



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**MAESTRÍA EN CIENCIAS Y TECNOLOGÍA
AGRÍCOLA Y FORESTAL SUSTENTABLE**

TESIS DE MAESTRÍA

**EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA
(IN VITRO) DE EXTRACTOS VEGETALES DE
ARTEMISA LUDOVICIANA NUTT., *LEPIDIUM VIRGINICUM* L.
Y *BRICKELLIA VERONICIFOLIA* (KUNTH) A. GRAY
SOBRE BACTERIAS Y HONGOS FITOPATÓGENOS**

Para obtener el grado de
Maestra en Ciencias y Tecnología Agrícola y Forestal Sustentable

PRESENTA

Ing. Adriana Hernández García

Director

Dr. Alfredo Madariaga Navarrete

Codirector

Dr. Cesar Uriel López Palestina

Tulancingo de Bravo, Hgo., México., febrero de 2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**MAESTRÍA EN CIENCIAS Y TECNOLOGÍA
AGRÍCOLA Y FORESTAL SUSTENTABLE**

TESIS DE MAESTRÍA

**EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA
(IN VITRO) DE EXTRACTOS VEGETALES DE
ARTEMISA LUDOVICIANA NUTT., *LEPIDIUM VIRGINICUM* L.
Y *BRICKELLIA VERONICIFOLIA* (KUNTH) A. GRAY
SOBRE BACTERIAS Y HONGOS FITOPATÓGENOS**

Para obtener el grado de
Maestra en Ciencias y Tecnología Agrícola y Forestal Sustentable

PRESENTA

Ing. Adriana Hernández García

Director

Dr. Alfredo Madariaga Navarrete

Codirector

Dr. Cesar Uriel López Palestina

Asesores

Dr. Ashutosh Sharma

Dra. Eliazar Aquino Torres

Dra. Mariana Saucedo García

Tulancingo de Bravo, Hgo., México., febrero de 2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

Instituto de Ciencias Agropecuarias

School of Forestry and Environmental Studies

Maestría en Ciencias y Tecnología Agrícola y Forestal Sustentable

Master's in Sciences and Technology of Agriculture and Forestry

ICAP-MCTAFS/001/2023

MTRA. OJUKY DEL ROCÍO ISLAS MALDONADO
DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
P R E S E N T E

Por este conducto se le comunica que el Comité Revisor asignado al alumno **Adriana Hernández García**, de la Maestría en Ciencias y Tecnología Agrícola y Forestal Sustentable, con número de cuenta 123730, que presenta el manuscrito de tesis titulado "**Evaluación de actividad antimicrobiana (*in vitro*) de extractos vegetales de *Artemisa ludoviciana* Nutt., *Lepidium virginicum* L. y *Brickellia veronicifolia* (Kunth) A. Gray sobre bacterias y hongos fitopatógenos**", ha autorizado la impresión del mismo.

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

ATENTAMENTE

"Amor, Orden y Progreso"

Tulancingo de Bravo, Hgo. A 20 de enero de 2023.

Dra. Ellazar Aquino Torres
Coordinadora de la Maestría en
Ciencias y Tecnología Agrícola y
Forestal Sustentable



Dr. Armando Peláez Acero
Director del ICAP



Avenida Universidad Km. 1 s/n, Exhacienda Aguetzalpa
Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México; C.P. 43500
Teléfono: 771 71 72000 ext 2430
maestria_agricola_forestal@uaeh.edu.mx

www.uaeh.edu.mx



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
 Instituto de Ciencias Agropecuarias

Maestría en Ciencias y Tecnología Agrícola y Forestal Sustentable

COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO DEL ICAP

Actas de la reunión del Comité de Tesis de Maestría en Ciencias y Tecnología Agrícola y Forestal Sustentable

Apertura:

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis intitulada: **"Evaluación de actividad antimicrobiana (*in vitro*) de extractos vegetales de *Artemisa ludoviciana* Nutt., *Lepidium virginicum* L. y *Brickellia veronicifolia* (Kunth) A. Gray sobre bacterias y hongos fitopatógenos"**, que desarrolla el estudiante **Adriana Hernández García**.

Asistentes:

- Dr. Alfredo Madariaga Navarrete
- Dr. Cesar Uriel López Palestina
- Dra. Eliazar Aquino Torres
- Dr. Ashutosh Sharma
- Dra. Mariana Saucedo García

A. Revisión de Trabajo de Tesis

Observaciones:

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis *en extenso* propuesto por **Adriana Hernández García**, comunicando a la estudiante, realizó oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. La estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

B. Acuerdos

En esta fecha, se comunica atentamente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que la estudiante imprima su trabajo final de tesis, y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

ATENTAMENTE

"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"

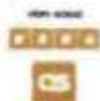
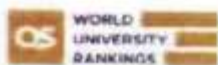
Tulancingo de Bravo, Hidalgo a 17 de enero de 2023.

- Dr. Alfredo Madariaga Navarrete
- Dr. Cesar Uriel López Palestina
- Dra. Eliazar Aquino Torres
- Dr. Ashutosh Sharma
- Dra. Mariana Saucedo García



Handwritten signatures and names of the committee members over horizontal lines.

Avda. Universidad Km. 1.5m, Ex Hacienda Aquitcalpa
 Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México, C.P. 43800
 Teléfono: 771 71 72000 ext 2400
 maestría_agricola_investig@uaeh.edu.mx



AGRADECIMIENTO

Este proyecto inicio con gran entusiasmo y como parte de un plan de vida; por lo que, en estas palabras quiero expresar mi agradecimiento, por el apoyo y la confianza que me brindaron en este camino.

A mis Padres Estela y Salvador, gracias por su amor incondicional, por creer en mí y por ser parte de este logro.

A mi familia, en especial a Angel y Gemma, que sin pensarlo han sido un pilar importante para cumplir esta meta.

Al Dr. Alfredo Madariaga Navarrete y al Dr. Cesar Uriel López Palestina, que con entusiasmo llevaron la dirección de este trabajo de investigación, gracias por su tiempo y dedicación. A los asesores e integrantes del comité que forman parte de este trabajo, al Dr. Ashutosh Sharma, a la Dra. Eliazar Aquino Torres y a la Dra. Mariana Saucedo García, gracias por los conocimientos compartidos.

A la Dra. Alma Delia Hernández Fuentes, gracias por su apoyo durante la elaboración de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo brindado a través de la beca No. 790929.

A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH) y al Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAp), por las facilidades brindadas para terminar este trabajo de tesis.

Y finalmente a mis amigos y compañeros, que sin duda son parte de gratos momentos.

Índice general

1	Índice de figuras	v
2	Índice de tablas	vi
1	Introducción	1
1.1	Introducción	1
1.2	Justificación	4
1.3	Planteamiento del problema	5
1.4	Hipótesis	6
1.5	Objetivo general	6
1.5.1	Objetivos específicos	6
1.6	Literatura citada	7
2	Fundamentos teóricos	11
2.1	Bacterias fitopatógenas que afectan el cultivo de jitomate	11
2.1.1	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	11
2.1.2	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	12
2.1.3	<i>Xanthomonas campestris</i>	12
2.2	Hongos fitopatógenos	12
2.2.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	12
2.2.2	<i>Fusarium moniliforme</i>	13
2.2.3	<i>Monilinia fruticola</i>	13
2.2.4	<i>Rhizoctonia Solani</i>	13
2.2.5	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	14
2.2.6	Uso de extractos vegetales para el control de hongos fitopatógenos	14
2.3	Uso de agroquímicos	15
2.4	Plantas utilizadas en la medicina tradicional	15

