueron el 2 y 3, ya que presentaron un mejor control sobre el hongo.

#### **2.4.2 Control biológico**

El control biológico de enfermedades consiste en el uso de microorganismos o los productos de su metabolismo, para erradicar total o parcialmente las poblaciones de un patógeno o para proteger directamente a las plantas de los patógenos en el sitio de infección antes o después de que ocurra esta (Guzmán, 2012).

El uso de estos ha sido más exitoso con algunas enfermedades de suelo y mucho menos exitoso para el caso de enfermedades foliares. En cuanto a la sigatoka negra, no ha sido atendido el control biológico debido a la disponibilidad de fungicidas altamente efectivos, así como al poco interés por desarrollar métodos alternativos de control y a la carencia de apoyo económico para financiar la investigación (Guzmán, 2012).

Guzmán (2012) utilizó bacterias antagonistas a *M. fijiensis* formadoras de endosporas como *Bacillus subtilis* y *Bacillus amyloliquefaciens*, que producen metabolitos que alteran la estructura de la pared celular del micelio y las ascosporas inhibiendo fuertemente *in vitro* el desarrollo del patógeno. En estudios bajo condiciones controladas (*in vitro* y en invernadero) estos microorganismos (*B. subtilis* y *B. amyloliquefaciens*) han brindado un nivel de control similar al control químico, pero bajo condiciones de campo su desempeño ha sido inferior. También aisló y evaluó hongos del filoplano de banano con propiedades quitinolíticas y se ha encontrado que algunos aislamientos son capaces de producir metabolitos secundarios con una alta actividad fungicida contra *M. fijiensis* en condiciones *in vitro* e invernadero.

Gutiérrez-Román *et al.* (2015) determinaron los mecanismos por los cuales *Serratia marcescens* CFFSUR-B2 es un agente eficaz para el control biológico de *M. fijiensis*, utilizando una mezcla de quitinasas. Aunque la germinación de ascosporas no fue inhibida por ninguno de los tratamientos, todos redujeron significativamente el crecimiento del tubo germinal, principalmente ChiB, ChiA y ChiC 56, 44 y 43%, respectivamente. La morfología del tubo germinal también se vio afectada por los tratamientos, lo que provocó la aparición de tubos múltiples, cortos y distorsionados. Cuando las células de la cepa CFFSUR-B2 se aplicaron a las ascosporas inmediatamente después de su descarga, su germinación se inhibió por completo.

Según Ortega y Stalin (2016) una alternativa para controlar hongos fitopatógenos es la bacteria *Bacillus subtilis* que produce una amplia gama de compuestos con propiedades antifúngicas, como son la surfactina, iturina y fergicinas. Los mecanismos de acción de esta especie son la antibiosis, competencia, inducción de resistencia y promotor de crecimiento. Entre los mecanismos de acción de los compuestos antifúngicos está la inflamación anormal de las hifas, lisis y degradación completa de la punta de las hifas, además la interferencia de las germinaciones de conidios y esclerocios. Analizaron 5 casos de estudios de *B. subtilis* y concluyen que efectivamente *B. subtilis* puede controlar enfermedades, cuando la bacteria tiene los nutrientes y condiciones necesarias para poder desarrollarse. Finalmente, determinaron las condiciones de crecimiento óptimas del *B. subtilis* en campo y la forma de combinar su uso con otros compuestos antifúngicos.

Pila (2016) determinó avances en el control biológico de enfermedades en cultivos de importancia económica como; *Oryza sativa* L. (arroz), *Solanum tuberosum* L. (papa), *Musa*

spp. (banana), mencionando a *Bacillus subtilis* y su rol importante, puesto que sus lipopéptidos demuestran su efectividad al momento de controlar un rango muy amplio de enfermedades que atacan a los cultivos de mayor importancia a nivel global. Analizó tres cultivos diferentes que muestran la efectividad de *B. subtilis* para el control de las enfermedades más devastadoras. Determinó que en *Magnaporthe oryzae*, la severidad puede ser detenida con gran efectividad, por lo que menciona ampliar la experimentación hacia la protección de la semilla del arroz. Para *Rhizoctonia solani* enfermedad gran importancia no sólo en el cultivo de papas, sino que en toda la variedad de solanáceas y leguminosas cultivadas. En tanto que para *M. fijiensis* se detallan excelentes resultados.

Gutiérrez-Monsalve *et al.* (2015) evaluaron el efecto de un fungicida microbiano (FM) basado en *B. subtilis* y sus metabolitos para el control de la enfermedad de sigatoka negra en plantas de banano en invernadero y en condiciones de campo. El FM aplicado igualó al fungicida protector clorotalonil en invernadero. En el campo, el FM aplicado en solución con agua redujo la severidad de la enfermedad en un 20,2% y 28,1% respectivamente; comparable con el clorotalonil (1,5 L / ha) y mancozeb (3,8 L / ha). El FM redujo el nivel de enfermedad hasta un 42,9%. Determinaron el componente del FM responsable de la actividad contra *M. fijiensis*. Estableciendo pruebas de invernadero e *in vitro* para evaluar individualmente las esporas, las células vegetativas y los metabolitos secundarios de *B. subtilis*. Entre los resultados obtuvieron que todos los componentes sirvieron contra la enfermedad y la germinación de ascosporas. Para ambos ensayos, la actividad de los metabolitos fue comparable a la actividad obtenida con el FM, lo que indica que la eficacia de este depende de los metabolitos y no de las células de *B. subtilis*.

Cabero *et al.* (2015) estudiaron el potencial de 29 aislamientos de *Trichoderma* spp. para el control de la sigatoka negra en condiciones de campo. El aislado 2,047 mostró los mejores resultados y fue seleccionado para pruebas de sensibilidad a fungicidas y producción en masa. Este aislado se identificó como *Trichoderma atroviride*, tan efectivo como el fungicida azoxystrobin, que se recomienda para controlar la sigatoka negra, por lo que este agente tiene potencial para controlar la enfermedad y puede ampliarse para aplicaciones de campo en fermentación sólida a base de arroz.

Castillo *et al.* (2016) evaluaron la cepa tropical y micoparásita *Streptomyces galilaeus* como un antagonista de *M. fijiensis*. Detectaron cuatro quitinasas de 18 familias de *Streptomyces*

sp. Posteriormente, purificaron dos cepas, y se probaron contra *M. fijiensis*. Las quitinasas no lograron inhibir la germinación de ascosporas, pero inhibieron hasta el 35 y 62% del alargamiento del tubo germinal y el crecimiento micelial, respectivamente. Catalogándolas como agentes potenciales de biocontrol de la enfermedad.

La resistencia sistémica inducida (ISR) consiste en inocular raíces de plantas con bacterias contra patógenos que causan enfermedades, estas bacterias son capaces de inducir resistencia sistémica en las plantas (Marcano *et al.*, 2016). Marcano *et al.* (2016) utilizaron 26 cepas no patógenas y endofíticas aisladas de raíces de bananos en cuatro diferentes regiones de la República Dominicana, inocularon las hojas de *Musa* spp. para evaluar el efecto sobre la Sigatoka negra en condiciones de cámara de crecimiento. Obtuvieron cinco cepas del género *Bacillus* (relacionadas con *B. licheniformis*, *B. siamensis*, *B. subtilis* ssp., *B. Inaquosorum*) y *Rhizobium massiliae* que controlaron la enfermedad de Sigatoka negra.

Cruz (2018) determinó el potencial de cepas de *Bacillus* spp. aisladas de la filosfera de *Musa* spp. como agentes de biocontrol de *M. fijiensis*. Realizó aislamientos y aisló bacterias productoras de metabolitos antifúngicos (volátiles y difundidos) con características para el control biológico de la sigatoka. Utilizó la cepa *Bacillus pumilus* cuyo filtrado inhibió el crecimiento *in vitro* de *M. fijiensis*, y provocó cambios en la morfología y estabilidad de la membrana citoplasmática. Además, tuvo efecto sobre el patógeno y la expresión de la enfermedad en plantas inoculadas artificialmente el cual dependió del momento de aplicación. Teniendo en cuenta las características de las cepas obtenidas en este trabajo, se utilizarán en diferentes investigaciones para validar su empleo como promotoras del crecimiento en la aclimatación de plantas *in vitro* de *Musa* sp.

### **2.4.3 Extractos vegetales**

Mesa *et al.* (2019) nos muestra una visión general sobre la evaluación y actividad biológica *in vitro* de extractos vegetales sobre hongos fitopatógenos. Haciendo énfasis en metodologías experimentales para la obtención de extractos vegetales y la caracterización de metabolitos secundarios, así como los métodos de inhibición del hongo. Por último, menciona algunas recomendaciones para clasificar la potencialidad de un extracto vegetal sobre un patógeno estableciendo un buen uso de agentes antifúngicos.

Los extractos vegetales y los compuestos obtenidos deben evaluarse para conocer su potencial biológico a nivel *in vitro* e *in vivo*. En su mayoría los métodos de evaluación biológica sobre hongos fitopatógenos consisten en la exposición del hongo a diferentes concentraciones de extracto en medio PDA (Mesa *et al.*, 2019).

Riofrío (2012) menciona al género *Piper* (pimientas), como uno de los más empleados en la industria: alimenticia, farmacológica y agrónoma, de gran importancia económica. El mildiú polvoso es una enfermedad criptogámica de relevancia en la producción y exportación de rosas a nivel mundial. Una de las alternativas propuestas para su regulación es mediante el empleo de extractos vegetales que actúen como agentes antifúngicos.

Cisneros *et al.* (2019) utilizaron extractos vegetales de la especie arbustiva *Piper carpunya* para determinar si influyen significativamente sobre el número de conidios del fitopatógeno *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae* en condiciones *in vitro*. Para esto seleccionaron muestras de hojas para someterlas a procesos de extracción (hidrodestilación y maceración) en 3 diferentes solventes (etanol comercial, alcohol de caña y H<sub>2</sub>O estéril) con el objetivo de determinar el método de extracción y concentración que permita un mejor control biológico sobre esporas del patógeno *S. pannosa* var. *rosae*. Los resultados que obtuvieron indican que el método de extracción por hidrodestilación al 90 % fue el más efectivo contra la presencia de esporas *in vitro*, además de que los extractos tenían en su composición química, metabolitos reportados con actividad antimicrobiana.

La especie *Tagetes lucida* conocida como (pericón), es un recurso natural de México cuyo aceite esencial tiene propiedades antifúngicas, aunque no se ha explorado el efecto que puede ocasionar para todos los hongos fitopatógenos (López *et al.*, 2018). En este trabajo evaluaron la actividad antimicótica *in vitro* del aceite esencial de *Tagetes lucida* obtenido por hidrodestilación contra *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium janthinellum* y *Rhizoctonia solani* de una población de Hidalgo, México. El método se realizó mediante la técnica de difusión en agar a diferentes concentraciones, los resultados mostraron una inhibición del 46% en el crecimiento micelial para *F. oxysporum*, 39% en *R. solani*, 21% en *A. niger* y 16% en *P. janthinellum*; sin embargo, en concentraciones altas de aceite, sólo en *R. solani* se observó la mayor reducción del crecimiento micelial (72%), dentro de los componentes más destacados se encuentran el estragol (48%) y anetol (35%).

Casco y Kronfle (2018) mencionan la fitoalexinas (compuestos antimicrobianos) que se acumulan en algunas plantas y reducen la incidencia de enfermedades. En su estudio evaluaron el efecto de dos fungicidas orgánicos obtenidos de *Reynoutria sachalinensis* y *Bacillus amyloliquefaciens*. Como resultados obtuvieron que *R. sachalinensis* mostró un control parcial de los tubos germinativos de *M. fijiensis*, mencionan que no es recomendable hacer aplicaciones de los fungicidas orgánicos a las 38 semanas después de siembra.

Entre otras enfermedades que limitan la producción del banano, además de la sigatoka, se encuentran el nematodo barrenador *Radopholus similis* atacando a las raíces; la pudrición de la corona, una enfermedad de postcosecha causada por un complejo de hongos. Yanes y Alcivar (2017) plantearon evaluar el efecto biofungicida de los extractos botánicos de *Aloe vera* y *Moringa oleífera* en el control de la pudrición de corona. Evaluaron el: T1 (*A. vera* esterilizado), T2 (*A. vera* sin esterilizar), T3 (*Moringa* esterilizado), T4 (*Moringa* sin esterilizar), T5 (mertect + fungaflor) y T6 (Testigo), midiendo su grado de severidad. De estos, el tratamiento 2 (*A. vera* sin esterilizar) con dosis de (50 cc), en conjunto con el producto químico (mertect + fungaflor) inhiben el desarrollo de la enfermedad.

Adirano *et al.* (2018) determinaron el efecto de la combinación de los extractos etanólicos de *Allium sativum* (ajo) y *Syzygium aromaticum* (clavo) al 60 y 96 % respectivamente en el desarrollo de *M. fijiensis*. Sus resultados mostraron que, a mayor concentración de ajo, menor capacidad de inhibición en el desarrollo de *M. fijiensis*, en cambio para el extracto de clavo hubo mayor inhibición a mayor concentración, siendo de 150 mg de extracto de ajo y 36 mg de extracto de clavo.

Ávila 2016 comprobó el efecto antifúngico de los extractos de *Cymbopogon citratus* Staff., *Borago officinalis* L., *Rosmarinus officinalis* L, *Aloysia triphylla* L y *Foeniculum vulgare* M en *Mycosphaerella* sp. Realizó seis tratamientos con cinco repeticiones, más un testigo, las variables fueron el crecimiento micelial y porcentaje de control evaluadas cada 10 días durante 30 días. Los extractos vegetales evaluados fueron *Cymbopogon citratus* Staff (T1), *Borago officinalis* L (T2), *Rosmarinus officinalis* L (T3), *Aloysia triphylla* L (T4), *Foeniculum vulgare* M (T5) y un Testigo (T6), con un diseño completamente al azar. Como resultados obtuvo que los mejores extractos con efecto antifúngico *C. citratus*, *R. officinalis* y *A. triphylla* siendo el primero de estos el que presenta el mejor porcentaje con un 64,52%

de inhibición; el efecto antifúngico de *C. citratus* Staff se debe a que contiene aceite esencial (0,5 – 0,7 %) citral, geranial y neral. Triterpenoides (cimbopogana, cimboportal) y flavonoides (luteolina, isoorientina).

Manzo *et al.* (2018) evaluaron la actividad antifúngica de tres extractos etanólicos de propóleo sobre el crecimiento *in vitro* de *M. fijiensis*. Establecieron un bioensayo: dos extractos de Colima, México y el tercero de Yucatán, México, empleando cuatro concentraciones para cada uno (1,25, 2,5, 5,0 y 10,0% v/v). Determinaron la tasa de crecimiento diaria (TCD), porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (%ICM), concentración efectiva media y contenido de fenoles totales. Como resultados y conclusiones, mostraron que el extracto etanólico, de propóleo Yucatán, redujo la TCD y presentó los % ICM más altos en *M. fijiensis*. El propóleo de Yucatán (140,47 µg/mL) mostró mayor contenido de fenoles totales. Concluyeron que, por su baja concentración efectiva media, el propóleo de Yucatán posee mayor actividad antifúngica en comparación a los dos propóleos locales estudiados.