2.5	Familia Asteraceae.....	16
2.5.1	<i>Artemisa ludoviciana</i>	16
2.5.2	<i>Brickellia veronicifolia</i>	17
2.6	Familia Brassicaceae.....	17
2.6.1	<i>Lepidium virginicum</i>	18
2.7	Metabolitos secundarios.....	18
2.7.1	Terpenos	19
2.7.2	Fenoles.....	19
2.8	Extracción de metabolitos secundarios.....	20
2.9	Extracción asistida por baño ultrasónico	20
2.10	Literatura citada	21
3	Actividad antibacteriana (<i>in vitro</i>) de los extractos hidroalcohólicos de <i>Artemisa ludoviciana</i>, <i>Lepidium virginicum</i> y <i>Brickellia veronicifolia</i> sobre bacterias fitopatógenas	31
	RESUMEN	31
	ABSTRACT.....	32
3.1	Introducción.....	33
3.2	Metodología.....	35
3.2.1	Colecta e identificación del material vegetal.....	35
3.2.2	Secado del material vegetal	35
3.2.3	Obtención de extracto.....	35
3.2.4	Evaluación (<i>in vitro</i>) de la actividad antibacteriana	36
3.3	Análisis estadístico.....	38
3.4	Resultados y discusión.....	38
3.4.1	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).....	38
3.4.2	Concentración Mínima Bactericida (CMB)	39

3.5	Conclusión	42
3.6	Literatura citada	43
4	Actividad antifúngica (<i>in vitro</i>) de los extractos hidroalcohólicos de <i>Artemisa ludoviciana</i>, <i>Lepidium virginicum</i> y <i>Brickellia veronicifolia</i> sobre hongos fitopatógenos.	
	47	
	RESUMEN	47
	ABSTRACT	48
4.1	Introducción	49
4.2	Metodología	52
4.2.1	Colecta e identificación del material vegetal.....	52
4.2.2	Secado del material vegetal	52
4.2.3	Obtención de extractos	52
4.2.4	Evaluación (<i>in vitro</i>) de la actividad antifúngica.....	53
4.3	Análisis estadístico.....	55
4.4	Resultados y discusión.....	55
4.4.1	Evaluación fungicida por el método de dilución del extracto en agar	55
4.5	Conclusión	64
4.6	Literatura citada	65
5	Evaluación del contenido de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante <i>in vitro</i> de los extractos de <i>Artemisa ludoviciana</i>, <i>Lepidium virginicum</i> y <i>Brickellia veronicifolia</i>.	
	70	
	RESUMEN	70
	ABSTRACT	71
5.1	Introducción	72
5.2	Metodología	74
5.2.1	Colecta e identificación del material vegetal.....	74

5.2.2	Secado del material vegetal	74
5.2.3	Obtención de extractos	74
5.2.4	Rendimiento de los extractos vegetales.....	75
5.2.5	Determinación del contenido de fenoles y flavonoides totales	75
5.2.6	Determinación de la actividad antioxidante	76
5.3	Análisis estadístico.....	76
5.4	Resultados y discusión.....	77
5.4.1	Rendimiento de los extractos vegetales.....	77
5.4.2	Determinación del contenido de fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante	77
5.5	Conclusión	81
5.6	Literatura citada	82
6	Conclusiones generales	85
7	Trabajos a futuro	86
8	Anexos	87
8.1	Constancia de identificación de material vegetal de <i>Artemisa ludoviciana</i> , <i>Lepidium virginicum</i> y <i>Brickellia veronicifolia</i>	87
8.2	Actividades de producción científica.....	88

1 Índice de figuras

Figura 1.- Obtención de extracto A) Partes áreas de <i>Brickellia veronicifolia</i> , B) Mezcla de la planta seca en polvo y solución hidroalcohólica, C) Proceso de extracción por baño ultrasónico, D) Concentración de extracto.	36
Figura 2. Cultivo de cepas en medio PDA A) <i>Fusarium oxysporum</i> , B) <i>Fusarium moniliforme</i> , C) <i>Monilinia fruticola</i>	53
Figura 3. Evaluación del extracto hidroalcohólico de <i>Artemisa ludoviciana</i> sobre la inhibición de crecimiento de <i>Rhizoctonia solani</i> , a las 24 h de incubación. Concentraciones evaluadas A) 25 mg/mL, B) 50 mg/mL, C) 100 mg/mL, D) PDA, E) Captan.....	55
Figura 4. Evaluación del extracto hidroalcohólico del <i>Lepidium virginicum</i> sobre la inhibición de crecimiento de <i>Monilinia fruticola</i> a las 48, 72 y 168 h de incubación. Concentraciones evaluadas A) 25 mg/mL, B) 50 mg/mL, C) 100 mg/mL, D) PDA, E) Captan	56
Figura 5. Evaluación del extracto hidroalcohólico de <i>Brickellia veronicifolia</i> sobre la inhibición de crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Fusarium moniliforme</i> , a las 168 h de incubación. Concentraciones evaluadas A) 25 mg/mL, B) 50 mg/mL, C) 100 mg/mL, D) PDA, E) Captan.....	57
Figura 6. A) Contenido de fenoles totales y B) flavonoides totales de los extractos hidroalcohólicos de <i>Artemisa ludoviciana</i> , <i>Lepidium virginicum</i> y <i>Brickellia veronicifolia</i>	78
Figura 7. Actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de <i>Artemisa ludoviciana</i> , <i>Lepidium virginicum</i> y <i>Brickellia veronicifolia</i> por el método A) ABTS y B) DPPH.....	79

2 Índice de tablas

Tabla 1. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos hidroalcohólicos de <i>Artemisa ludoviciana</i> , <i>Lepidium virginicum</i> y <i>Brickellia veronicifolia</i>	39
Tabla 2. Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extractos hidroalcohólicos de <i>Artemisa ludoviciana</i> , <i>Lepidium virginicum</i> y <i>Brickellia veronicifolia</i>	40
Tabla 3. Porcentaje de inhibición de crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>Monilinia fructicola</i> y <i>Rhizoctonia solani</i> , utilizando como tratamiento tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de <i>Artemisa ludoviciana</i>	59
Tabla 4. Porcentaje de inhibición de crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>Monilinia fructicola</i> y <i>Rhizoctonia solani</i> , utilizando como tratamiento tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de <i>Lepidium virginicum</i>	60
Tabla 5. Porcentaje de inhibición de crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>Monilinia fructicola</i> y <i>Rhizoctonia solani</i> , utilizando como tratamiento tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de <i>Brickellia veronicifolia</i>	61
Tabla 6. Rendimiento de los extractos hidroalcohólicos de <i>Brickellia veronicifolia</i> , <i>Artemisa ludoviciana</i> y <i>Lepidium virginicum</i>	77

RESUMEN

Frecuentemente los cultivos agrícolas se ven afectados por enfermedades ocasionadas por agentes fitopatógenos. Tradicionalmente el método de control ha sido a través del uso de productos químicos. En la actualidad se buscan alternativas al uso de los agroquímicos, dado que las prácticas inadecuadas y la falta de capacitación, han generado daños ecológicos, que en la mayoría de los casos son irreversibles. El uso de extractos vegetales y sus biomoléculas, representan una alternativa a los métodos de control tradicionales ya que pueden ser amigables con el medio ambiente. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antibacteriana, antifúngica y antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de plantas que se han utilizado en la medicina tradicional como *A. ludoviciana*, *L. virginicum* y *B. veronicifolia*. Los extractos hidroalcohólicos se obtuvieron por extracción asistida por baño ultrasónico. Se determinó la actividad antibacteriana de las cepas de *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *P. syringae* pv. *Tomato* y *X. campestris*, a través de la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y de la Concentración Mínima Bactericida (CMB). Para determinar la actividad antifúngica, se evaluaron tres concentraciones (25, 50 y 100 mg/mL), por el método de dilución del extracto en agar, las cepas evaluadas fueron *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *M. fructicola*, *R. solani* y *S. sclerotiorum*. Se determinó el contenido de fenoles, flavonoides totales y la actividad antioxidante por los métodos DPPH• y ABTS•+. De acuerdo a los resultados obtenidos concluimos que el contenido de flavonoides influye en la actividad antioxidante, lo que puede influir en la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos evaluados. Sin embargo, se recomienda realizar un análisis fitoquímico de los extractos hidroalcohólicos.