Gutiérrez-Jiménez *et al.* (2018) evaluaron el efecto de los aceites esenciales de *Pimenta dioica*, *Piper auritum*, *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Origanum vulgare*, *Artemisia ludoviciana* y *Origanum majorana*, en el crecimiento micelial de *M. fijiensis* en condiciones *in vitro*, obteniendo los aceites esenciales mediante el método de hidrodestilación, el patógeno se aisló y desarrolló en medio de cultivo PDA. En este trabajo utilizaron cinco concentraciones: 50, 100, 500, 1000 y 5000 ppm de cada aceite. Para luego identificar los metabolitos de cada uno de los aceites esenciales, utilizando cromatografía en capa fina (CCF) y cromatografía en columna (CC). Como resultados obtuvieron que los aceites de *P. dioica*, *C. zeylanicum* y *O. vulgare* presentaron menor crecimiento micelial en *M. fijiensis* a una concentración de 500 ppm; mientras que *O. majorana* y *A. ludoviciana* a inhibieron a 1000 ppm.

Mendoza y Francisco (2017) evaluaron los efectos antifúngicos de los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus* (T4), *Cymbopogon nardus* (T5), *Cinnamomum zeylanicum* (T6), y *Melaleuca alternifolia* (T7), en relación con los fungicidas químicos como tiabendazol (T3), imazalil (T2), y tiabendazol+ imazalil (T1), más un testigo absoluto (T8), para el control de la enfermedad de la pudrición de corona en la fruta de banano que es afectada por los

patógenos como *Gloeosporium musarum*, *Colletotrichum* spp., *Thielaviopsis* spp., *Ceratocystis* spp., *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium* spp., *Verticillium* spp., además determinaron la menor severidad de la enfermedad que presentan los tratamientos y a su vez el menor grado de maduración del banano, de las cuales el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*, y fungicida mertect obtuvieron mayor efectividad llegando a la madurez completa.

Morales (2017) utilizó extractos de la hoja de *Moringa oleifera* para probarlos en el cultivo de banano llamado “Williams” de tres meses de edad, con cinco hojas funcionales y evaluar su efecto en el control de la sigatoka negra (*M. fijiensis*) en el cultivo. El extracto se obtuvo de material seco agregando agua estéril hirviendo, las dosis que evaluó fueron T1 (1%), T2 (3%), T3 (5%), T4 (10%), T5 (mancozeb) y T6 (Testigo), de estos el T4 (10%) tuvo mejor efecto antifúngico.

Mosquera *et al.* (2009) evaluaron 84 extractos vegetales obtenidos de 42 plantas recolectadas en el Parque Regional Natural Ucumarí (Risaralda, Colombia), para determinar su actividad fungicida a través de los métodos de elongación del tubo germinativo de las ascosporas y de la medición del crecimiento radial del micelio de *M. s.* El extracto metanólico de la especie *Topobea discolor* (Melastomataceae) presentó la mayor actividad antifúngica, al reducir en 100% el crecimiento de *M. fijiensis* en sus dos ciclos reproductivos.

Osorio *et al.* (2007) evaluaron 20 extractos metanólicos y 21 extractos de diclorometano de plantas pertenecientes a las Familias: Asclepiadaceae, Asteraceae, Euphorbiaceae, Rubiaceae y Solanaceae, recolectadas en la zona de reserva Bremen-La Popa (Quindío, Colombia) a través del método de elongación del tubo germinativo de las ascosporas. Se encontró que cinco extractos metanólicos (25%) y seis de diclorometano (28.6%) presentaron actividad *in vitro* contra *M. fijiensis*.

### **3. Justificación**

Actualmente se puede implementar el uso de los recursos naturales a través de un manejo sostenible y que esta logre la producción de alimentos y generar con esto un bienestar social, debe además ser amigable con el medio ambiente (Darts, 2008). Por otra parte, el aprovechamiento de las propiedades naturales, químicas y biológicas de las plantas permiten diseñar múltiples biocontroladores, convirtiéndose en una alternativa para el cuidado de plantas de interés agrícola, ante el ataque de patógenos; así como ser una propuesta para evitar el uso indiscriminado de agroquímicos que son altamente tóxicos y que además dañan la salud de todo el ecosistema (Darts, 2008).

Por mucho tiempo los agroquímicos utilizados para el control de patógenos han sido empleados excesivamente, causando graves problemas ambientales y muchos problemas de salud, tanto al que los aplica como a los que los consumen. También surgen otros tipos de problemas como la bioacumulación o la resistencia de patógenos a estos lo cual desarrolla un mayor uso en la cantidad de éstos. A través de nuevas prácticas para el control de patógenos se deben eludir problemas causados por el uso de químicos. La extracción de metabolitos secundarios de plantas son una buena propuesta, ya que gracias a su practicidad y bajo costo, pueden ser utilizados (García-Gutiérrez, 2012) o bien proponerse como ingredientes activos en una formulación comercial de menor impacto ambiental.

## **4. Hipótesis**

Los extractos vegetales de *Cinnamomum verum*, *Origanum vulgare*, *Schinus molle*, *Eucalyptus cinerea*, *Ruta graveolens* y *Tagetes lucida* presentan actividad antifúngica en *M. fijiensis*.

## **5. Objetivos**

### **5.1. Objetivo general**

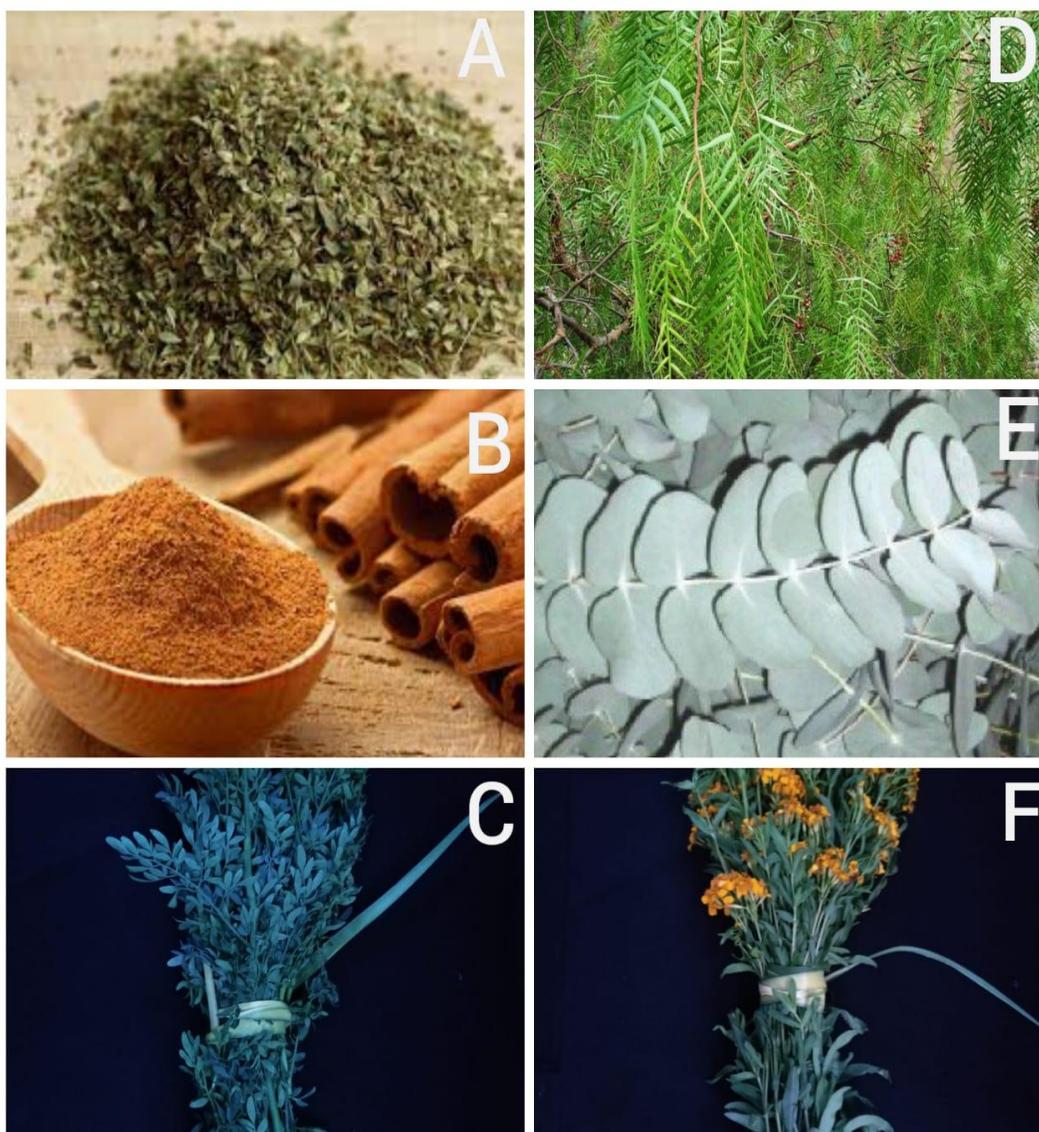
Evaluar la actividad antifúngica de hidrolatos de seis especies vegetales mediante cultivo *in vitro* para el control del crecimiento micelial de *M. fijiensis*.

### **5.2. Objetivos específicos**

- 5.2.1** Evaluar la actividad antifúngica de hidrolatos de *Cinnamomum verum*, *Origanum vulgare*, *Schinus molle*, *Eucalyptus cinerea*, *Ruta graveolens* y *Tagetes lucida* en condiciones *in vitro*.
- 5.2.2** Comparar inhibición del crecimiento micelial de *M. fijiensis* que presentan los hidrolatos a tres concentraciones experimentales (1 mL, 3 mL y 5 mL) en condiciones *in vitro*.
- 5.2.3** Determinar la dosis óptima de aplicación de hidrolatos que ejercen inhibición del crecimiento micelial de *M. fijiensis* bajo condiciones *in vitro*.

## 6. Método

El experimento se realizó en el laboratorio de Química Agrícola Ambiental en el Área Académica de Ciencias Agrícolas del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la UAEH. El material vegetal de las plantas *Schinus molle* y *Eucalyptus cinerea* fueron colectados en el área del Instituto de Ciencias Agropecuarias ICAP. Mientras que *Cinnamomum verum*, *Origanum vulgare*, *Ruta graveolens* y *Tagetes lucida* fueron adquiridos en el mercado local del municipio de Tulancingo, Hidalgo (Figura 4).



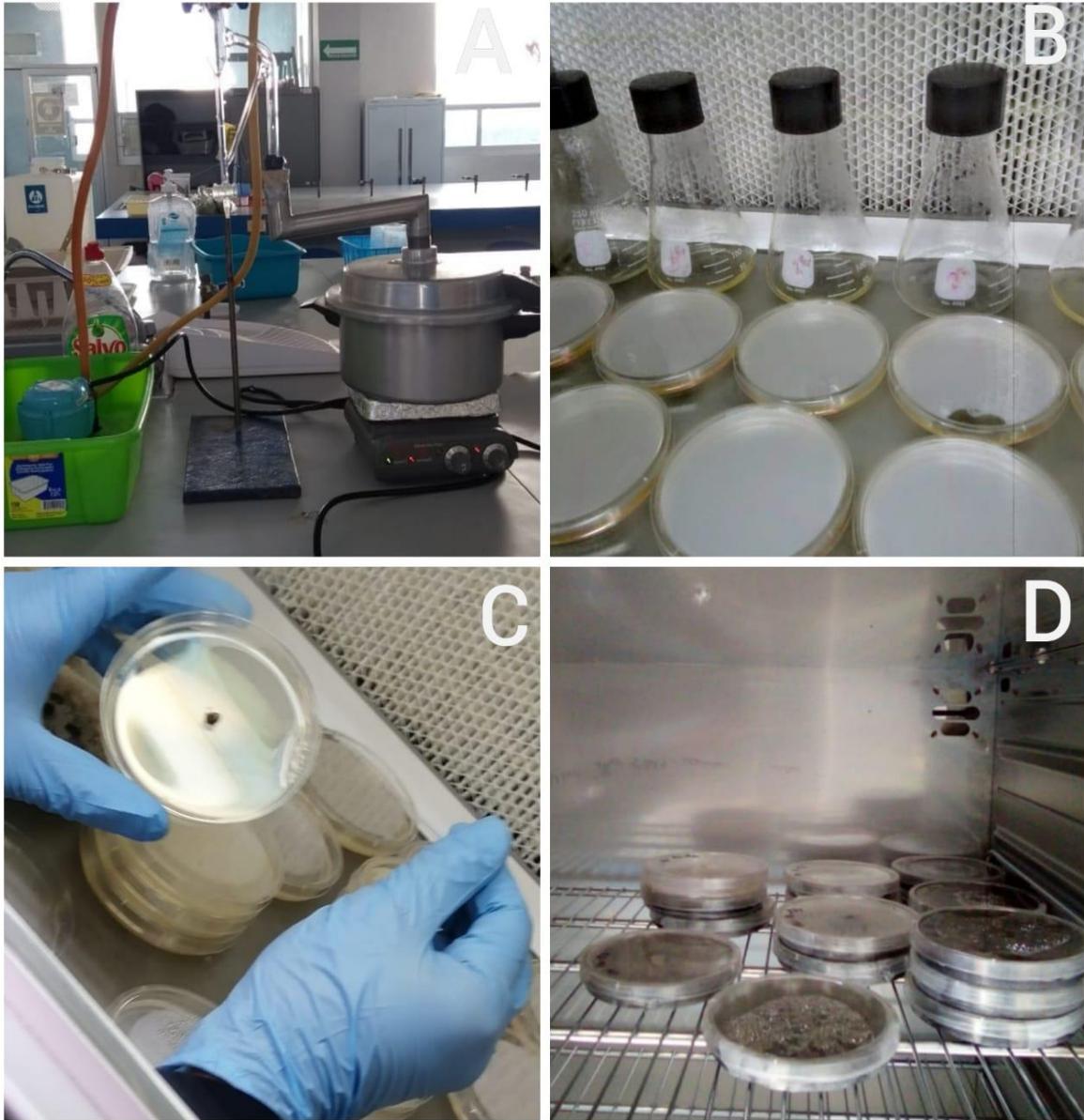
**Figura 4.** Especies vegetales utilizadas para evaluar efectos antifúngicos contra la sigatoka negra A) *O. vulgare* B) *C. verum* C) *R. graveolens* D) *S. molle* E) *E. cinerea* F) *T. lucida*.  
Fuente: autoría propia, 2019.

## **6.1. Obtención de extractos por proceso de hidrodestilación**

Las hojas se lavaron con agua destilada, posteriormente se dejaron secar a temperatura ambiente para molerlas en un molino manual, se pesaron 100 g de cada especie. El aceite esencial y el hidrolato se obtuvieron por hidrodestilación con trampa Clevenger (Figura 5). (Gutiérrez *et al.*, 2018). El hidrolato y el aceite fueron separados. El hidrolato se depositó en un matraz erlenmeyer de 250 mL y el aceite esencial en frascos de vidrio, mantenidos en refrigeración hasta su uso.

## **6.2. Siembra de *M. fijiensis* en cajas Petri para ensayos *in vitro***

La cepa del hongo fue obtenida del laboratorio de Química Agrícola Ambiental de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Para la siembra del hongo fitopatógeno, los materiales y medios de cultivo PDA se esterilizaron en la autoclave a una temperatura de 120 °C por 15 minutos. Posteriormente, en una cámara de flujo laminar se vertió el medio de cultivo dejándolo enfriar, después se realizó la siembra del hongo colocándolo en el centro de la caja las cajas Petri (Figura 5). Se incubaron a 28 °C por 96 horas (Figura 5). Haciendo mediciones a partir de las 24 horas.



**Figura 5.** (A) Obtención de extractos por proceso de hidrodestilación, (B) Cajas Petri con medio PDA a las distintas concentraciones de hidrolato de cada extracto, (C) Siembra de *M. fijiensis* en cajas Petri para ensayos *in vitro*, (D) Incubación de los tratamientos a 28 °C por 96 horas.

### **6.3. Efecto fungicida en ensayos *in vitro* por el método de envenenamiento del medio**

Para evaluar el efecto fungicida de los seis extractos contra *M. fijiensis*, se utilizaron placas Petri con medio PDA, se aplicó el hidrolato a distintas concentraciones (1 mL, 3 mL y 5 mL) mientras el medio se encontraba tibio (Figura 5). Cada tratamiento se manejó con tres

repeticiones y un testigo para cada concentración. Una vez que el medio solidifico, se sembró el hongo, en el centro de cada caja Petri. Se evaluó el porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo de acuerdo con las ecuaciones 1 y 2 (Islas *et al.*, 2016).

$$\% \text{ growth} = \left[ \frac{\varphi \text{ atz}}{\varphi b} \right] \times 100 \% \quad \text{Ecuacion (1)}$$

$$\% \text{ CI} = 100 - \% \text{ growth} \quad \text{Ecuacion (2)}$$

Dónde:  $\varphi \text{ atz}$  representa el diámetro (mm) de crecimiento del microorganismo en los tratamientos expuestos al extracto en cada evaluación

$\varphi b$  es el diámetro del microorganismo del testigo en cada evaluación

%CI es el porcentaje de inhibición del crecimiento.

## 7. Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar, con un testigo y tres repeticiones por cada extracto a tres concentraciones. Se probó la normalidad de los datos y se hicieron pruebas de comparación de medias (Tukey  $P < 0,05$ ), utilizando el programa estadístico SAS. Los resultados se representan por medio de graficas que muestran el porcentaje de inhibición, para cada extracto. Para *Origanum vulgare* (Grafica 1), *Cinnamomum verum* (Grafica 2), *Schinus molle* (Grafica 3), *Eucalyptus cinerea* (Grafica 4), *Ruta graveolens* (Grafica 5), y *Tagetes lucida* (Grafica 6).

## 8. Resultados y Discusión

### 8.1. Obtención de extractos por proceso de hidrodestilación

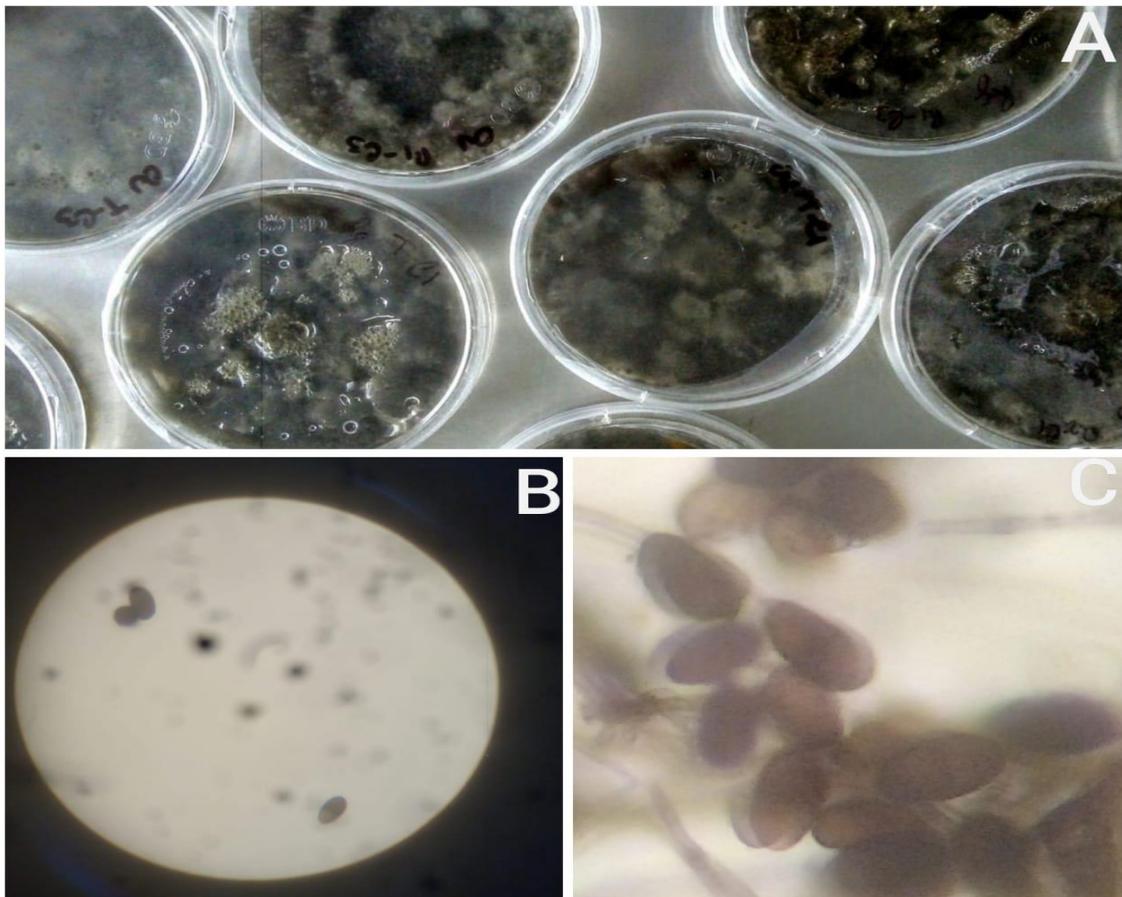
En la tabla 1 se muestra el rendimiento de la obtención de hidrolatos por la técnica descrita varió desde los 107 mL para el caso de *S. mole* hasta 250 mL para el caso de *E. cinerea*. Para efectos de continuar con la experimentación, las cantidades de hidrolatos obtenidos fue la suficiente requerida para los tratamientos.

**Tabla 1.** Resultados del proceso de extracción por arrastre de vapor.

Especie	Material vegetal	Material vegetal en (g)	Hidrolato obtenido 100(g)/500mL
<i>C. verum</i>	Corteza	100	198mL
<i>O. vulgare</i>	Hojas	100	187mL
<i>S. molle</i>	Hojas	100	107mL
<i>E. cinerea</i>	Hojas	100	250mL
<i>R. graveolens</i>	Hojas	100	218mL
<i>T. lucida</i>	Hojas y flores	100	220mL

## 8.2. Siembra de *M. fijiensis* en cajas Petri para ensayos *in vitro*

Para determinar el crecimiento del hongo fitopatógeno, se observaron bajo microscopio óptico a 100x, identificando algunas estructuras diferenciales (Figura 6).



**Figura 6.** (A) Micelio con apariencia algodonosa y de forma circular, (B, C) Ascosporas.

Se obtuvo un cultivo puro libre de contaminantes con el cual se llevaron a cabo los experimentos de efecto fungicida.

### 8.3. Efecto fungicida en ensayos *in vitro* por el método de envenenamiento del medio

Los resultados se presentan en medias  $\pm$  desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey  $P < 0,05$ ) entre los tratamientos.

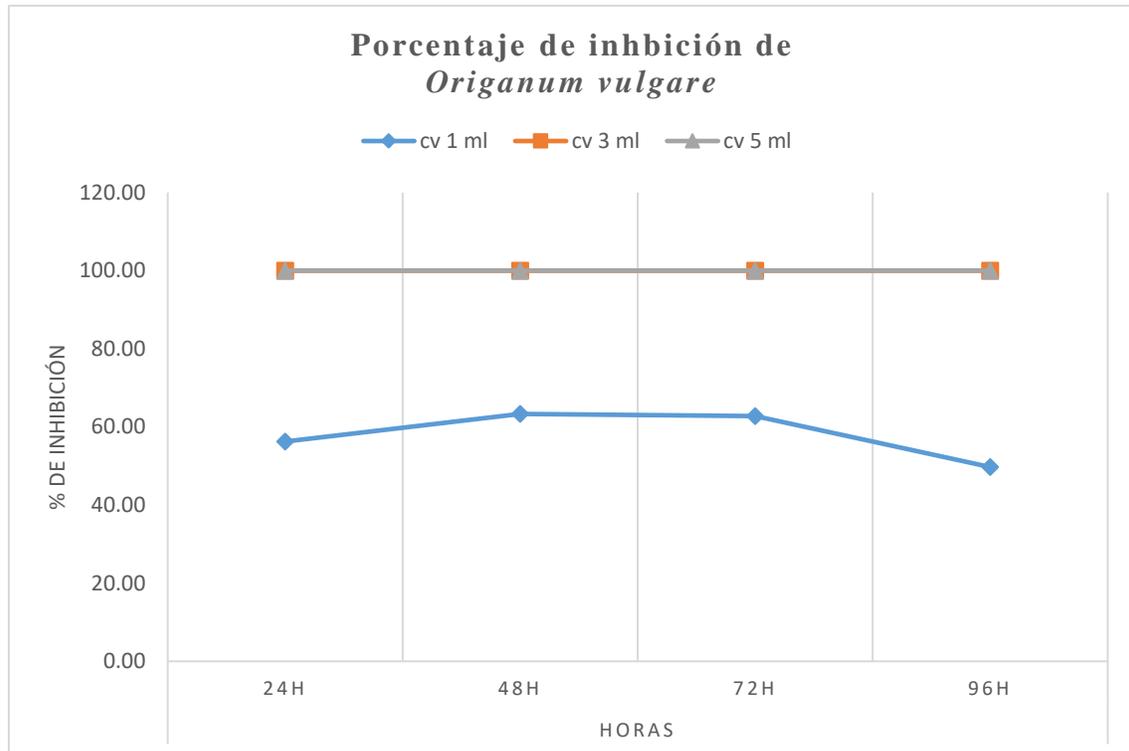
Los resultados del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial del hongo *M. fijiensis* se presentan en medias  $\pm$  desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey  $P < 0,05$ ) entre los tratamientos.

#### 8.3.1. *Origanum vulgare*

Los análisis muestran diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 2, Gráfica 1). Los tratamientos de 3 y 5 mL ejercieron una inhibición del crecimiento de *M. fijiensis* del 100% a los 3 y 5 mL con respecto al testigo (Figura 7A).

**Tabla 2.** Porcentaje de inhibición del crecimiento de *M. fijiensis* con extracto de *Origanum vulgare*.

Planta	Tratamientos (Concentración del extracto en mL)	Porcentaje de inhibición			
		24h	48h	72h	96h
<i>Origanum vulgare</i>	1 mL	56.28 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	63.32 $\pm$ 0.18 <sup>d</sup>	62.80 $\pm$ 0.19 <sup>d</sup>	49.73 $\pm$ 0.32 <sup>c</sup>
	3 mL	100 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>			
	5 mL	100 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>			



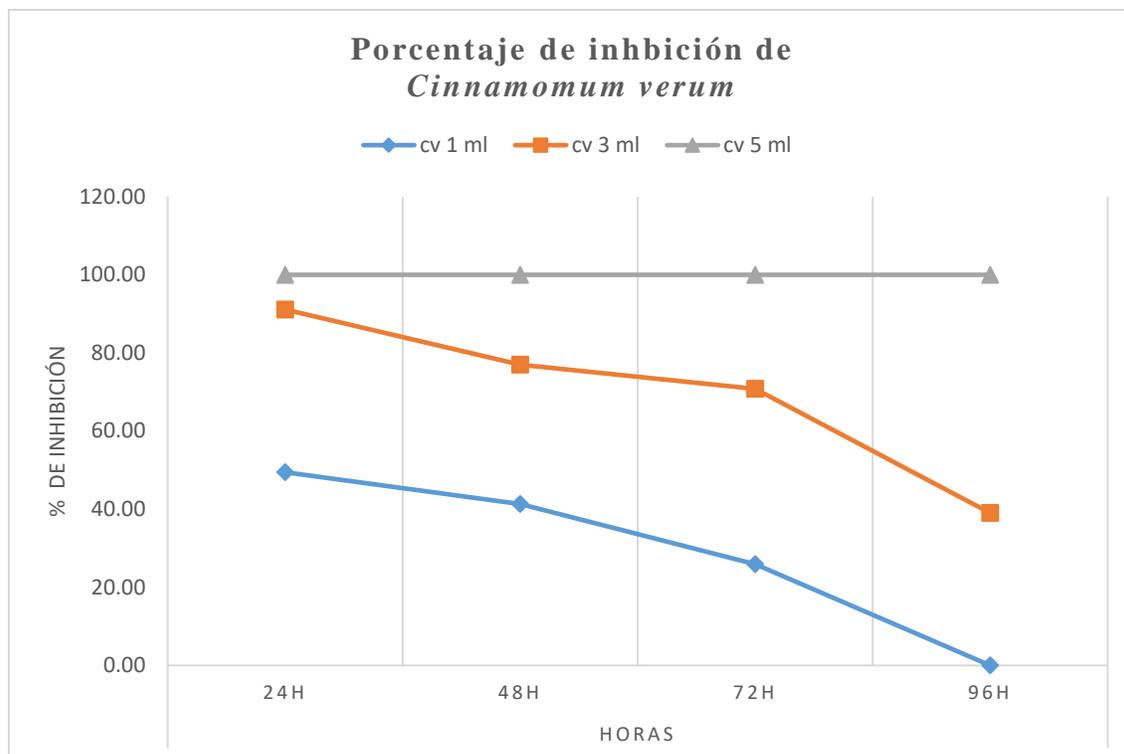
**Gráfica 1.** Inhibición del crecimiento del hongo *M. fijiensis* (%) en el hidrolato obtenido de *O. vulgare*.

### 8.3.2. *Cinnamomum verum*

Los análisis muestran diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 3, Gráfica 2). El tratamiento de 5 mL ejerció una inhibición del crecimiento micelial del 100% desde las 24 y hasta las 96 h, en comparación con el testigo (Figura 7B).