ABSTRACT

Agricultural crops are frequently affected by diseases caused by phytopathogenic agents. Traditionally the control method has been through the use of chemical products. Currently, alternatives to the use of agrochemicals are being sought, since inadequate practices and lack of training have generated ecological damage, which in most cases is irreversible. The use of plant extracts and their biomolecules represent an alternative to traditional control methods since they can be friendly to the environment. The objective of this work was to evaluate the antibacterial, antifungal and antioxidant activity of hydroalcoholic extracts from plants that have been used in traditional medicine such as *A. ludoviciana*, *L. virginicum* and *B. veronicifolia*. The hydroalcoholic extracts were obtained by extraction assisted by ultrasonic bath. The antibacterial activity of the strains of *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *P. syringae* pv. *Tomato* and *X. campestris*, through the determination of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (CMB). To determine the antifungal activity, three concentrations (25, 50 and 100 mg/mL) were evaluated, by the method of extract dilution in agar, the strains evaluated were *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *M. fructicola*, *R. solani* and *S. sclerotiorum*. The content of phenols, total flavonoids and antioxidant activity were determined by the DPPH• and ABTS•+ methods. According to the results obtained, we conclude that the flavonoid content influences the antioxidant activity, which may influence the antibacterial and antifungal activity of the extracts evaluated. However, it is recommended to carry out a phytochemical analysis of the hydroalcoholic extracts.

CAPÍTULO I

1 Introducción

1.1 Introducción

Frecuentemente la producción agrícola se ve afectada por enfermedades ocasionadas por bacterias y hongos fitopatógenos. Dichas enfermedades se pueden presentar en las etapas pre cosecha y pos cosecha, lo que disminuye la calidad y el rendimiento de los cultivos (Meneses, 2017). Tal es el caso de las bacterias fitopatógenas *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Xanthomonas campestris* y los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Monilinia fructicola*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*.

Las enfermedades bacterianas causan pérdidas significativas en los cultivos de hortalizas, incluido el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Kolomiiets et al., 2019), este cultivo se ve afectado por *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* un actinomiceto fitopatógeno que se propaga a través del xilema causando marchitez y cancro bacteriano una de las enfermedades más destructivas de este cultivo (Gartemann et al., 2003; Miguel et al., 2000). Dentro de las enfermedades bacterianas más importantes de cultivo de tomate también se encuentra la mota bacteriana causada por *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, la cual se desarrolla bajo temperaturas de 18 a 24 °C y alta humedad relativa (Félix-Gastélum et al., 2012), provocando deformación de frutos y la caída de las flores que puede reducir la cosecha hasta en un 75% (Arasu et al., 2022; Pérez-Pérez et al., 2020) y *Xanthomonas campestris* que causa la mancha bacteriana, enfermedad que afecta hojas, tallos y fruto (El-Esawi et al., 2022).

Respecto a las enfermedades ocasionadas por hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum*; en un patógeno que se transmite a través del suelo y se reproduce a través de esporas, que pueden permanecer latentes durante largos periodos de tiempo lo que dificulta su control. Una vez que *F. oxysporum* ingresa a la planta a través de la raíz, su colonización en el sistema vascular altera los vasos del xilema que conducen el agua, lo que provoca síntomas de

marchitez, retraso en el crecimiento, clorosis en las hojas, los tejidos vasculares afectados se vuelven de color marrón o negro y finalmente la muerte de la planta. (Joshi, 2018; Zuriegat et al., 2021). Las cepas fitopatógenas de *F. oxysporum* se dividen en patotipos de acuerdo a su capacidad para infectar diferentes cultivos, como es el caso de las solanáceas (Tomates, papas, pimientos y berenjenas), la palma de aceite, las leguminosas, las fresas, la lechuga, la caña de azúcar, la sandía y el plátano. (Zuriegat et al., 2021). Dentro del género *Fusarium*, se encuentra *F. moniliforme* un hongo filamentoso que también es ampliamente distribuido en el suelo, afecta principalmente el cultivo de trigo y maíz, causando pérdidas irreversibles en el rendimiento y la calidad de los granos (Yang et al., 2022). Este fitopatógeno causa podredumbre en tallo y semillas de maíz, ocasionando daños en la etapa pre cosecha y poscosecha; lo que disminuye el rendimiento y la calidad de la producción agrícola, ya que la presencia de micotoxinas inhibe la viabilidad de las semillas, la germinación, así como el vigor de las plántulas (Krishnan et al., 2019). Los hongos del género *Monilinia* se encuentran en todo el mundo, este hongo se encuentra entre los fitopatógenos más destructivos de los cultivos de fruta de hueso (Fischer et al., 2017); ocasionando la enfermedad conocida como podredumbre parda y generando daños tanto en pre cosecha como en poscosecha. Cuando las condiciones para su desarrollo son favorables, las pérdidas poscosecha pueden ser del 80 al 90% (Boiteux et al., 2018; Casals et al., 2014; De Miccolis Angelini et al., 2022; Ma et al., 2019). Entre los patógenos que se transmiten a través del suelo y semillas infectadas esta *Rhizoctonia solani* el cual se puede transportar fácilmente a través de algunos órganos de la planta, como los tubérculos. Es un patógeno difícil de controlar ya que infecta a un gran número de cultivos como la cebada, la pimienta, el trigo, los tomates, las alubias, las zanahorias, el clavo, la coliflor, los garbanzos, las papas, la remolacha azucarera, la soja, el tabaco, el arroz, etc. (Ajayi-Oyetunde y Bradley, 2018). *R. solani* puede sobrevivir por largos periodos de tiempo como micelio en la materia orgánica y como esclerocios en el suelo. Los síntomas en los diversos huéspedes son pudrición de semillas, raíces, tallos y frutos, cáncer de tallos y coronas, tizón de las hojas y de la vaina, enanismo en varios órganos de las plantas y daño en las plántulas de varias especies de plantas (Aydin, 2022). Otro fitopatógeno de importancia agronómica es *Sclerotinia sclerotiorum*, este hongo causa la enfermedad conocida comúnmente como pudrición del tallo o moho blanco (Wang et al., 2019), infecta a diversos cultivos de importancia económica como el girasol, la soja, la colza, el frijol, las

lentejas, el garbanzo, la canola, el tulipán y la cebolla. Este patógeno se caracteriza por la formación de esclerocios, que son estructuras fúngicas de resistencia y propagación, las cuales se pueden mantener viables en el suelo durante varios años (Ordóñez-Valencia et al., 2018).

Tradicionalmente el uso de agroquímicos ha sido el método principal para el control de fitopatógenos (Mesa et al., 2019). Sin embargo, el uso indiscriminado de los productos químicos ha generado efectos secundarios como: resistencia a los ingredientes activos, daños a la salud humana y al medio ambiente. Además, se sabe que una gran cantidad de agroquímicos permanecen en el ambiente debido a su alta persistencia, lenta degradación y alta estabilidad química (Acedo-Zegarra et al., 2020; Carreño-Meléndez et al., 2019; Polanco et al., 2019).

Una alternativa sustentable para el control de plagas y enfermedades es el uso de extractos vegetales como potenciales biocontroles de fitopatógenos (Badaracco *et al.*, 2020; Rodríguez et al, 2020), dado que las especies vegetales sintetizan metabolitos secundarios como terpenos, fenoles y alcaloides, los cuales tienen actividad antioxidante y antimicrobiana (Arredondo et al., 2017).

En busca de alternativas sustentables al uso de agroquímicos, en este trabajo de investigación se determinó la actividad antimicrobiana de los extractos hidroalcohólicos de plantas que se han utilizado en la medicina tradicional mexicana como *Artemisa ludoviciana* Nutt., *Lepidium virginicum* L. y *Brickellia veronicifolia* (Kunth) A. Gray.