**Tabla 3.** Porcentaje de inhibición del crecimiento de *M. fijiensis* con extracto de *Cinnamomum verum*.

Planta	Tratamientos (Concentración del extracto en mL)	Porcentaje de inhibición			
		24h	48h	72h	96h
<i>Cinnamomum verum</i>	1 mL	49.45±0.09 <sup>c</sup>	41.32±0.13 <sup>c</sup>	25.96±0.19 <sup>c</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	3 mL	91.11± 0.08 <sup>b</sup>	76.96±0.11 <sup>b</sup>	70.83±0.12 <sup>c</sup>	39.01±0.29 <sup>c</sup>
	5 mL	100±0.00 <sup>a</sup>	100±0.00 <sup>a</sup>	100±0.00 <sup>a</sup>	100±0.00 <sup>a</sup>



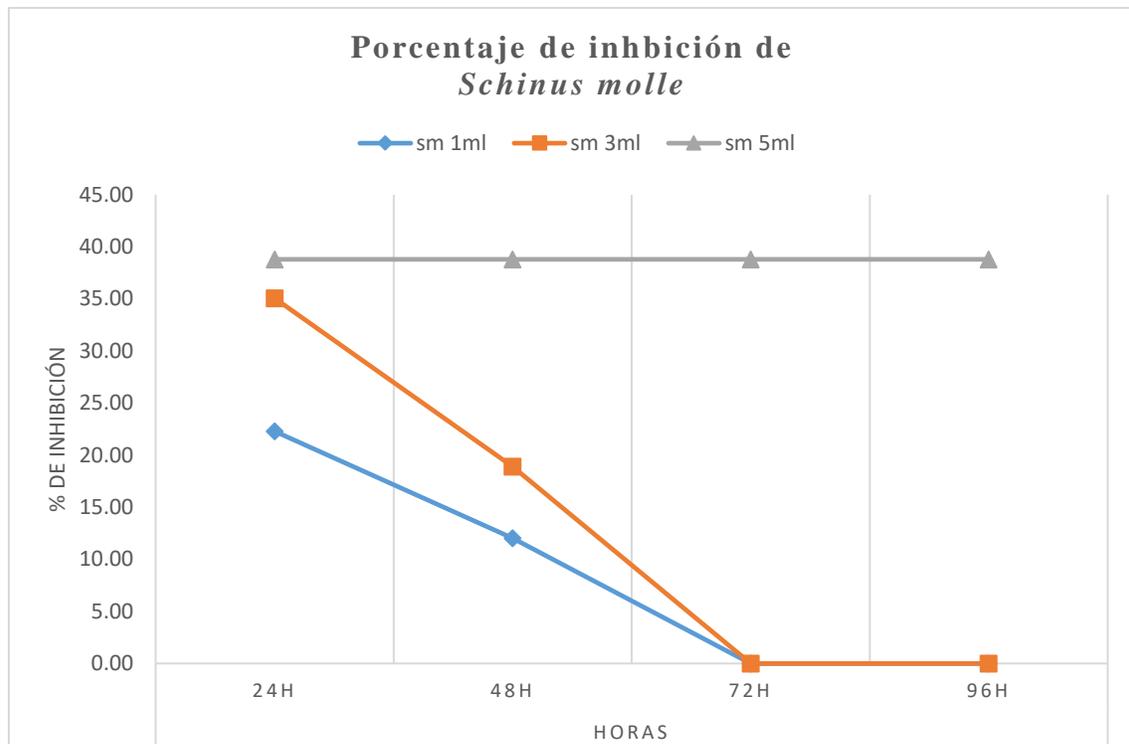
**Gráfica 2.** Inhibición del crecimiento hongo *M. fijiensis* (%) en el hidrolato obtenido de *C. verum*.

### 8.3.3. *Schinus molle*

Los análisis muestran diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 4, Gráfica 3). Este extracto produjo un porcentaje de inhibición aproximado al 40% a la concentración más alta (5 mL), mientras que las concentraciones de 1 y 4 prácticamente no fueron útiles para la inhibición del crecimiento micelial, en comparación con el testigo (Figura 7C).

**Tabla 4.** Porcentaje de inhibición del crecimiento de *M. fijiensis* con extracto de *Schinus molle*.

Planta	Tratamientos (Concentración del extracto en mL)	Porcentaje de inhibición			
		24h	48h	72h	96h
<i>Schinus molle</i>	1mL	22.28±0.04 <sup>c</sup>	12.01±0.04 <sup>b</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	3mL	35.06±0.07 <sup>c</sup>	18.89±0.13 <sup>b</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	5mL	38.79±0.07 <sup>c</sup>	40.75±0.20 <sup>c</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>



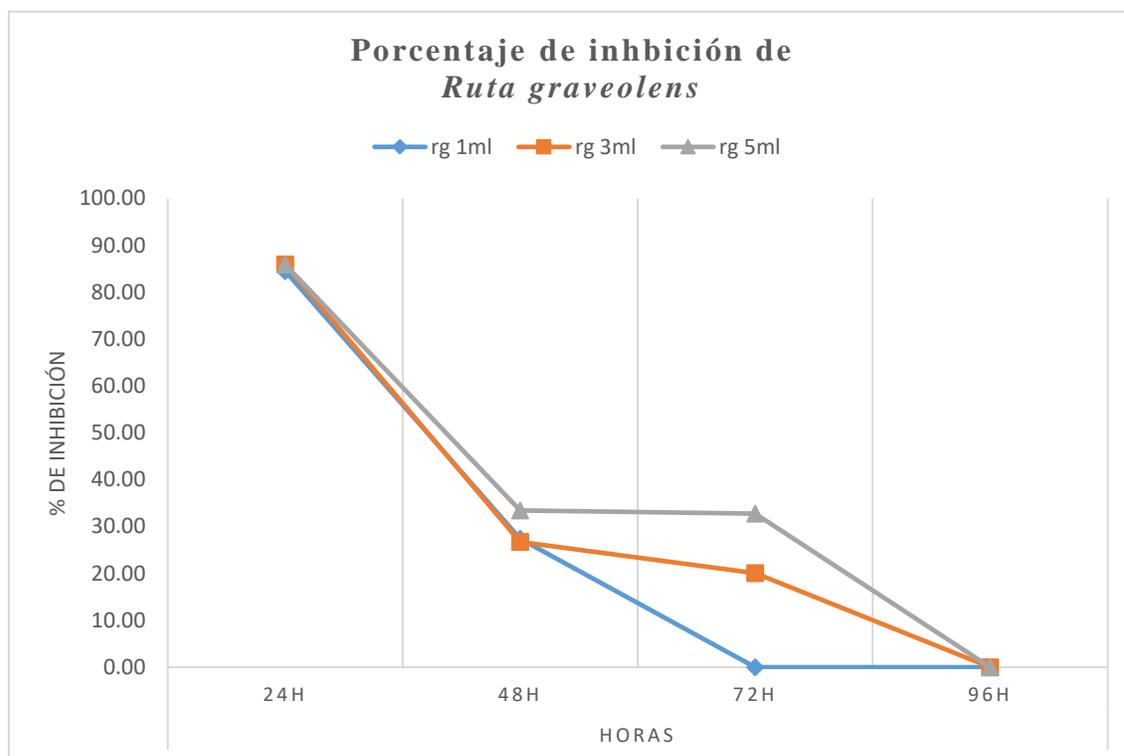
**Gráfica 3.** Inhibición del crecimiento del hongo *M. fijiensis* (%) en el hidrolato obtenido de *S. molle*.

### 8.3.4. *Ruta graveolens*

Los análisis estadísticos muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 5, Gráfica 4). Los tratamientos de *Ruta graveolens* prácticamente no fueron útiles para la inhibición del crecimiento micelial, en comparación con el testigo, ya que su efectividad de inhibición resultó prácticamente nula desde la 48 y hasta las 96 h.

**Tabla 5.** Porcentaje de inhibición del crecimiento de *M. fijiensis* con extracto de *Ruta graveolens*.

Planta	Tratamientos (Concentración del extracto en mL)	Porcentaje de inhibición			
		24h	48h	72h	96h
<i>Ruta graveolens</i>	1mL	84.50±0.10 <sup>b</sup>	27.40±0.18 <sup>c</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	3mL	85.90±0.06 <sup>b</sup>	26.70±0.12 <sup>c</sup>	20.09±0.23 <sup>b</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	5mL	85.90±0.07 <sup>b</sup>	33.41±0.14 <sup>c</sup>	32.77±0.21 <sup>c</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>



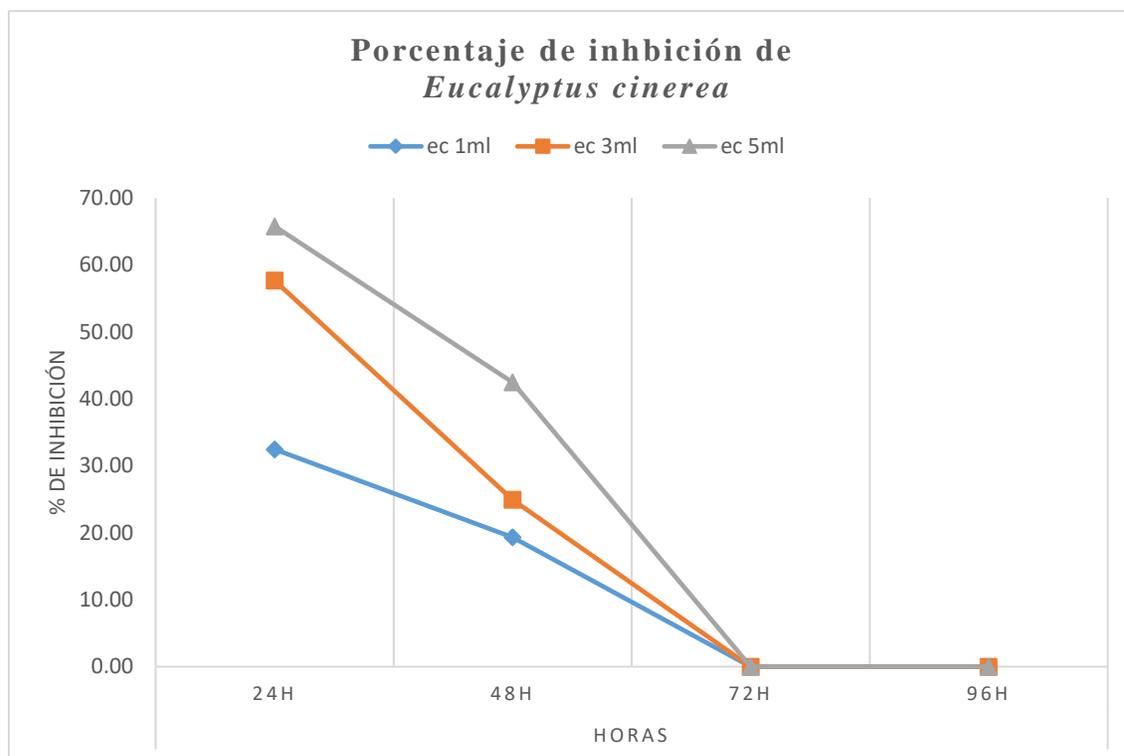
**Gráfica 4.** Inhibición del hongo *M. fijiensis* (%) en el hidrolato obtenido de *R. graveolens*.

### 8.3.5. *Eucalyptus cinerea*

Los análisis estadísticos muestran diferencias entre tratamientos (Tabla 6, Gráfica 5). Es el tratamiento de dosis de 5 mL el que presenta un porcentaje de inhibición de aproximadamente el 66% a las 24 h, disminuyendo significativamente este efecto a las 48 y 72 h, siendo nulo su efecto a las 96 h después de la aplicación. Este comportamiento sugiere un efecto preventivo del hidrolato de *Eucalyptus cinerea*.

**Tabla 6.** Porcentaje de inhibición del crecimiento de *M. fijiensis* con extracto de *Eucalyptus cinerea*.

Planta	Tratamientos (Concentración del extracto en mL)	Porcentaje de inhibición			
		24h	48h	72h	96h
<i>Eucalyptus cinerea</i>	1mL	32.45±0.19 <sup>c</sup>	19.32±0.14 <sup>b</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	3mL	57.65±0.20 <sup>d</sup>	24.91±0.11 <sup>c</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	5mL	65.76±0.11 <sup>d</sup>	42.44±0.12 <sup>c</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>



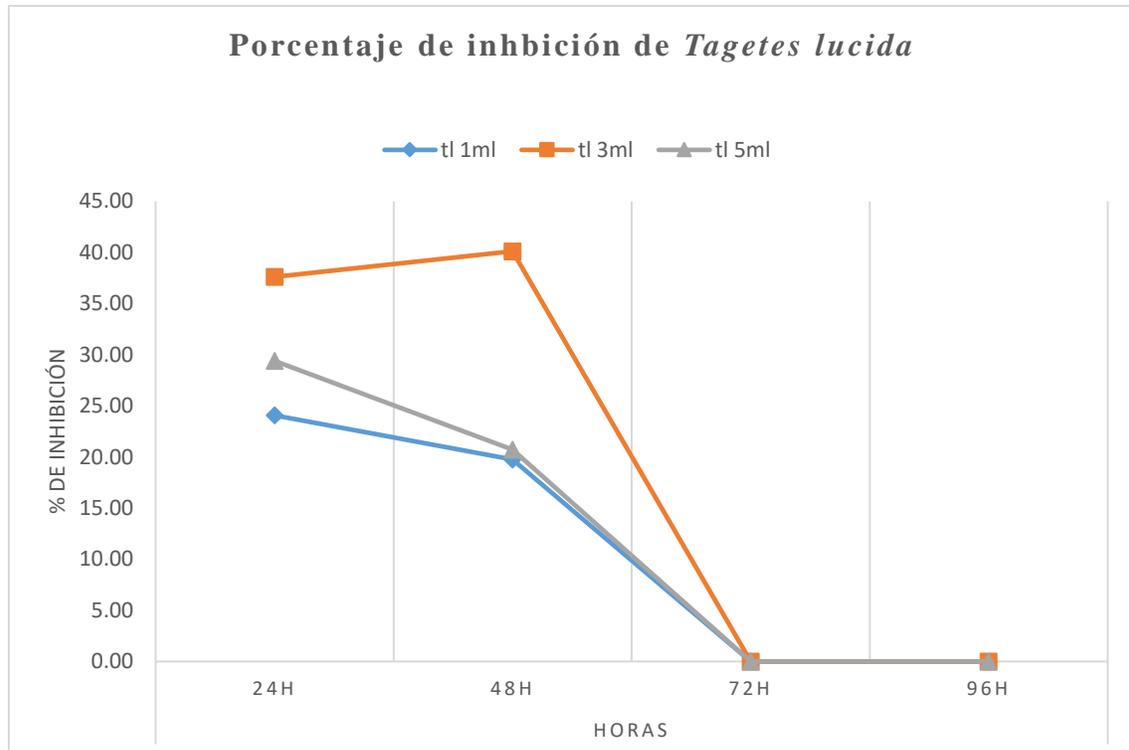
**Gráfica 5.** Inhibición del hongo *M. fijiensis* (%) en el hidrolato obtenido de *E. cinerea*.

### 8.3.6. *Tagetes lucida*

Los análisis estadísticos muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 7, Gráfica 6). Es el tratamiento de 3 mL el que presenta un porcentaje de inhibición de aproximadamente el 40% a las 48 h, disminuyendo significativamente este efecto a las 48 y 72 h, siendo nulo su efecto a las 96 h después de la aplicación. Este comportamiento sugiere (similar comportamiento de *Eucalyptus cinerea*) utilidad como tratamiento preventivo.

**Tabla 7.** Porcentaje de inhibición del crecimiento de *M. fijiensis* con extracto de *Tagetes lucida*.

Planta	Tratamientos (Concentración del extracto en mL)	Porcentaje de inhibición			
		24h	48h	72h	96h
<i>Tagetes lucida</i>	1mL	24.07±0.04 <sup>c</sup>	19.74±0.11 <sup>b</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	3mL	37.61±0.03 <sup>c</sup>	40.12±0.06 <sup>c</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	5mL	29.39±0.04 <sup>c</sup>	20.72±0.13 <sup>b</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>

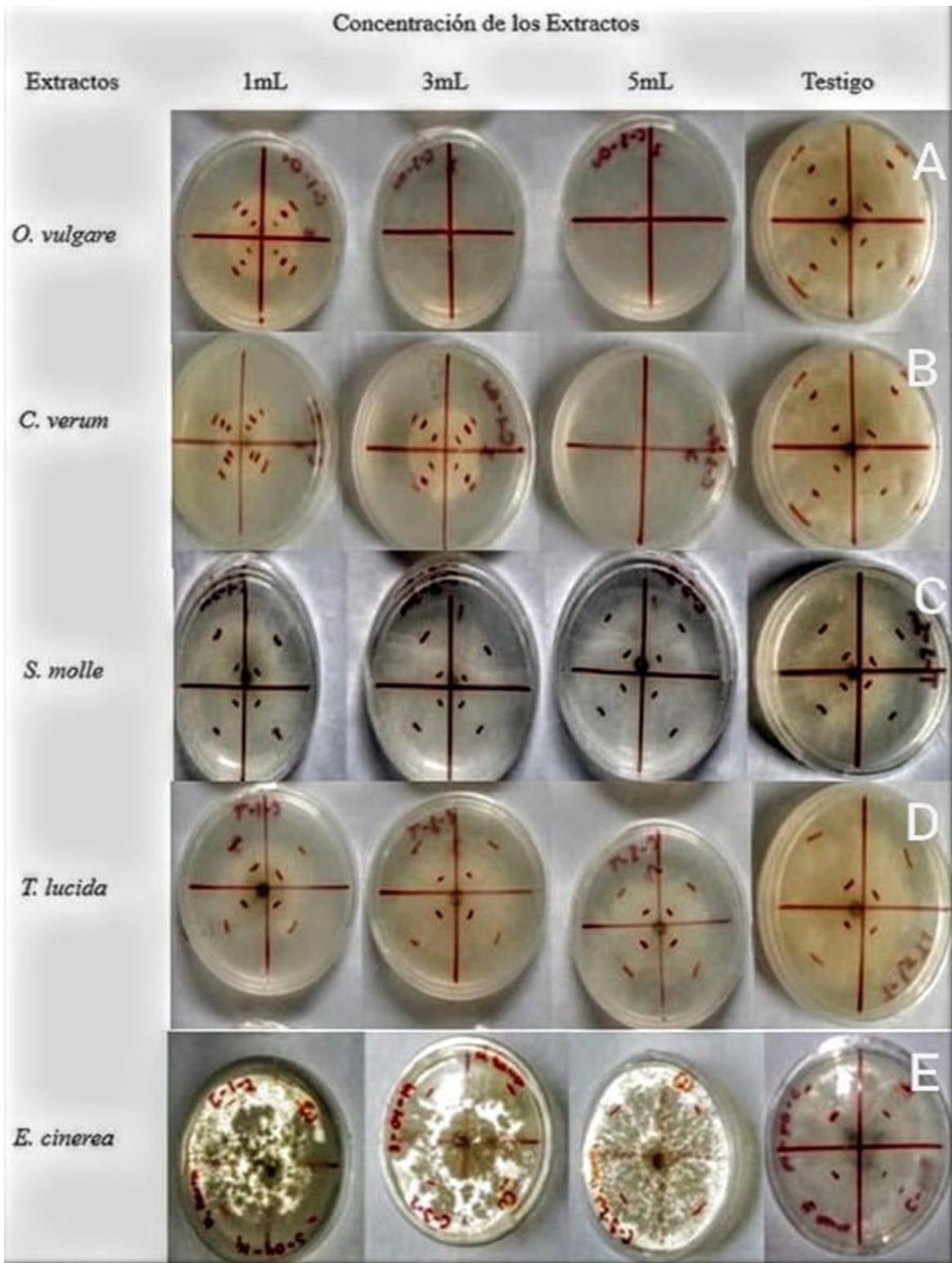


**Gráfica 6.** Inhibición del hongo *M. fijiensis* (%) en el hidrolato obtenido de *T. lucida*.

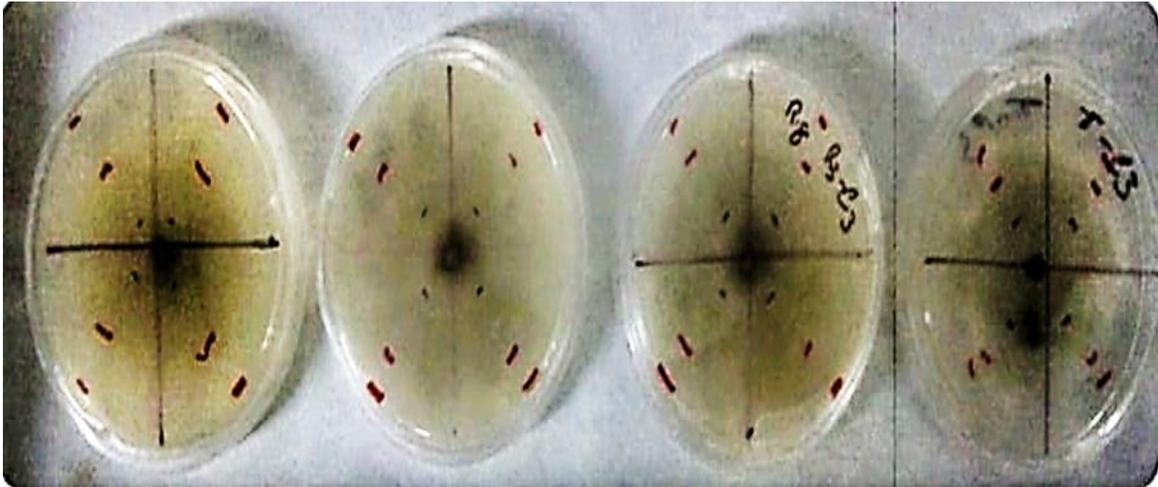
#### 8.4 Comparación de los porcentajes de inhibición de los hidrolatos vegetales

Los tratamientos con los hidrolatos de especies vegetales aquí estudiados mostraron que, al aumentar la concentración de los extractos vegetales, aumentaban el porcentaje de inhibición a excepción de *T. lucida*. Los extractos con el mejor efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *M. fijiensis*, fueron los de *O. vulgare* a 3 y 5 mL y de *C. verum* a partir de una concentración de 5 mL con un porcentaje de inhibición del 100% a las 24, 48, 72 y 96 horas (Figura 7), mientras que los extractos *R. graveolens* registraron un porcentaje de inhibición del 84-85% a las 24 horas a las tres concentraciones probadas y disminuyó a través del tiempo (Figura 8), esta tendencia de disminución también fue observada para los extractos de *S. molle*, *E. cinérea* y *T. lucida* (Figura 7).

Los extractos de *S. molle*, *E. cinérea* y *T. lucida*, presentaron menores porcentajes de inhibición que van desde 20.72 hasta 42.44 a las 48 horas, mientras que a las 72 horas y 96 horas no mostraron efecto inhibitorio ante el crecimiento del hongo.



**Figura 7.** Efecto del extracto de (A) *O. vulgare*, (B) *C. verum*, (C) *S. molle*, (D) *T. lucida* y (E) *E. cinerea* a 1, 3 y 5 mL en *M. fijiensis*.



**Figura 8.** *R. graveolens* a las 24, 48, 72 y 96 horas.

En esta investigación sobre los hidrolatos de orégano (*O. vulgare*), canela (*C. verum*), ruda (*R. graveolens*), pirul (*S. molle*), eucalipto (*E. cinérea*) y pericon (*T. lucida*) frente al hongo *M. fijiensis*, se observó que el hidrolato de orégano y canela presentan una acción fungicida mayor en comparación a los hidrolatos de ruda, pirul, eucalipto y pericon, que ejercen un menor efecto frente al desarrollo del hongo utilizado, los bajos porcentajes de inhibición pueden deberse a la composición del hidrolato utilizado y a las concentraciones evaluadas en los experimentos.

Existen pocos trabajos donde se compare el efecto de hidrolatos, ya que la mayoría se ha realizado por extractos etanólicos y/o aceites esenciales, siendo estos últimos obtenidos en una menor cantidad que los hidrolatos.

A continuación se discutirán los resultados obtenidos en este trabajo con lo reportado en la literatura de extractos referentes a plantas utilizadas. Se ha reportado que el aceite esencial de *O. vulgare*, es efectivo contra *Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum* y *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp. y *Penicillium digitatum*, así como la acción antifúngica *in vitro* de *Moniliophthora roreri* (Gutiérrez *et al.*, 2018).

Gutiérrez *et al.* (2018) evaluaron la eficiencia de los aceites esenciales del orégano y canela de forma individual para inhibir el crecimiento de *M. fijiensis* en condiciones *in vitro* a una concentración de 100 ppm, con una inhibición del 100% a partir de 500 ppm. y que el orégano tiene la misma capacidad inhibitoria que la canela. El aldehído cinámico fue el principal compuesto químico aislado de *C. verum* y en *O. vulgare*, el eugenol y carvacrol, este último en pequeñas concentraciones (Gutiérrez *et al.*, 2018).

Así mismo, se ha reportado el control de *M. fijiensis in vitro* utilizando el extracto vegetal de canela (*C. verum*) a diferentes concentraciones 25, 50, 75 y 100%, mostrando efectos sobre el radio de inhibición y desarrollo de colonias de *Pseudocercospora fijiensis*; resaltando el efecto de canela al 75 y 100% conservando su persistencia a través del tiempo (Viveros y Castaño, 2006). Según García *et al.* (2006), el aceite esencial de *C. verum* contiene gran cantidad de terpenos y compuestos orgánicos como el aldehído cinámico, este último posiblemente se encuentre en el hidrolato utilizado en nuestro estudio.

Ranasinghe *et al.* (2002) encontró que el aceite esencial de la canela actúa como un excelente fungicida en la agricultura ecológica, y no deja residuos en los cultivos. Además de ser ampliamente utilizado por los agricultores, por poseer propiedades ricas en fenol el cual produce un efecto tóxico en los hongos que atacan al follaje del cultivo de banano logrando así combatir la enfermedad e inhibir el desarrollo de hongos. Finalmente, Caballero *et al.* (2016) mencionan que el aceite esencial de canela está constituido fundamentalmente por 65-75% de aldehído cinámico y 5 - 10% de eugenol.

Así mismo, en un estudio Mendoza y Fernando, (2017) evaluaron el uso del aceite esencial de *C. verum* a una concentración de 2.8 mL en campo, utilizando 2 plántulas meristemáticas de banano, como resultado obtuvieron que el aceite esencial de *C. verum* no presentó un efecto antifúngico en la sigatoka negra cuando este fue aplicado en la plántula 1 de banano. Sin embargo, el mismo aceite esencial de canela mostró un efecto antifúngico sobre la sigatoka negra en la plántula 2. Estos resultados concuerdan con los estudios realizados *in vitro* en este trabajo y sus variaciones en efectividad pueden deberse posiblemente a las condiciones climáticas en las que se realizó el experimento, el comportamiento de la enfermedad, o a la forma de aplicación de los biofungicidas.

Para el género *Tagetes* Barajas-Pérez *et al.* (2011) evaluaron cinco especies de este género señalando a *T. lucida* con un gran potencial antifúngico utilizando extractos acuosos sobre el crecimiento micelial de *Sclerotium rolfsii* y *Monilinia fructicola*, inhibiendo completamente el crecimiento micelial. En un trabajo anterior *T. lucida* había sido descrita con una fuerte actividad antifúngica contra 5 especies de hongos; *Aspergillus niger*, *Penicillium notatum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium sporotrichum*, *Rhizoctonia solani* y *Trichophyton mentagrophytes* lo que confirma su potencialidad para ser usada para el control de enfermedades de origen fúngico (Céspedes *et al.*, 2006). Recientemente Fulgencio-Negrete, (2013) mostró la efectividad del aceite esencial de *T. lucida*, sobre los hongos *Botrytis cinerea* y *Colletotrichum acutatum* mencionando que la actividad antifúngica se debía al compuesto terpénico metil-eugenol. Sin embargo, hay poca información de esta planta contra *M. fijiensis*, los resultados de este estudio mostraron poca o nula actividad fungicida este hongo, sin embargo, su estudio podría ampliarse a diferentes hongos fitopatógenos para explorar el efecto que puede ocasionar sus metabolitos secundarios en la inhibición del crecimiento de estos microorganismos.

Los resultados experimentales que se obtuvieron en este estudio, muestran el potencial antifúngico del extracto de *C. verum* y *O. vulgare*, que puede deberse a la presencia de metabolitos secundarios, tales como el eugenol, carvacrol y limoneno a los cuales se les atribuye actividad antifúngica contra *M. fijiensis* reportados en trabajos de investigación mencionados Gutiérrez *et al.* (2018) encontrados en el aceite, no en los hidrolatos, por lo que se sugiere que estos mismos compuestos estén presentes en la fase acuosa, se tendrían que realizar el estudio fitoquímico para aislar e identificar cuáles son los ingredientes responsables de la actividad antifúngica identificada en este trabajo.

## **9. Conclusión**

Los experimentos realizados muestran la obtención del 100% de inhibición del crecimiento micelial de *M. fijiensis* en condiciones *in vitro* con el hidrolato de *C. verum* y *O. vulgare* a concentraciones de 3 y 5 mL. Los hidrolatos se obtienen en mayor cantidad que los aceites esenciales en la hidrodestilación, lo que representa una ventaja, debido a la reducción de la cantidad de material vegetal a utilizar para un biofungicida. Los extractos que muestran

efecto en la inhibición del desarrollo de *M. fijiensis* pueden ser una opción viable para la composición de un biofungicida sustentable útil para el control de este hongo fitopatógeno.

## **10. Recomendaciones y sugerencias**

- Hacer investigación con diferentes plantas aromáticas y medicinales reportadas con efecto antifúngico, o que contengan metabolitos secundarios que inhiban el crecimiento de *M. fijiensis*.
- Para investigaciones posteriores se sugiere utilizar cualquier parte de las plantas que contengan metabolitos como el eugenol, aldehído cinámico y carvacrol realizando la investigación bibliográfica previa.
- Se deben implementar estudios fitoquímicos que identifiquen compuestos como los anteriormente mencionados, incluso otros que no hayan sido documentados de metabolitos secundarios que estén presentes en los extractos a utilizar.

## 11. Referencias

- Adirano-Anaya, M. D. L., Mejía-Ortiz, J., Ovando-Medina, I., Albores-Flores, V., & Salvador-Figueroa, M. (2018). Efecto de extractos alcohólicos de ajo (*Allium sativum*) y clavo (*Syzygium aromaticum*) en el desarrollo de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *Revista mexicana de fitopatología*, 36(3), 379-393.
- Agrios, G. N. (2005). Enfermedades vegetales causadas por hongos. *Fitopatología*, 5ªEd. Academic Press, San Diego, EE. UU., 385-614 p.
- Alfaro Gil, L. B. (2019). Antagonismo de *Trichoderma virens* en el control de *Rhizoctonia solani* en *Phaseolus vulgaris* var. *Caupì* (tesis de pregrado). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.
- Andrade-Bustamante, G., Hernández, E. A., Hernández-Montiel, L. G., Peña, R. J. H., & Rueda-Puente, E. O. (2019). Antisuero vs hongos fitopatógenos en el cultivo de tomate en Sonora, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(4), 873-884.
- Arango Isaza, R. E., Diaz-Trujillo, C., Dhillon, B., Aerts, A., Carlier, J., Crane, C. F., *et al* (2016). Combating a global threat to a clonal crop: banana black Sigatoka pathogen *Pseudocercospora fijiensis* (synonym *Mycosphaerella fijiensis*) genomes reveal clues for disease control. *PLoS Genetic*, 12(8), e1005876.
- Avila Campoverde, J. J. (2016). Efecto antifúngico de seis extractos vegetales sobre el hongo *Mycosphaerella* sp. en el cultivo de banano (tesis de pregrado), Machala: Universidad Técnica de Machala). Ecuador.
- Ayala, A., Colina, M., Molina, J., Vargas, J., Rincón, D., Medina, J., *et al* (2014). Evaluación de la actividad antifúngica del quitosano contra el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet que produce la sigatoka negra que ataca el plátano. *Revista Iberoamericana de polímeros*, 15(6), 312-338.
- Barajas Pérez, J. S., Montes-Belmont, R., Castrejón Ayala, F., Flores-Moctezuma, H. E., & Serrato Cruz, M. Á. (2011). Propiedades antifúngicas en especies del género *Tagetes*. *Revista mexicana de micología*, 34, 85-91.