1.2 Justificación

Frecuentemente la producción agrícola se ve afectada por microorganismos fitopatógenos, tal es el caso de los hongos y las bacterias que causan enfermedades durante las etapas precosecha y poscosecha, lo que disminuye la calidad y el rendimiento de cultivos de importancia agronómica y comercial. Por otro lado, el uso de agroquímicos ha sido el método comúnmente empleado; sin embargo, el uso inadecuado e irracional de estos productos, ha generado efectos secundarios como: danos a la salud humana; daños al medio ambiente, ocasionando contaminación del agua, el suelo y la atmosfera; además de que cada día los agentes patógenos generan resistencia a la formulación química de dichos productos. Por lo anterior, es que actualmente se buscan métodos de control sustentables o amigables con el medio ambiente. Una alternativa es el uso de extractos vegetales, ya que las plantas sintetizan biomoléculas con actividad antimicrobiana. Llevar a cabo este trabajo de investigación, permitirá hacer una contribución a la búsqueda de plantas con potencial antimicrobiano.

1.3 Planteamiento del problema

La presencia de enfermedades bacterianas y fúngicas en los cultivos agrícolas, representa pérdidas económicas significativas para los productores, dado que afectan a cultivos de importancia agronómica y comercial.

El uso inadecuado e irracional de los agroquímicos, para el control de las enfermedades fitopatógenas; ha generado daños ambientales, daños a la salud humana y propiciado la generación de microorganismos resistentes a dichos productos.

Debido a los efectos secundarios mencionados anteriormente, actualmente se buscan alternativas ecológicas, que permitan el control de los agentes fitopatógenos, tal es el caso de compuestos bioactivos obtenidos de los extractos vegetales de plantas conocidas por su actividad antimicrobiana.

1.4 Hipótesis

Los extractos hidroalcohólicos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*, tienen actividad antibacteriana sobre bacterias que afectan el cultivo de jitomate y hongos que afectan cultivos de importancia agronómica y comercial.

1.5 Objetivo general

Evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos hidroalcohólicos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia* mediante técnicas *in vitro* sobre *Clavibacter michiganensis* sbsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Xanthomonas campestris*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Monilinia fructicola*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum* e identificar los componentes activos.

1.5.1 Objetivos específicos

1. Evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*.
2. Evaluar *in vitro* la actividad antifúngica de los extractos hidroalcohólicos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*.
3. Evaluar el contenido de fenoles y flavonoides totales, así como la capacidad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*.

1.6 Literatura citada

- Acedo-Zegarra, V. J., Arana-Bardales, D. F., & Condo-Montano, A. E. (2020). Actividad antifúngica in vitro de diferentes concentraciones de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” contra *Fusarium oxysporum*. *Revista de Investigación de Agroproducción Sustentable*, 4(1), 35. <https://doi.org/10.25127/aps.20201.541>
- Ajayi-Oyetunde, O. O., & Bradley, C. A. (2018). Rhizoctonia solani: taxonomy, population biology and management of rhizoctonia seedling disease of soybean. *Plant Pathology*, 67(1), 3–17. <https://doi.org/10.1111/ppa.12733>
- Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Choi, K. C., Vincent Bensey, A. D., & Rajaselvam, J. (2022). Bioactive potential of *Albizia lebbek* extract against phytopathogens and protective properties on tomato plant against speck disease in greenhouse. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 117. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101750>
- Arredondo, V. R., Hernández Castillo Francisco D., Anguiano Cabello Julia C., Ochoa Fuentes Yissa M., Morales G. Gallegos, Jasso Cantú Diana, & Aguilar N. Cristóbal. (2017). Review of antibacterial activity of plant extracts and growth-promoting microorganism (GPM) against phytopathogenic bacterial tomato crop. *European Journal of Biotechnology and Genetic Engineering*, 4(1). www.idpublications.org
- Aydin, M. H. (2022). Rhizoctonia solani and its biological control. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 9(1), 118–135. <https://doi.org/10.19159/tutad.1004550>
- Boiteux, J., Monardez, C., Fernández, M. de los Á., Espino, M., Pizzuolo, P., & Silva, M. F. (2018). *Larrea divaricata* volatilome and antimicrobial activity against *Monilinia fructicola*. *Microchemical Journal*, 142, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.06.011>
- Carreño-Meléndez, F., Vásquez-González, A. Y., & Vásquez González, G. (2019). Problemas sociales y ambientales por uso de agroquímicos en Tenancingo, México. *Tlatemoani*, 31.

- Casals, C., Segarra, J., de Cal, A., Lamarca, N., & Usall, J. (2014). Overwintering of *Monilinia* spp. on mummified stone fruit. *Journal of Phytopathology*, *163*(3), 160–167. <https://doi.org/10.1111/jph.12298>
- De Miccolis, A. R. M., Raguseo, C., Rotolo, C., Gerin, D., Faretra, F., & Pollastro, S. (2022). The Mycovirome in a Worldwide Collection of the Brown Rot Fungus *Monilinia fructicola*. *Journal of Fungi*, *8*(5), 481. <https://doi.org/10.3390/jof8050481>
- El-Esawi, M. A., El-Ballat, E. M., & Elsayed, A. (2022). Exogenous application of neem extract enhances the control of bacterial spot of tomato grown in soilless culture system through modulating gas exchange attributes, osmolytes, antioxidant machinery and genes expression. *The Egyptian Journal of Experimental Biology*, *18*(1), 85–93. <https://doi.org/10.5455/egyjebb.20220327060847>
- Félix-Gastélum, R., Maldonado-Mendoza, I. E., Espinoza-Mancillas, M. G., Leyva-López, N. E., Martínez-Valenzuela, C., Martínez-Álvarez, J. C., & Herrera-Rodríguez, G. (2012). Halo-spot and external stem necrosis of tomato caused by *Pseudomonas syringae* in Sinaloa, Mexico. *Phytoparasitica*, *40*(4), 403–412. <https://doi.org/10.1007/s12600-012-0242-4>
- Fischer, J. M. M., Savi, D. C., Aluizio, R., May De Mio, L. L., & Glienke, C. (2017). Characterization of *Monilinia* species associated with brown rot in stone fruit in Brazil. *Plant Pathology*, *66*(3), 423–436. <https://doi.org/10.1111/ppa.12578>
- Gartemann, K.-H., Kirchner, O., Engemann, J., Gräfen, I., Eichenlaub, R., & Burger, A. (2003). *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: first steps in the understanding of virulence of a Gram-positive phytopathogenic bacterium. *Journal of Biotechnology*, *106*(2), 179–191. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2003.07.011>
- Joshi, R. (2018). A review of *Fusarium oxysporum* on its plant interaction and industrial use. ~ 112 ~ *Journal of Medicinal Plants Studies*, *6*(3), 112–115.
- Kolomiets, Y. v., Grygoryuk, I. P., Butsenko, L. M., & Kalinichenko, A. v. (2019). Biotechnological control methods against phytopathogenic bacteria in tomatoes. *Appl. Ecol. Environ. Res.*, *17*(2), 3215–3230. <https://doi.org/10.15666/aeer>