- Bautista Palma, L. A. (2017). Eficacia del fungicida (Mancozeb 800 g/kg WP) para el control de sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en el cultivo de banano (*Musa acuminata* AAA. Variedad *Williams* enano) (tesis de pregrado). Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Ecuador.
- Borja Peña, N. K. (2019). El deshoje fitosanitario como alternativa para reducir la incidencia y severidad de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en banano (Bachelor's thesis, Babahoyo: UTB, 2019). (tesis de pregrado) Universidad Técnica de Babahoyo. Ecuador.
- Bosch, F. V. D., Oliver, R., Berg, F. V. D., & Paveley, N. (2014). Governing principles can guide fungicide-resistance management tactics. *Annual Review of Phytopathology*, 52, 175-195.
- Caballero, C. A., Villacorta, L. M., & Vásquez, C. P. (2016). Efecto del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y su combinación sobre la acción antifúngica en *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz (*Zea mays* L.), variedad morado. *Pueblo continente*, 22(1), 123-132.
- Caneloríguez, M. G., Arias, A. P., Arteaga, M. C. J., Hechavarría, L. D., & Álvarez, S. L. (2018). Uso de *Trichoderma harzianum* Rifai para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. En el cultivo de sábila (*Aloe vera* L.). *Revista Arbitrada Interdisciplinaria Koinonía*, 2(3), 213-225.
- Casco, F. B., & Kronfle, J. I. (2018). Evaluación de número de aplicaciones de fungicidas orgánicos en producción de plátano (*Musa paradisiaca* AAB), 1-15.
- Castillo, B. M., Dunn, M. F., Navarro, K. G., Meléndez, F. H., Ortiz, M. H., Guevara, S. E., & Palacios, G. H. (2016). Antifungal performance of extracellular chitinases and culture supernatants of *Streptomyces galilaeus* CFFSUR-B12 against *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(3), 44.
- Ceja-Torres, L. F., Mora-Aguilera, G., Téliz, D., Mora-Aguilera, A., Sánchez-García, P., Muñoz-Ruíz, C., *et al* (2008). Fungi prevalence and etiology of strawberry dry wilt under different crop management systems. *Agrociencia*, 451-461.

- Céspedes C. I. J.G. Avila, A. Martínez, B. Cerrato, J. C. Calderón–Mugica, R. Salgado–Garciglia, (2006). Antifungal and antibacterial activities of mexican tarragon (*Tagetes lucida*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 3521–3527.
- Churchill, A. C. (2011). *Mycosphaerella fijiensis*, the black leaf streak pathogen of banana: progress towards understanding pathogen biology and detection, disease development, and the challenges of control. *Molecular plant pathology*, 12(4), 307-328.
- Cisneros, F. M. M. (2019). Evaluación *in vitro* de la actividad biológica antifúngica del extracto vegetal de *Piper carpunya* (Ruiz & Pav.) sobre *Sphaerotheca pannosa* var. *Rosae*. Carrera de Ingeniería en Biotecnología. Universidad de las Fuerzas Armada ESPE. Matriz Sangolquí. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia.
- Cruz-Martín, M. (2018). Cepas bacterianas con potencial para el manejo de la Sigatoka negra. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*, 8(1), 1-3.
- Darts, C. (2008). Agricultura sustentable una Perspectiva Moderna. Obtenido de *Internacional Plant Nutrition Institute* (INPI).  
[http://www.ipni.net/ppiweb/iamex.nsf/\\$webindex/773450001A0F9C9606256B8100730D1C/\\$file/Agricultura+sustentable.pdf](http://www.ipni.net/ppiweb/iamex.nsf/$webindex/773450001A0F9C9606256B8100730D1C/$file/Agricultura+sustentable.pdf)
- Dávalos, G. P., Castro, F., Redondo, J., Rodríguez, G., Díaz, C., & Arévalo, A. (1992). Guía para cultivar fresa en Irapuato. *INIFAP-CIAPSARH. Folleto para productores*, (1). INIFAP-CIAP-SARH. México, D. F. 52 p.
- Dávila, M., Gallegos, M., Hernández, C., Ochoa, F., & Flores, O. (2013). Antagonistic actinomycetes against phytopathogenic fungi of agricultural importance. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(8), 1187-1196.
- España, L. E. T. (2016). Formulación de fungicida a base de *Origanum vulgare* L., *Tradescantia spathacea* Swartz y *Zingiber officinale* Roscoe para el manejo de *Moniliophthora roreri* y *Theobroma cacao* L.
- Espinoza Ruiz, R. R. (2017). Efecto fungistático de aceites minerales parafínicos para control de sigatoka negra *Mycosphaerella fijiensis* Morelet en plantas de banano *Musa* spp. (tesis de pregrado), Machala: Universidad Técnica de Machala). Ecuador.

- Ezziyyani, M., Perez, C., & Candela, M. (2006). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de Murcia, España. *Campus de Espinardo*, 30100.
- Fouré, E. (1985). Black leaf streak disease of bananas and plantains (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet). *Study of the symptoms and stages of the disease in Gabon*. CIRAD-IRFA, París, 23 p.
- Fulgencio Negrete, R. (2013). Propiedad antifúngica de compuestos volátiles de tres plantas medicinales (Nurite, Santa María y Toronjil) sobre hongos patógenos de fresa. Tesis de Maestría. Programa Institucional de Maestría en Ciencia Biológicas. Facultad de Químico Farmacobiología. UMSNH. Morelia, Michoacán, México. 96 pp.
- García, C. V. (2005). Introducción a la microbiología. Segunda edición, editorial EUNED. Chile, pp. 113-117.
- García-Camarillo, E. A., Quezada-Viay, M. Y., Moreno-Lara, J., Sánchez-Hernández, G., Moreno-Martínez, E., & Pérez-Reyes, M. C. J. (2006). Actividad antifúngica de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) y orégano (*Origanum vulgare* L.) y su efecto sobre la producción de aflatoxinas en nuez pecanera [*Carya illinoensis* (FA Wangenh) K. Koch]. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(1), 8-12.
- García-Gutiérrez, C., & Rodríguez-Meza, G. D. (2012). Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. *Ra Ximhai*, 8(3), 1-10.
- Garnica, A. M. (2000). Uso de la agroforestería para disminuir la severidad de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en el cultivo del plátano (*Musa* AAB, Simmonds). Manejo convencional y alternativo de la Sigatoka negra, nematodos y otras plagas asociadas al cultivo de Musáceas en los trópicos, 67 p.
- Gutiérrez-Jiménez, E., Pedroza-Sandoval, A., Martínez-Bolaños, L., Samaniego-Gaxiola, J. A., & García-González, F. (2018). Effect of natural oils against *Mycosphaerella fijiensis* under in vitro conditions and detection of active plant chemicals. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(1), 141-150.

- Gutiérrez-Monsalve, J. A., Mosquera, S., González-Jaramillo, L. M., Mira, J. J., & Villegas-Escobar, V. (2015). Effective control of black Sigatoka disease using a microbial fungicide based on *Bacillus subtilis* EA-CB0015 culture. *Biological control*, 87, 39-46.
- Gutiérrez-Román, M. I., Holguín-Meléndez, F., Dunn, M. F., Guillén-Navarro, K., & Huerta-Palacios, G. (2015). Antifungal activity of *Serratia marcescens* CFFSUR-B2 purified chitinolytic enzymes and prodigiosin against *Mycosphaerella fijiensis*, causal agent of black Sigatoka in banana (*Musa* spp.). *BioControl*, 60(4), 565-572.
- Guzmán, M. (2012). Control biológico y cultural de la Sigatoka negra. In Trabajo presentado en el 45 Congreso Brasileiro de Fitopatologia. *Brazilian Phytopathological Society, Manaus, AM. Tropical Plant Pathology* (Vol. 37). (p. 4). <https://doi.org/10.13140/2.1.2927.7442>.
- Horta, B., & del Rosario, H. (2009). Estudio del ciclo de vida de *Mycosphaerella fijiensis* en tres clones de banano (*Musa* AAA) en tres regiones de la zona Bananera del Magdalena (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira). Colombia.
- Hoss, R., Helbig, J., & Bochow, H. (2000). Function of host and fungal metabolites in resistance response of banana and plantain in the Black Sigatoka disease pathosystem (*Musa* spp. *Mycosphaerella fijiensis*). *Journal of Phytopathology*, 148(7-8), 387-394.
- INTAGRI. 2018. Manejo de la Sigatoka Negra en Banano. Serie Frutales, Núm. 48. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 7 p.
- Islas-Pelcastre, M., Villagómez-Ibarra, J. R., Rodríguez-Pastrana, B. R., Perry, G., & Madariaga-Navarrete, A. (2016). Identification of an Indigenous Atrazine Herbicide Tolerant Microbial Consortium in Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as a Potential Soil Bioremediator. *Agrotechnol*, 5 (141), 2.
- Jaramillo, J. & M. Lobo. 1983. Pimentón. In: Hortalizas, Manual de Asistencia Técnica N° 28 ICA. Bogotá, Colombia. p.121-144.
- Juárez-Becerra, G. P., Sosa-Morales, M. E., & López-Malo, A. (2010). Hongos Fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 4(2), 14-23.

- López-López, E., Peña Ortega, M. G., Colinas León, M. T. B., Díaz Cedillo, F., & Serrato Cruz, M. Á. (2018). Fungistasis del aceite esencial extraído de una población de *Tagetes lucida* de Hidalgo, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(2), 329-341.
- Manzo-Sánchez, G., Pérez-Ocón, R., Chan-Cupul, W., Silva-Jiménez, E., Sánchez-Rangel, J. C., Ayala-Zermeño, M. Á., & Galindo-Velasco, E. (2018). Actividad antifúngica de extractos etanólicos de propóleo contra *Mycosphaerella fijiensis*: un estudio *in vitro*. *Scientia fungorum*, 47, 13-24.
- Marcano, I. E., Díaz-Alcántara, C. A., Seco, V., Urbano, B., & González-Andrés, F. (2016). Induced systemic resistance could explain the reduction in the incidence of black sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis*) in banana plants inoculated with bacteria isolated from banana tree roots in the Dominican Republic. In *Biological Nitrogen Fixation and Beneficial Plant-Microbe Interaction*, Springer, Cham. pp 155-170.
- Marin, D. H., Romero, R. A., Guzmán, M., & Sutton, T. B. (2003). Black Sigatoka: an increasing threat to banana cultivation. *Plant disease*, 87(3), 208-222.
- Franco, M. D. P. S., de la Fuente, G. I., Moya, E. S., Pérez, J. C. R., Pimentel, J. G. R., & Amaro, L. A. M. (2020). Resistencia a *Fusarium* causante de pudriciones en trigo: actualidad y perspectivas para su uso en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(2), 405-418.
- Mariscal-Amaro, L. A., Rivera-Yerena, A., Dávalos-González, P. A., & Ávila-Martínez, D. (2017). Situación actual de hongos asociados a la secadera de la fresa (*Fragaria × ananassa* Duch.) en Guanajuato, México. *Agrociencia*, 51(6), 673-681.
- Mena-Espino, X., & Couoh-Uicab, Y. (2015). Efectos de los plaguicidas utilizados para el control de la Sigatoka negra en plantaciones bananeras en México, así como su efecto en el ambiente y la salud pública. *Tecnociencia Chihuahua*, 9(2), 91-98.
- Mendoza, R., & Fernando, A. (2017). Efecto biofungicida de aceites esenciales en el control de la sigatoka negra *Mycosphaerella fijiensis* en el cultivo de banano (Bachelor's thesis, Machala: Universidad Técnica de Machala). Ecuador.

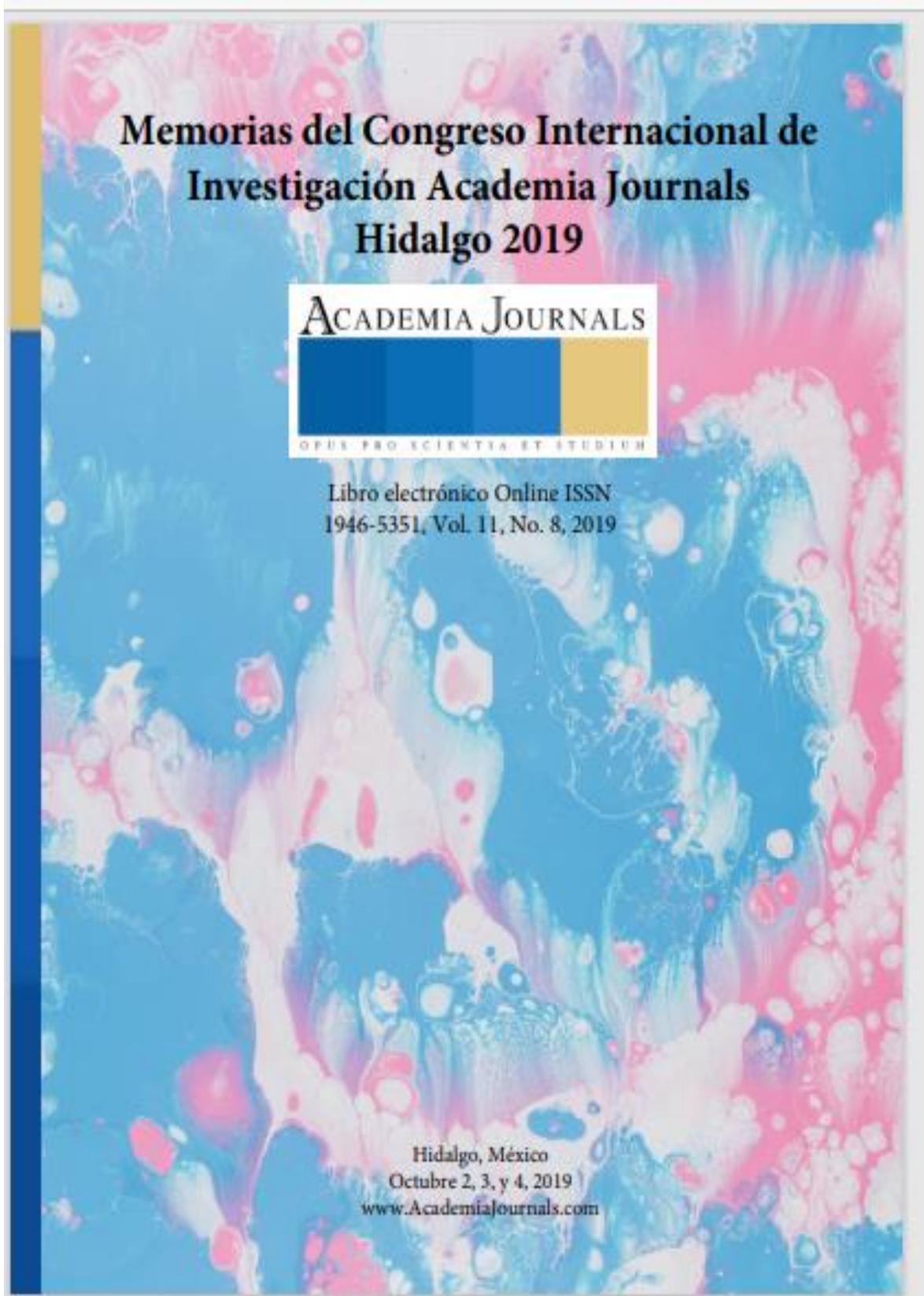
- Mendoza, R., & Francisco, H. (2017). Uso de aceites esenciales sobre la pudrición de corona en la fruta de banano *Musa* aaa (Bachelor's thesis, Machala: Universidad Técnica de Machala). Ecuador.
- Mendoza-Rodríguez, M., Ocaña, B., Acosta-Suárez, M., Roque, B., Hernández, M., & Cruz-Martín, M. (2017). Effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> application during 'Grande naine' - *Mycosphaerella fijiensis* interaction. *Biotecnología Vegetal*, 17(3), 153-159.
- Meredith, D. S., & Lawrence, J. S. (1970). Black leaf streak disease of Bananas (*Mycosphaerella fijiensis*): susceptibility of cultivate. *Tropical Agriculture, Trinidad and Tobago*, 47(4), 275-287.
- Mesa, A. M., Marin, P. A., Ocampo, O., Calle, J., & Monsalve Fonnegra, Z. I. (2019). Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Medellín, Colombia. pp 1-8.
- Morales Morocho, F. H. (2017). Evaluación de dosis creciente del extracto de *Moringa oleifera* sobre *Mycosphaerella fijiensis* bajo condiciones de campo y laboratorio (Bachelor's thesis, Machala: Universidad Técnica de Machala). Ecuador.
- Mosquera, O. M., Echeverry, L. M., & Osorio, J. N. (2009). Evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales sobre el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *Scientia et technica*, 15(41), 232-236.
- Murillo-Salas, J. E. (2015). Efecto de la sensibilidad de *Mycosphaerella fijiensis* sobre la eficacia biológica de fungicidas sistémicos utilizados contra la sigatoka negra (Doctoral dissertation, Instituto Tecnológico de Costa Rica). Costa Rica.
- Orozco-Santos, M., Orozco-Romero, J., Pérez-Zamora, O., Manzo-Sánchez, G., Farías-Larios, J., & Moraes, W. D. S. (2008). Prácticas culturales para el manejo de la Sigatoka negra en bananos y plátanos. *Tropical Plant Pathology*, 33(3), 189-196.
- Ortega, N., & Stalin, E. (2016). Uso de la bacteria *Bacillus subtilis* como agente de control biológico de hongos fitopatógenos en cultivos tropicales (Bachelor's thesis, Machala: Universidad Técnica de Machala). Ecuador.