- Krishnan, N., Velramar, B., & Velu, R. K. (2019). Investigation of antifungal activity of surfactin against mycotoxigenic phytopathogenic fungus *Fusarium moniliforme* and its impact in seed germination and mycotoxicosis. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *155*, 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.01.010>
- Ma, Y., Huang, L., Abuduaini, A., Zhou, H., Wang, Y., & Suo, F. (2019). Complete mitochondrial genome of plant pathogen *Monilinia fructicola* (Sclerotiniaceae, Helotiales). *Mitochondrial DNA Part B*, *4*(1), 791–792. <https://doi.org/10.1080/23802359.2019.1567282>
- Meneses, M. N. (2017). Agrohhomeopatía como alternativa a los agroquímicos. *Revista Medica de Homeopatia*, *10*(1), 9–13. <https://doi.org/10.1016/j.homeo.2017.04.004>
- Miguel, A., García, A., Amat, Z., & Pérez, I. (2000). Detección en semillas de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, agente causal del cáncer bacteriano del tomate. *Fitosanidad*, *4*(1–2), 9–13.
- Ordóñez-Valencia, C., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., Hernández-Cuevas, L. v., & Larsen, J. (2018). Desarrollo morfológico temprano de esclerocios por *Sclerotinia sclerotiorum* en presencia de bicarbonato de potasio. *Revista Mexicana de Fitopatología*, *36*(3), 363–378. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1803-4>
- Pérez-Pérez, J. U., Guerra-Ramírez, D., Reyes-Trejo, B., Cuevas-Sánchez, J. A., & Guerra-Ramírez, P. (2020). Actividad antimicrobiana in vitro de extractos de *Jatropha dioica* seseé contra bacterias fitopatógenas de tomate. *Polibotánica*, *0*(49). <https://doi.org/10.18387/polibotanica.49.8>
- Polanco, R. A. G., Magaña Castro, T. V., Iuit Cetz, J., & Quintal López, R. (2019). Uso de agroquímicos cancerígenos en la región agrícola de Yucatán, México. *Centro Agrícola*, *46*(2), 72–83. <http://cagricola.uclv.edu.cu>
- Wang, Z., Ma, L. Y., Cao, J., Li, Y. L., Ding, L. N., Zhu, K. M., Yang, Y. H., & Tan, X. L. (2019). Recent Advances in Mechanisms of Plant Defense to *Sclerotinia sclerotiorum*. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01314>

- Yang, H., Zhang, W., Tian, P., Li, B., Wei, S., Zhang, S., Li, N., Lyu, Y., & Hu, Y. (2022). Insights into the mechanism of Sub3 inhibiting *Fusarium moniliforme* infection in maize. *Grain and Oil Science and Technology*, 5(1), 22–34. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2021.11.002>
- Zuriegat, Q., Zheng, Y., Liu, H., Wang, Z., & Yun, Y. (2021). Current progress on pathogenicity-related transcription factors in *Fusarium oxysporum*. In *Molecular Plant Pathology* (Vol. 22, Issue 7, pp. 882–895). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/mpp.13068>

CAPÍTULO II

2 Fundamentos teóricos

2.1 Bacterias fitopatógenas que afectan el cultivo de jitomate

Las enfermedades bacterianas causan pérdidas significativas en los cultivos de hortalizas, incluido el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Kolomiiets et al., 2019), este cultivo se ve afectado por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* y *Xanthomonas campestris*. Como antecedente sobre el estudio de extractos vegetales frente a bacterias fitopatógenas que afectan el cultivo de tomate, Balestra et al., (2009) reportaron que los extractos de *Allium sativum* (Amaryllidaceae) y *Ficus carica* (Moraceae) redujeron la incidencia de la enfermedad por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* *P. syringae* pv. *tomato* y *X. campestris* en un 58 y un 30 % y la gravedad de la enfermedad en un 68 y un 22 % respectivamente. También hicieron una comparación de la efectividad de los extractos contra un tratamiento estándar de cobre indicando que los extractos son efectivos en un 65% para *A. sativum* y 38% para *F. carica*.

2.1.1 *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* un actinomiceto fitopatógeno gram positivo que se propaga a través del xilema causando marchitez y cancro bacteriano (Gartemann et al., 2003) es una de las enfermedades más destructivas del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Aunque el patógeno puede sobrevivir en el suelo, la fuente principal de diseminación de la enfermedad es a través de las semillas contaminadas, encontrándose el microorganismo tanto en la cubierta como en el interior de ellas. Se ha demostrado que la sobrevivencia del patógeno en semillas supera los diez años y que la enfermedad se puede transmitir de una cosecha a otra (Miguel et al., 2000). La enfermedad ocasiona una severa reducción de la cantidad y la calidad de los frutos. provocando manchas oscuras rodeadas de un halo blanco, similar a un ojo de pájaro (Rivera-Sosa et al., 2021).

2.1.2 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*

Pseudomonas syringae pv. *tomato*, se desarrolla a temperaturas entre 18 a 24 °C y alta humedad relativa (Félix-Gastélum et al., 2012), es el agente causal de la mota bacteriana en el tomate (Cerna-Vargas et al., 2019), provocando deformación de frutos y la caída de las flores que puede reducir la cosecha hasta en un 75% (Arasu et al., 2022; Pérez-Pérez et al., 2020). Afecta a una gran cantidad de cultivos, ya que es el fitopatógeno más común en las plantas (Xin et al., 2018).

2.1.3 *Xanthomonas campestris*

Xanthomonas campestris, es una bacteria gram negativa, de pigmentación amarilla, que afecta a diferentes brasicáceas y solanáceas (Ryan et al., 2011). Causa la mancha bacteriana, enfermedad que afecta hojas, tallos y fruto (El-Esawi et al., 2022).

2.2 Hongos fitopatógenos

2.2.1 *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum es un hongo fitopatógeno que se transmite a través del suelo, el cual se reproduce a través de esporas, que pueden permanecer latentes durante largos periodos de tiempo, lo que dificulta su control. Dentro de los métodos que se han implementado para su control son: saneamiento del campo, limpieza de herramientas agrícolas antes de usarlas en un campo sano, prácticas culturales como la eliminación y destrucción completa de las plantas infectadas, así como el uso de semillas certificadas y libres de patógenos. Una vez que *F. oxysporum* ingresa a la planta a través de la raíz, su colonización en el sistema vascular altera los vasos del xilema que conducen el agua, lo que provoca síntomas de marchitez, retraso en el crecimiento, clorosis en las hojas, los tejidos vasculares afectados se vuelven de color marrón o negro y finalmente la muerte de la planta. Durante el proceso de infección *F. oxysporum* secreta micotoxinas, proteínas y enzimas que degradan la pared celular vegetal (Joshi, 2018; Zuriegat et al., 2021). Las cepas fitopatógenas de *F. oxysporum* se dividen en patotipos de acuerdo a su capacidad para infectar diferentes cultivos, como es el caso de las

solanáceas (Tomates, papas, pimientos y berenjenas), la palma de aceite, las leguminosas, las fresas, la lechuga, la caña de azúcar, la sandía y el plátano. (Zuriegat et al., 2021).

2.2.2 *Fusarium moniliforme*

Dentro del género *Fusarium*, se encuentra *F. moniliforme* un hongo filamentoso que también es ampliamente distribuido en el suelo, afecta principalmente el cultivo de trigo y maíz, causando pérdidas irreversibles en el rendimiento y la calidad de los granos (Yang et al., 2022). Este fitopatógeno causa podredumbre en tallo y semillas de maíz, ocasionando daños en la etapa pre cosecha y poscosecha; lo que disminuye el rendimiento y la calidad de la producción agrícola, ya que la presencia de micotoxinas inhibe la viabilidad de las semillas, la germinación, así como el vigor de las plántulas (Krishnan et al., 2019).

2.2.3 *Monilinia fructicola*

Los hongos del género *Monilinia* se encuentran en todo el mundo, siendo *Monilinia fructicola*, el que prevalece sobre *Monilinia laxa* y *Monilinia fructigena*. Este hongo se encuentra entre los fitopatógenos más destructivos de los cultivos de fruta de hueso (Fischer et al., 2017); ocasionando la enfermedad conocida como podredumbre parda y generando daños tanto en pre cosecha como en poscosecha. Cuando las condiciones para su desarrollo son favorables, las pérdidas poscosecha pueden ser del 80 al 90% (Boiteux et al., 2018; Casals et al., 2014; De Miccolis Angelini et al., 2022; Ma et al., 2019).