- Osorio, J. N., Navarro, Y. M. C., Martínez, Ó. M. M., & Ospina, J. (2007). Determinación de la actividad antifúngica de extractos vegetales sobre el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *Scientia et Technica*, 1(33), 425-426.
- Pieckenstain, F. L. (2002). Control biológico de enfermedades causadas por *Sclerotinia Sclerotiorum* en el girasol y estudio del rol de las poliaminas en las distintas etapas del ciclo de vida de este patógeno (Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires). Argentina.
- Pila, F. E. S. (2016). Importancia de los lipopéptidos de *Bacillus subtilis* en el control biológico de enfermedades en cultivos de gran valor económico. *Bionatura*, 1, 135-138.
- Portilla Loor, J. B. (2017). Respuesta de las plantas de banano (*Musa aaa simmonds*, cultivar williams) a las aspersiones foliares de diferentes fungicidas en el control de sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) (Bachelor's thesis, Quevedo: UTEQ). Ecuador.
- Price, C. L., Parker, J. E., Warrilow, A. G., Kelly, D. E., & Kelly, S. L. (2015). Azole fungicides understanding resistance mechanisms in agricultural fungal pathogens. *Pest management science*, 71(8), 1054-1058.
- Quevedo Guerrero, J., Infante Noblecilla, J. C., & García Batista, R. M. (2018). Efecto del uso predominante de fungicidas sistémicos para el control de Sigatoka negra (*Mycosphaerella Fijiensis* Morelet) en el área foliar del banano. *Revista Científica Agroecosistemas*, 6(1), 128-136.
- Ranasinghe, L., Jayawardena, B., & Abeywickrama, K. (2002). Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et LM Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. *Letters in Applied Microbiology*, 35(3), 208-211.
- Riofrío, J. (2012). Aislamiento, caracterización y actividad antifúngica de los metabolitos secundarios de *Piper carpubya*. Universidad Católica de Loja. Ecuador. 52 pp.
- Ríos Herrera, E. N., Ochoa Fuentes, Y. M., Cerna Chávez, E., Landeros Flores, J., Cepeda Siller, M., & Rodríguez Guerra, R. (2017). Hongos asociados a la mancha de asfalto en el cultivo de maíz en México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(2), 457-462.

- Rodríguez, I. C., & Flores, J. (2018). Antagonistic capacity of *Trichoderma* spp. *in vitro* against *Rhizoctonia solani* Kuhn and *Fusarium verticillioides* Nirenberg. *Bioagro*, 30(1), 49-58.
- Sánchez, C., & Stalin, E. (2017). Efectos de estimulantes orgánicos y fertilización potásica sobre la resistencia a Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) y producción en el cultivo de banano (*Musa paradisiaca*) en el cantón Buena Fe (Bachelor's thesis, Quevedo-UTEQ). Ecuador.
- Sánchez, G., Gonzalez, S. G., García, C. M. R., James, A. C., & Santos, M. O. (2005). Biología de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet y su Interacción con *Musa* spp. *Revista Mexicana de fitopatología*, 23, 87-96.
- Sepúlveda, R. L. (2016). Phenotypic characterization of *Mycosphaerella fijiensis* and its relation with sensitivity to fungicides in Colombia. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 34(1), 1-21.
- Siller, M., & Rodríguez Guerra, R. (2017). Hongos asociados a la mancha de asfalto en el cultivo de maíz en México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(2), 457-462.
- Terrones, G. (2018). Efecto antifúngico del extracto etanólico de frutos secos de *Capsicum annuum* var. *annuum* "pimentón" sobre el crecimiento de *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum* y *Aspergillus niger*. *SAGASTEGUIANA*, 1(2), 31-40.
- Tovar Castaño, J. C. (2008). Evaluación de la capacidad antagonista " *in vivo*" de aislamientos de *Trichoderma* spp. frente al hongo fitopatógeno *Rhizoctonia solani* (Bachelor's thesis, Facultad de Ciencias). Universidad Pontificia Javeriana. Colombia.
- Valdiviezo Arias, H. B. (2018). Efecto de la aplicación de dos fungicidas para controlar sigatoka negra *Mycosphaerella fijiensis* en una plantilla de banano *Musa* spp. (Bachelor's thesis, Machala: Universidad Técnica de Machala). Ecuador.
- Viveros, J., & Castaño, J. (2006). Evaluación *in vitro* de extractos vegetales sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *Agron*, 14(1), 35-50.
- Yanes, T., & Alcivar, H. (2017). Efecto biofungicida del gel *Aloe vera* y extracto de moringa sobre la pudrición de corona en la fruta de banano (Bachelor's thesis, Machala: Universidad Técnica de Machala). Ecuador.

- Zapata, J. C., & Leal, J. M. (2018). Manejo integrado de la pudrición de raíces del aguacate (*Persea americana* Miller), causada por *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Temas Agrarios*, 131-143.
- Zentmyer, G. A., Menge, J. A., & Ohr, H. D. (1994). *Phytophthora root Rot. Compendium of Tropical Fruit Diseases. The American Phytopathological Society*, St. Paul, Minnesota, USA, pp 77-79.
- Zhan, J., Thrall, P. H., & Burdon, J. J. (2014). Achieving sustainable plant disease management through evolutionary principles. *Trends in Plant Science*, 19(9), 570-575.
- Zillinsky, F. J. (1983). Common diseases of small grain cereals. A guide to identification. *Common diseases of small grain cereals. A guide to identification*. México City, México: Centro Internacional de Mejoramiento de maíz y trigo (CIMMYT).

## 12. Anexo



HH0150	Estilos de Liderazgo Efectivos en los Círculos de Estudio Virtuales (CEV)	Hurtado Orozco Laura Herrera Solís Mónica	Hurtado Orozco	1444
HH479	Efectividad antifúngica in vitro de extractos vegetales para el control de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> (sigatoka negra)	José Manuel Ibarra Mayén Eliazar Aquino Torres Judith Prieto Méndez Alfredo Madariaga Navarrete Sergio Rubén Pérez Ríos Ma. Isabel Reyes Santamaría Jaime Pacheco Trejo	Ibarra Mayén	1449
HH0114	Caso práctico de plan de vuelo de un vehículo aéreo no tripulado: estudio comparativo	Ing. Emmanuel Alejandro Islas Narvaez Dr. Rodolfo Garcia Rodriguez Dr. Luis Enrique Ramos Velasco M. en C. Mario Alejandro Vega Navarrete M. en C. Carlos Roberto Domínguez Mayorga M. en C. Leonardo Alonso Martínez	Islas Narvaez	1454
HH537	Diagnóstico comunicatorio de El Parnaso, Sinaloa	Jacobo Leyva Claudia Janeth M.C Higuera Torres Guadalupe M.C Avilés Anaya Haydée	Jacobo Leyva	1460
HH0094	Aplicación de la guadua como elemento estructural binario para el diseño de un puente peatonal en el municipio de Cocorná-Antioquia, Colombia	MSc. Haldee Yulady Jaramillo MSc. Romel Jesús Gallardo Amaya MSc. July Andrea Gómez Campero	Jaramillo	1463

## EFFECTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO DE EXTRACTOS VEGETALES PARA EL CONTROL DE MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS (SIGATOKA NEGRA)

José Manuel Ibarra Mayen<sup>1</sup>, Eliazar Aquino Torres<sup>2\*</sup>, Judith Prieto Méndez<sup>3</sup>, Alfredo Madariaga Navarrete<sup>4</sup>, Sergio Rubén Pérez Ríos<sup>5</sup>, Ma. Isabel Reyes Santamaría<sup>6</sup>, Jaime Pacheco Trejo<sup>7</sup>

**Resumen**—*Mycosphaerella fijiensis* causa la enfermedad foliar sigatoka negra, el control químico ha incrementado la resistencia del fitopatógeno y contaminación en el ambiente. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto inhibitorio de seis extractos vegetales (hidrolatos): *Cinnamomum verum*, *Origanum vulgare*, *Schinus molle*, *Eucalyptus cinerea*, *Ruta graveolens* y *Tagetes lucida*, sobre el crecimiento micelial de *M. fijiensis* en condiciones in vitro. Los extractos se obtuvieron por hidrodestilación, en las pruebas se usaron 1, 3 y 5 mL de hidrolato incorporado de cultivo PDA y se midió la inhibición del crecimiento (mm) a 24, 48, 72 y 96 horas. Los hidrolatos mostraron un porcentaje de inhibición de crecimiento micelial con *M. fijiensis* que van desde un 12% hasta el 100%, siendo los hidrolatos *C. verum* y *O. vulgare* los que inhibieron al 100%. Los resultados sugieren el uso potencial de estos hidrolatos como una alternativa sustentable para el control biológico. **Palabras clave**—Control biológico, efecto antifúngico, extractos vegetales, *Mycosphaerella fijiensis*.

### Introducción

*Mycosphaerella fijiensis* es un hongo fitopatógeno que pertenece a la división Ascomycota, Género *Mycosphaerella* (Morelet). Estos patógenos se presentan exclusivamente en el follaje de la Familia Musaceae, presentando reproducción asexual y sexual. El primer tipo de reproducción genera esporas (conidios), en la reproducción sexual se producen las ascosporas que potencia su propagación y reproducción (INTAGRI, 2018). A nivel mundial los bananos y los plátanos constituyen la cuarta fruta más importante del mundo y se encuentran entre las variedades de bananos y plátanos producidos (Hidalgo, 2016). Estas frutas representan un ingreso económico importante para varios países en desarrollo, debido a que constituyen un alimento básico, además de ser una fuente para mejorar las condiciones sociales a través de la generación de empleos directos e indirectos (Bomacelly Horta, 2009). El control biológico constituye una alternativa importante para el uso eficiente de los recursos naturales, para el agricultor, minimizando el impacto causado al suelo, aire y agua por el uso excesivo de plaguicidas (Pieckenstain, 2002); (Tovar Castaño, 2008). El uso de extractos vegetales como control biológico, consiste en el uso de productos de los metabolitos secundarios de las plantas, estos sirven para erradicar total o parcialmente poblaciones de fitopatógenos, también sirven como preventivos sobre estos o para proteger directamente a las plantas de los mismos en el sitio de infección antes o después de que ocurra la infección (Guzmán, 2012). Las plantas que se contemplaron en este estudio, se han reportado con efecto negativo en el crecimiento de hongos tales como; *Fusarium* spp (Barrera y García, 2008), *Phytophthora infestans* (Soylu et al., 2006), *F. oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*,

<sup>1</sup> José Manuel Ibarra Mayen, es estudiante en el PE de Licenciatura en Biología para la titulación del Área Académica de Ciencias Biológicas en el Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. [jb315317@uaeh.edu.mx](mailto:jb315317@uaeh.edu.mx)

<sup>2</sup> Dra. Eliazar Aquino Torres, es profesora investigadora en el PE de Ingeniería en Agronomía para la Producción Sustentable del Área Académica de Ciencias Agrícolas y Forestales en el Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. [eaquino@uaeh.edu.mx](mailto:eaquino@uaeh.edu.mx) (autor correspondiente)

<sup>3</sup> Dra. Judith Prieto Méndez, es profesora investigadora en el PE de Ingeniería en Agronomía para la Producción Sustentable del Área Académica de Ciencias Agrícolas y Forestales en el Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. [jprieto@uaeh.edu.mx](mailto:jprieto@uaeh.edu.mx)

<sup>4</sup> Dr. Alfredo Madariaga Navarrete, es profesor investigador en el PE de Ingeniería en Agronomía para la Producción Sustentable del Área Académica de Ciencias Agrícolas y Forestales en el Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. [alfredo\\_madariaga@uaeh.edu.mx](mailto:alfredo_madariaga@uaeh.edu.mx)

<sup>5</sup> Dr. Sergio Rubén Pérez Ríos, es profesor investigador en el PE de Ingeniería en Agronomía para la Producción Sustentable del Área Académica de Ciencias Agrícolas y Forestales en el Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. [sperez@uaeh.edu.mx](mailto:sperez@uaeh.edu.mx)

<sup>6</sup> Dra. Ma. Isabel Reyes Santamaría, es profesora investigadora en el PE de Ingeniería en Agronomía para la Producción Sustentable del Área Académica de Ciencias Agrícolas y Forestales en el Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. [maisabel\\_reyes5598@uaeh.edu.mx](mailto:maisabel_reyes5598@uaeh.edu.mx)

<sup>7</sup> Dr. Jaime Pacheco-Trejo, es profesor investigador en el PE de Ingeniería en Agronomía para la Producción Sustentable del Área Académica de Ciencias Agrícolas y Forestales en el Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. [jaime\\_pacheco@uaeh.edu.mx](mailto:jaime_pacheco@uaeh.edu.mx)

*Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp y *Penicillium digitatum* (Cáceres et al., 2013), *Moniliophthora roreri* (Ramírez et al., 2011), Gutiérrez y colaboradores (2018) evaluaron el efecto de varios aceites esenciales obteniendo una inhibición del crecimiento del hongo *M. fijiensis* del 100% con *Cinnamomum zeylanicum*, *Origanum vulgare* y *Pimenta dioica* en condiciones *in vitro*.

#### Descripción del Método

El experimento se realizó en laboratorio de Química Agrícola Ambiental, en el Área Académica de Ciencias Agrícolas Instituto de Ciencias Agropecuarias de la UAEH. El material vegetal de las plantas *Schinus molle* y *Eucalyptus cinerea* fueron colectados en el área del Instituto de Ciencias Agropecuarias ICAP. Mientras que *Cinnamomum verum*, *Origanum vulgare*, *Ruta graveolens* y *Tagetes lucida* fueron adquiridos en el mercado local del municipio de Tulancingo, Hidalgo.

#### Obtención de extractos por proceso de hidrodeshidratación

Las hojas se lavaron con agua destilada, posteriormente se dejaron secar a temperatura ambiente para molerlas en un molino manual, se pesaron 100 g de cada especie. El aceite esencial y el hidrolato se obtuvo por hidrodeshidratación (Gutiérrez et al., 2018), que fueron separados. El hidrolato se depositó en un matraz erlenmeyer de 250 ml y el aceite esencial en frascos de vidrio, para su posterior refrigeración, hasta su uso.

#### Siembra de *M. fijiensis* en cajas Petri para ensayos *in vitro*

La cepa del hongo fue obtenida del laboratorio de Química Agrícola Ambiental de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Para la siembra del hongo los materiales y medios de cultivo se esterilizaron en la autoclave a una temperatura de 120 °C por 15 minutos. Posteriormente la siembra del hongo se realizó bajo una cámara de flujo laminar. El primer paso es verter el medio de cultivo (PDA), dejarlo enfriar y colocar en el centro de la caja el hongo. Las cajas Petri se incubaron a 28 °C por 96 horas haciendo mediciones a partir de las 24 horas.

#### Efecto fungicida en ensayos *in vitro*

Para evaluar el efecto fungicida de los seis extractos contra el hongo *M. fijiensis*, se realizaron los ensayos con tres concentraciones, 1 mL, 3 mL y 5 mL. Se utilizaron placas Petri con medio PDA y se aplicó el hidrolato a las distintas concentraciones, cuando el medio se encontraba tibio, y se dejaron solidificar. Se utilizó un testigo más tres repeticiones por cada extracto. Una vez solidificado el medio, se sembró en el centro de cada caja petri (tratamientos) un disco de 5 mm de diámetro obtenida del crecimiento más acelerado de la resiembra del patógeno, realizada como ya se describió. Las cajas se incubaron a 28 °C por 96 horas. Los resultados son expresados en porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo de acuerdo a las siguientes ecuaciones 1 y 2 (Islas et al., 2016).

$$\% \text{ growth} = \left[ \frac{\varphi_{atz}}{\varphi_b} \right] \times 100 \% \quad \text{Ecuación (1)}$$

$$\% \text{ CI} = 100 - \% \text{ growth} \quad \text{Ecuación (2)}$$

Donde  $\varphi_{atz}$  representa el diámetro (mm) de crecimiento del microorganismo en los tratamientos expuestos al extracto en cada evaluación.  $\varphi_b$  es el diámetro del microorganismo de control negativo crecimiento en cada evaluación y % CI es el porcentaje de inhibidor crecimiento.

#### Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar, con un testigo y tres repeticiones por cada extracto a tres concentraciones. Se probó la normalidad de los datos y se hicieron pruebas de comparación de medias (Tukey  $P < 0,05$ ), utilizando el programa estadístico SAS.

#### Comentarios finales

##### Resumen de resultados

El análisis estadístico muestra diferencias significativas entre tratamientos respecto al porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (Tabla 1). Se observó que, al aumentar la concentración de los extractos vegetales, aumentaban el porcentaje de inhibición a excepción de *T. lucida*. Los extractos con el mejor efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Mycosphaerella fijiensis*, fueron los de *O. vulgare* a 3 y 5 mL y de *C. verum* a partir de una concentración de 5 mL con un porcentaje de inhibición ( $100 \pm 0.00$  %) a las 24, 48, 72 y 96 horas,

mientras que los extractos *R. graveolens* registraron un porcentaje de inhibición del 84-85% a las 24 horas a las tres concentraciones probadas y disminuyó a través del tiempo, esta tendencia de disminución también fue observada para los extractos de *S. molle*, *E. cinérea* y *T. lucida* (Figura 1).

Los extractos de *S. molle*, *E. cinérea* y *T. lucida* (Figura 1) presentaron menores porcentajes de inhibición que van desde 20.72 hasta 42.44 a las 48 horas, a las 72 horas y 96 horas no mostraron efecto inhibitorio ante el crecimiento del hongo.

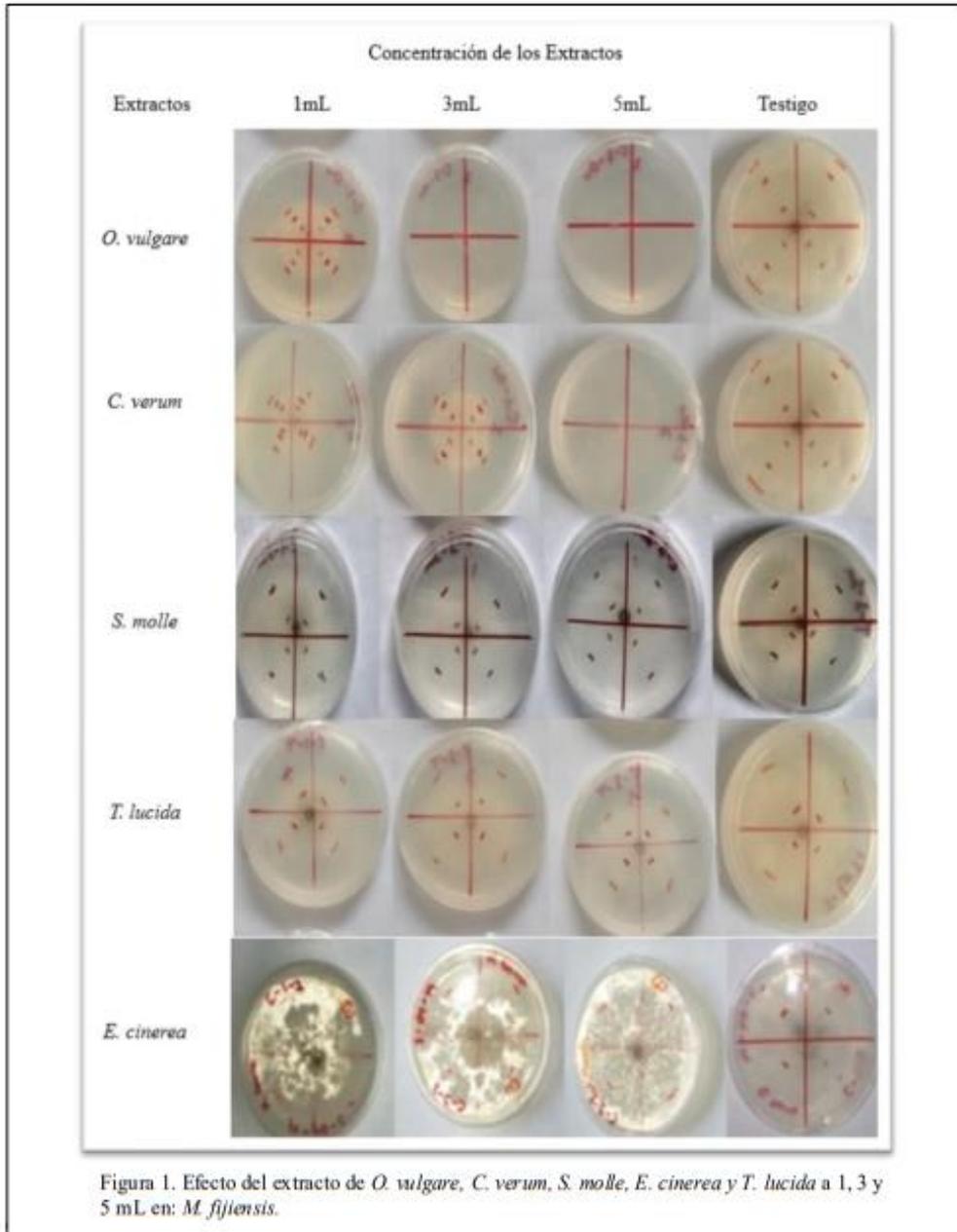
Tabla 1. Porcentaje de inhibición del crecimiento de *M. fijiensis* con extracto de *Cinnamomum verum*, *Origanum vulgare*, *Schinus molle*, *Eucalyptus cinérea*, *Ruta graveolens*, *Tagetes lucida*.

Planta	Tratamientos (Concentración del extracto en mL)	Porcentaje de inhibición			
		24h	48h	72h	96h
<i>Cinnamomum verum</i>	1 mL	49.45±0.09 <sup>c</sup>	41.32±0.13 <sup>c</sup>	25.96±0.19 <sup>c</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	3 mL	91.11± 0.08 <sup>b</sup>	76.96±0.11 <sup>b</sup>	70.83±0.12 <sup>c</sup>	39.01±0.29 <sup>f</sup>
	5 mL	100±0.00 <sup>a</sup>	100±0.00 <sup>a</sup>	100±0.00 <sup>a</sup>	100±0.00 <sup>a</sup>
<i>Origanum vulgare</i>	1 mL	56.28±0.06 <sup>b</sup>	63.32±0.18 <sup>d</sup>	62.80±0.19 <sup>d</sup>	49.73±0.32 <sup>e</sup>
	3 mL	100±0.00 <sup>a</sup>	100±0.00 <sup>a</sup>	100±0.00 <sup>a</sup>	100±0.00 <sup>a</sup>
	5 mL	100±0.00 <sup>a</sup>	100±0.00 <sup>a</sup>	100±0.00 <sup>a</sup>	100±0.00 <sup>a</sup>
<i>Schinus molle</i>	1mL	22.28±0.04 <sup>c</sup>	12.01±0.04 <sup>b</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	3mL	35.06±0.07 <sup>c</sup>	18.89±0.13 <sup>b</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	5mL	38.79±0.07 <sup>c</sup>	40.75±0.20 <sup>c</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
<i>Eucalyptus cinérea</i>	1mL	32.45±0.19 <sup>c</sup>	19.32±0.14 <sup>b</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	3mL	57.65±0.20 <sup>d</sup>	24.91±0.11 <sup>c</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	5mL	65.76±0.11 <sup>d</sup>	42.44±0.12 <sup>c</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
<i>Ruta graveolens</i>	1mL	84.50±0.10 <sup>b</sup>	27.40±0.18 <sup>c</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	3mL	85.90±0.06 <sup>b</sup>	26.70±0.12 <sup>c</sup>	20.09±0.23 <sup>b</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	5mL	85.90±0.07 <sup>b</sup>	33.41±0.14 <sup>c</sup>	32.77±0.21 <sup>c</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
<i>Tagetes lucida</i>	1mL	24.07±0.04 <sup>c</sup>	19.74±0.11 <sup>b</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	3mL	37.61±0.03 <sup>c</sup>	40.12±0.06 <sup>c</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>
	5mL	29.39±0.04 <sup>c</sup>	20.72±0.13 <sup>b</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>	0.00±9.27 <sup>a</sup>

Los resultados se presentan en medias ± desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey P<0,05) entre los tratamientos.

Estos resultados muestran el efecto potencial antifúngico del extracto de *C. verum* y *O. vulgare*, misma que puede deberse a la presencia de metabolitos secundarios, tales como el eugenol, carvacrol y limoneno a los cuales se

les atribuye actividad antifúngica contra *M. fijiensis* (Gutiérrez et al., 2018). Cabe mencionar que estos metabolitos se han reportado en el aceite no en los hidrolatos, por lo que se sugiere que estos mismos compuestos estén presentes en la fase acuosa, se tendrían que realizar el estudio fitoquímico para aislar e identificar cuáles son los ingredientes que son los responsables de la actividad antifúngica.



*digitatum*. También se ha reportado la acción antifúngica de esta especie, inhibiendo totalmente el crecimiento *in vitro* de *Monilophthora roveri* (Gutiérrez et al., 2018).

#### Conclusión

Los experimentos realizados muestran la obtención del 100% de inhibición del crecimiento micelial de *Mycosphaerella fijiensis* en condiciones *in vitro* con el hidrolato de *C. verum* y *O. vulgare* a concentraciones de 3 y 5 mL. La presencia de metabolitos secundarios inhibe la fase sexual del hongo, impidiéndole que este logre la germinación de las ascosporas. Los hidrolatos se obtienen en mayor cantidad que los aceites esenciales mediante la hidrodestilación, lo que representa una ventaja. Además de ser considerado como una alternativa sustentable y económica para el control de este hongo.

#### Referencias

- Bornacelly Horta, H. D. R. "Estudio del ciclo de vida DE *Mycosphaerella fijiensis* en tres clones de banano (Musa AAA) en tres regiones de la zona bananera del Magdalena" (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira), 2009.
- Cáceres Rueda de León, L., Colorado Vargas, R., Salas Muñoz, E., Muñoz Castellanos, L. N., & Hernández Ochoa, L. "Actividad Antifúngica *in vitro* de Extractos Acuosa de Especies contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger*". *Revista mexicana de fitopatología*, 31(2), 105-112, 2013.
- Gutiérrez-Jiménez, E., Pedraza-Sandoval, A., Martínez-Bolaños, L., Samaniego-Gaxiola, J. A., & García-González, F. "Effect of natural oils against *Mycosphaerella fijiensis* under *in vitro* conditions and detection of active plant chemicals". *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(1), 141-150, 2018.
- Guzmán, M. "Control biológico y cultural de la Sigatoka negra. In Trabajo presentado en el 45 Congreso Brasileiro de Fitopatología. Brazilian Phytopathological Society, Manaus, AM. Tropical Plant Pathology" Vol. 37, 2012.
- Hidalgo, W., Chandran, J. N., Menezes, R. C., Otálvaro, F., & Schneider, B. "Phenylphenolones protect banana plants from infection by *Mycosphaerella fijiensis* and are deactivated by metabolic conversion. *Plant, cell & environment*," 39(3), 492-513, 2016.
- Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura (INTAGRI). "Manejo de la Sigatoka Negra en Banano. Serie Frutales," Núm. 48. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 7 p, 2018.
- Islas-Pekaste, M., Villagómez-Ibarra, J. R., Rodríguez-Pastrana, B. R., Peery, G., & Madariaga-Navarete, A. "Identification of an Indigenous Atrazine Herbicide Tolerant Microbial Consortium in Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as a Potential Soil Bioremediator. *Agrotechnol*," 5(141), 2, 2016.
- Necha, L. L. B., & Barrera, L. J. G. "Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (*Carica papaya*)". *Revista científica UDO agrícola*, 8(1), 33-41, 2008.
- Pieckenstein, F. L. "Control biológico de enfermedades causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* en el ginsol y estudio del rol de las poliaminas en las distintas etapas del ciclo de vida de este patógeno," 2002.
- Ramírez González, S. I., López Báez, O., Espinosa Zaragoza, S., & Wong Villareal, A. "Actividad antifúngica de hidrodestilados y aceites sobre *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloeosporioides*". *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(8), 1879-1891, 2016.
- Soylu, E. M., Soylu, S., & Kurt, S. "Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia*," 161(2), 119-128, 2006.
- Tovar Castaño, J. C. "Evaluación de la capacidad antagonista *in vivo* de aislamientos de *trichoderma* spp frente al hongo fitopatógeno *rhizoctonia solani*" (Bachelor's thesis, Facultad de Ciencias), 2008.