2.2.4 *Rhizoctonia Solani*

Rhizoctonia solani es un hongo necrotrófico que se transmite por el suelo y semillas infectadas, se puede transportar fácilmente a través de algunos órganos de la planta, como los tubérculos. Es un patógeno difícil de controlar ya que infecta a un gran número de cultivos como la cebada, la pimienta, el trigo, los tomates, las alubias, las zanahorias, el clavo, la coliflor, los garbanzos, las papas, la remolacha azucarera, la soja, el tabaco, el arroz, etc. (Ajayi-Oyetunde y Bradley, 2018). *R. solani* puede sobrevivir por largos periodos de tiempo como micelio en la materia orgánica y como esclerocios en el suelo. Los síntomas en los

diversos huéspedes son pudrición de semillas, raíces, tallos y frutos, cáncer de tallos y coronas, tizón de las hojas y de la vaina, enanismo en varios órganos de las plantas y daño en las plántulas de varias especies de plantas (Aydin, 2022). En condiciones favorables este fitopatógeno puede afectar hasta en un 50% el rendimiento de los cultivos. La gravedad de la enfermedad depende de la variedad, la edad de la planta, los factores climáticos, así como del uso excesivo de fertilizantes nitrogenados (Prabhukarthikeyan et al., 2022).

2.2.5 *Sclerotinia sclerotiorum*

Sclerotinia sclerotiorum es un hongo que pertenece a la familia Sclerotiniaceae. Es un patógeno devastador, que infecta a diversos cultivos de importancia económica como el girasol, la soya, la colza, el frijol, las lentejas, el garbanzo, la canola, el tulipán y la cebolla. Causa la enfermedad conocida comúnmente como pudrición del tallo o moho blanco (Wang et al., 2019). Las condiciones ambientales que favorecen la infección fúngica son la humedad excesiva y temperaturas de entre 15 y 25 °C. Este patógeno se caracteriza por la formación de esclerocios, que son estructuras fúngicas de resistencia y propagación, las cuales se pueden mantener viables en el suelo durante varios años. Dependiendo de las condiciones ambientales, los esclerocios forman micelio que infecta la raíz causando pudrición y marchitez de los tejidos de la planta o producir apotecios en los cuales se producen y liberan las ascosporas para posteriormente infectar los órganos aéreos de la planta (Ordóñez-Valencia et al., 2018).

2.2.6 Uso de extractos vegetales para el control de hongos fitopatógenos

Como antecedente sobre el uso de extractos vegetales para el control de fitopatógenos fúngicos (Boiteux et al., 2018), evaluaron la actividad antifúngica del extracto de *Larrea divaricata* (Zygophyllaceae), reportan que dicho extracto inhibe el crecimiento micelial de *M. fructicola*, por lo que se puede considerar como una alternativa de protección poscosecha, Rodríguez-Castro et al. (2020), mencionan que el extracto metanólico de *Larrea tridentata* (Zygophyllaceae), es efectivo para inhibir el crecimiento de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*, hasta por diez días, también indica que el extracto metanólico de *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae), se puede usar para el manejo de *Fusarium*

oxysporum, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*, con menor efectividad que *L. tridentata*. En otro estudio Villota-Burbanoy Vazquez-Ochoa, (2021), mencionan que el extracto etanólico de las hojas de *Borago officinalis* (Boraginaceae), fue efectivo para el control de *in vitro* de *Fusarium* sp y *Alternaria* sp, dando resultados similares al fungicida comercial Metalaxyl + Propamocarb hydrochloride, el cual es de uso común. De acuerdo con Hernández-Soto et al. (2020), el extracto acuoso de *Argemone mexicana* (Papaveraceae) a la concentración de 2000 ppm presento un efecto fungistático sobre el fitopatógeno *S. sclerotiorum*. El uso de extractos vegetales representa una alternativa de control frente los agentes fitopatógenos, dado que la presencia de metabolitos secundarios como los compuestos fenólicos actúan sobre la membrana celular de los microorganismos.

2.3 Uso de agroquímicos

Tradicionalmente el uso de agroquímicos ha sido el método principal para el control de fitopatógenos (Mesa *et al.*, 2019). Sin embargo, el uso indiscriminado de los productos químicos ha generado efectos secundarios como: resistencia a los ingredientes activos, daños a la salud humana y al medio ambiente. Además, se sabe que una gran cantidad de agroquímicos permanecen en el ambiente debido a su alta persistencia, lenta degradación y alta estabilidad química (Acedo-Zegarra et al., 2020; Carreño-Meléndez et al., 2019; Polanco et al., 2019).

2.4 Plantas utilizadas en la medicina tradicional

Desde la antigüedad el hombre ha utilizado las plantas para tratar enfermedades comunes, algunas de las cuales aún se utilizan y son parte de la medicina tradicional (Arredondo et al., 2017). México cuenta con alrededor de 22,000 especies de plantas vasculares, de las cuales el 50% son endémicas y más de 3000 de estas plantas se utilizan con fines medicinales (Castillo-Juárez et al., 2009), tal es el caso de *Artemisa ludoviciana* Nutt., *Lepidium virginicum* L. y *Brickellia veronicifolia* (Kunth) A. Gray.

2.5 Familia Asteraceae

A nivel mundial las plantas de la familia Asteraceae o Compositae, se encuentran ampliamente distribuidas. Se conoce como una familia cosmopolita, ya que alrededor de 24,000 especies que integran esta familia de plantas, se pueden desarrollar en diversos climas (Michel et al., 2020). Varias de las especies que pertenecen a esta familia se han utilizado en la medicina tradicional, dado que se ha demostrado tienen actividad antiinflamatoria, hipoglucemiante, antimicrobiana y capacidad antioxidante (Hernández-Pérez et al., 2022).

2.5.1 *Artemisa ludoviciana*

Artemisa ludoviciana (Asteraceae), es una planta aromática de sabor amargo, ampliamente conocida en la medicina tradicional mexicana (Rivero-Cruz et al., 2017), comúnmente se le conoce como estafiate (Delgadillo et al., 2017). La decocción de las partes aéreas se ha utilizado para el tratamiento de diarrea, disentería, parásitos, dolor abdominal, vómitos, dolor de estómago y como agente antiespasmódico (Estrada-Soto et al., 2012). El extracto alcohólico de las partes aéreas se aplica sobre la piel como cataplasmas para el dolor y la inflamación, mientras que la inhalación de plantas se usa para tratar enfermedades respiratorias como resfriados y bronquitis. Recientemente se describe su potencial como hipoglucemiante (Anaya-Eugenio et al., 2016; Palacios-espinoza et al., 2021). Algunos estudios han reportado actividades biológicas asociadas con *A. ludoviciana*, tales como actividad antiprotozoaria, antihelmíntica, antiespasmódica y antibacteriana (Estrada-Soto et al., 2012). Se han reportado diversos estudios fitoquímicos y farmacológicos, en los cuales se han identificado compuestos como terpenos (Borneol, alcanfor, cis-verbenol, limoneno) (Damián et al., 2010), lactonas sesquiterpénicas (Estafiatina y ludovicina) (Abad et al., 2012) y flavonoides (Eupatilina, jaceosidina, apigenina, luteolina) (Anaya-Eugenio et al., 2014; Liu y Mabry, 1982). De acuerdo a Ezeta-Miranda et al. (2016) *A. ludoviciana* ha sido evaluada para determinar su actividad fasciolicida (*Fasciola hepática*), en un estudio *in vitro* determinaron que, a partir de las 24 horas de exposición, los extractos metanólico y de acetato de etilo fueron efectivos al 100%, mientras que el extracto hexánico mostró eficacia del 71%, alcanzando el 100% a las 72 horas. Castillo-Juárez et al. (2009). Indicaron que el

extracto acuoso de *A. ludoviciana* presento actividad frente a la bacteria gram negativa *Helicobacter pylori*. Lopes-Lutz et al. (2008) reportaron que los aceites esenciales de *Artemisa* tuvieron actividad inhibitoria frente a las bacterias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, así como frente al hongo fitopatógeno *Aspergillus niger*. Los estudios fitoquímicos de *A. ludoviciana* indican el aislamiento de monoterpenos, lactonas sesquiterpénicas y flavonoides (Anaya-Eugenio et al., 2014; Bañuelos-Valenzuela et al., 2018; Palacios-espinoza et al., 2021; I. Rivero-Cruz, Anaya-Eugenio, Pérez-Vásquez, Laura Martínez, et al., 2017).

2.5.2 *Brickellia veronicifolia*

Brickellia veronicifolia (Asteraceae), es un arbusto conocido comúnmente como orégano de monte (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005), hierba dorada (Pérez G. et al., 2004) o pexto (Perez, 1996). Se ha utilizado en la medicina tradicional para tratar enfermedades gastrointestinales, dolor de estómago, cólicos, diabetes, dispepsia y gastritis (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005; Pérez G. et al., 2004; Quiñonez-Bastidas y Navarrete, 2021). De acuerdo a sus usos Pérez G. et al., (2004), determinaron la actividad antioxidante del compuesto centaureidina o 5,7,3 - trihidroxi-3,6,4 - trimetoxiflavona. Del análisis del aceite esencial de *B. veronicifolia* se identificaron compuestos con propiedades espasmolíticas (2,6 - dimetoxibenzoato de bencilo, 2 hidroxibencilo 2 metoxibenzoato, β -cariofileno, Biciclogermacreno) y propiedades antiinflamatorias (Camazuleno) (Rivero-Cruz et al., 2006). Como componentes principales de las hojas se han aislados flavonas (Artementina, brickelina, casticina, trimetoxiquercetagenina), flavonoles (Eupatin, eupatolin, patuletin, vernicaefolin y diterpenos labdanos (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005).

2.6 Familia Brassicaceae

Las plantas de la familia Brassicaceae están ampliamente distribuidas. Las plantas de esta familia se caracterizan por la presencia de metabolitos secundarios, principalmente los glucosinolatos y sus productos de descomposición, los isotiocianatos y los indoles, que además son los más estudiados (Ramirez et al., 2020).

2.6.1 *Lepidium virginicum*

Lepidium virginicum (Brassicaceae), es una planta herbácea silvestre, generalmente se maneja como maleza, presenta ciclos de vida anuales y bianuales, de acuerdo a la zona donde crece se le conoce como lentejilla, mastuerzo o panalillo. La decocción de raíz y hojas se usa ampliamente en la medicina tradicional para el tratamiento de infecciones gastrointestinales (Brucato et al., 2014), dolor abdominal, enfermedades renales y hepáticas (Calzada et al., 2003; Osuna et al., 2006), el extracto hidroalcohólico de la planta se utiliza como expectorante, diurético y antiinflamatorio (Pacheco-Hernández et al., 2021). Existen pocos estudios sobre las propiedades farmacológicas de esta planta (Cruz-Muñoz et al., 2022). Uno de los reportes describe el aislamiento de glucosinolato de bencilo como principal compuesto antiamebiano (Calzada et al., 2003), además de ser reconocido por sus propiedades antiinflamatorias (Cruz-Muñoz et al., 2022). Pacheco-Hernández et al. (2021) indicaron que el aceite esencial de *L. virginicum* contiene fenilacetronitrilo (>60%), linalol (>10%), limoneno (>7%) y α -terpineol (>5%), en estudios *in vivo* e *in situ* determinaron que el fenilacetronitrilo y el α -terpineol están involucrados en la actividad antifúngica del aceite esencial contra *Colletotrichum acutatum* en frutos de tomate de árbol (*Solanum betaceum*).

2.7 Metabolitos secundarios

El metabolismo secundario deriva biosintéticamente de compuestos formados en el metabolismo primario, por lo que es difícil establecer una clara división entre ambos compuestos. La biosíntesis de metabolitos secundarios depende de factores como las fases de desarrollo de la planta, así como periodos de estrés causados por la deficiencia de nutrientes, factores ambientales o por el ataque de microorganismos. Entre los metabolitos secundarios identificados en las especies vegetales se encuentran los terpenos o terpenoides, los compuestos fenólicos o fenoles, así como los compuestos nitrogenados o alcaloides (Azcón-Bieto y Talón, 2013; Lima Cunha et al., 2016). La clasificación de los metabolitos secundarios se establece a partir de la ruta biosintética requerida para su síntesis (Suárez-Medina y Coy-Barrera, 2016).

2.7.1 Terpenos

Los terpenos o isoprenoides se sintetizan a partir de la fusión de unidades de isopreno (C₅), y se clasifican de acuerdo al número de unidades de isopreno que los forman en monoterpenos (2 unidades), sesquiterpenos (3 unidades), diterpenos (4 unidades), triterpenos (6 unidades), tetraterpenos (8 unidades) y politerpenos (más de 8 unidades) (Azcón-Bieto y Talón, 2013; Gallegos-Flores et al., 2019). En la célula vegetal la biosíntesis de los terpenos, se da a partir de los isoprenos: Isopentenil difosfato (IpPP) o su isómero dimetilalil difosfato (DMAPP). Existen dos vías para su síntesis, una por la vía del acetato/mevalonato que lleva a cabo en el citoplasma y otra por la ruta del piruvato/gliceraldehido-3-P que se realiza en los plastos (Sepúlveda-Jiménez et al., 2003). Delgadillo Ruíz et al. (2017) menciona que el extracto hidroalcohólico de *Artemisa ludoviciana* tiene terpenoides como terpineno, linalol, timol y carvacrol, los cuales de acuerdo a Gallegos-Flores et al. (2019) tienen varios efectos antibacterianos, antifúngicos y antiparasitarios.

2.7.2 Fenoles

Entre la variedad de metabolitos secundarios que sintetizan las plantas se encuentra el grupo de los fenoles, los cuales de acuerdo a Azcón-Bieto y Talón (2013) tienen una estructura aromática y uno o varios grupos hidroxilo. Dichos compuestos derivan del fenol (Un anillo aromático con un grupo hidroxilo); sin embargo, la mayoría de los compuestos fenólicos son polifenoles, entre ellos los flavonoides. Las rutas principales de la síntesis de los flavonoides son la ruta de ácido siquímico y la ruta acetato malonato (Martín, 2018). El grupo de los compuestos fenólicos es muy diverso, comprende moléculas sencillas como los ácidos fenólicos, los cuales de acuerdo a su estructura, se dividen en ácidos hidroxibenzóicos y ácidos hidroxicinámicos. Dentro de los ácidos hidroxibenzóicos más comunes se encuentran el ácido gálico, ácido *p*-hidroxibenzóico, ácido protocatecuico, vainilla y ácido siríngico. Los ácidos hidroxicinámicos más comunes son el cafeico, ferúlico, *p*-cumárico y sináptico (Suárez-Medina y Coy-Barrera, 2016). Entre los polifenoles se encuentran los flavonoides que representan uno de los grupos fenólicos más abundante en el reino vegetal (Yonekura-Sakakibara et al., 2019). Los flavonoides derivan estructuralmente del compuesto básico flavona (Azcón-Bieto y Talón, 2013), tienen una estructura característica C₆-C₃-C₆. (de

Nogueira et al., 2021), la cual está compuesta por dos anillos fenilo (A y B) ligados por un anillo pirano heterocíclico (C). Por su estructura se pueden clasificar en: Flavanos (Catequina), flavonoles (Quercetina), flavonas (Diosmetina), antocianidinas, entre otros (Martínez-Flórez et al., 2002). Los compuestos fenólicos son compuestos de gran interés por sus propiedades redox, dado que pueden actuar como agentes antioxidantes (Dobroslavić et al., 2021).

2.8 Extracción de metabolitos secundarios

Para Medina-Torres et al. (2017), la extracción de compuestos bioactivos es un proceso de separación, que se emplea para la recuperación y purificación de compuestos vegetales. De acuerdo con Acosta Esquijarosa et al. (2016) las técnicas de extracción tradicionales como la maceración, la extracción por soxhlet, así como la extracción por reflujo, requieren el uso de una gran cantidad de solventes, tiempos de extracción muy largos y en algunos casos la pérdida de compuestos químicos por degradación térmica. Por lo que sugiere el uso de técnicas ecológicas como la extracción asistida por ultrasonido.

2.9 Extracción asistida por baño ultrasónico

La obtención de los compuestos bioactivos o metabolitos secundarios se ve afectada por diversos factores que pueden derivarse del método de extracción. Por lo que se ha puesto atención en el uso de técnicas como la extracción asistida por ultrasonido, ya que el uso de baño ultrasónico aumenta la bioactividad de los extractos, reduce el tiempo de extracción y el uso de solventes en comparación con las técnicas convencionales. El proceso de extracción se lleva a cabo cuando las burbujas de vapor o de gas se forman, crecen y colapsan, a una frecuencia de onda determinada

(Ramón y Gil-Garzón, 2021), lo que genera la ruptura de la pared celular del tejido vegetal y por lo tanto aumenta la transferencia del solvente al área interna de la matriz vegetal, provocando el incremento del rendimiento del material vegetal (Martínez-Ávila et al., 2021). Al utilizar la técnica de extracción asistida por ultrasonido se deben optimizar las variables

asociadas como frecuencia, potencia, temperatura, tipo de solvente y la relación líquido-sólido (Carrillo Lomelí et al., 2022; Kumar et al., 2021).

2.10 Literatura citada

- Abad, M. M. J., del Olmo, L. M. B., Ticona, L. A., & Benito, P. B. (2012). The Artemisia L. genus: A review of bioactive sesquiterpene lactones. In *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 37, pp. 43–65). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59514-0.00002-X>
- Acedo-Zegarra, V. J., Arana-Bardales, D. F., & Condo-Montano, A. E. (2020). Actividad antifúngica in vitro de diferentes concentraciones de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” contra *Fusarium oxysporum*. *Revista de Investigación de Agroproducción Sustentable*, 4(1), 35. <https://doi.org/10.25127/aps.20201.541>
- Acosta Esquijarosa, J., Salomón Izquierdo, S., Sevilla Fernández, I., & Nuevas Paz, L. (2016). Empleo del ultrasonido para la extracción de fracción apolar en hojas de *Mangifera indica* L. (árbol del mango). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(3), 14–20. <http://scielo.sld.cu>
- Ajayi-Oyetunde, O. O., & Bradley, C. A. (2018). Rhizoctonia solani: taxonomy, population biology and management of rhizoctonia seedling disease of soybean. *Plant Pathology*, 67(1), 3–17. <https://doi.org/10.1111/ppa.12733>
- Anaya-Eugenio, G. D., Rivero-Cruz, I., Bye, R., Linares, E., & Mata, R. (2016). Antinociceptive activity of the essential oil from *Artemisia ludoviciana*. *Journal of Ethnopharmacology*, 179, 403–411. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.01.008>
- Anaya-Eugenio, G. D., Rivero-Cruz, I., Rivera-Chávez, J., & Mata, R. (2014). Hypoglycemic properties of some preparations and compounds from *Artemisia ludoviciana* Nutt. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1), 416–425. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.05.051>
- Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(3), 325–348. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.019>

- Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Choi, K. C., Vincent Betsy, A. D., & Rajaselvam, J. (2022). Bioactive potential of Albizia lebeck extract against phytopathogens and protective properties on tomato plant against speck disease in greenhouse. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 117. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101750>
- Arredondo, V. R., Hernández Castillo Francisco D., Anguiano Cabello Julia C., Ochoa Fuentes Yissa M., Morales G. Gallegos, Jasso Cantú Diana, & Aguilar N. Cristóbal. (2017). Review of antibacterial activity of plant extracts and growth-promoting microorganism (GPM) against phytopathogenic bacterial tomato crop. *European Journal of Biotechnology and Genetic Engineering*, 4(1). www.idpublications.org
- Aydin, M. H. (2022). Rhizoctonia solani and its biological control. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 9(1), 118–135. <https://doi.org/10.19159/tutad.1004550>
- Azcón-Bieto, J., & Talón, M. (2013). *Fundamentos de Fisiología Vegetal* (S. L. McGraw-Hill-Interamericana de España, Ed.; 2da ed.). Universitat de Barcelona.
- Balestra, G. M., Heydari, A., Ceccarelli, D., Ovidi, E., & Quattrucci, A. (2009). Antibacterial effect of Allium sativum and Ficus carica extracts on tomato bacterial pathogens. *Crop Protection*, 28(10), 807–811. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.06.004>
- Bañuelos-Valenzuela, R., Delgadillo-Ruiz, L., Echavarría-Cháirez, F., Delgadillo-Ruiz, O., & Meza-López, C. (2018). Composición química y FTIR de extractos etanólicos de Larrea tridentata, Origanum vulgare, Artemisa ludoviciana y Ruta graveolens. *Agrociencia*, 52(3), 309–321.
- Boiteux, J., Monardez, C., Fernández, M. de los Á., Espino, M., Pizzuolo, P., & Silva, M. F. (2018). Larrea divaricata volatilome and antimicrobial activity against Monilinia fructicola. *Microchemical Journal*, 142, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.06.011>
- Brucato, M. G., Lindorf, H., Trujillo, I., & Oropeza, M. (2014). Morfoanatomía comparada de hojas de Lepidium virginicum L. (mastuerzo) brassicaceae en condiciones in vivo e in vitro. *Acta Botánica Venezuelica*, 37(1), 31–42.
- Calzada, F., Barbosa, E., & Cedillo-Rivera, R. (2003). Antiamoebic activity of benzyl glucosinolate from Lepidium virginicum. *Phytotherapy Research*, 17(6), 618–619. <https://doi.org/10.1002/ptr.1210>

- Carreño-Meléndez, F., Vásquez-González, A. Y., & Vásquez González, G. (2019). Problemas sociales y ambientales por uso de agroquímicos en Tenancingo, México. *Tlatemoani*, 31.
- Carrillo Lomelí, D. A., Jasso de Rodríguez, D., Moo Huchin, V. M., Ramón Canul, L., Rodríguez García, R., González Morales, S., Villarreal Quintanilla, J. A., & Peña Ramos, F. M. (2022). How does *Flourensia microphylla* extract affect polyphenolic composition, antioxidant capacity, and antifungal activity? *Industrial Crops and Products*, 186, 115248. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115248>
- Casals, C., Segarra, J., de Cal, A., Lamarca, N., & Usall, J. (2014). Overwintering of *Monilinia* spp. on mummified stone fruit. *Journal of Phytopathology*, 163(3), 160–167. <https://doi.org/10.1111/jph.12298>
- Castillo-Juárez, I., González, V., Jaime-Aguilar, H., Martínez, G., Linares, E., Bye, R., & Romero, I. (2009). Anti-*Helicobacter pylori* activity of plants used in Mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, 122(2), 402–405. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.12.021>
- Cerna-Vargas, J. P., Santamaría-Hernando, S., Matill, M. A., Rodríguez-Herva, J. J., Daddaou, A., Rodríguez-Palenzuela, P., Krell, T., & López-Solanilla, E. (2019). Chemoperception of specific amino acids controls phytopathogenicity in *Pseudomonas syringae* pv. tomato. *MBio*, 10(5). <https://doi.org/10.1128/mBio.01868-19>
- Cruz-Muñoz, J. R., Barrios-García, T., Valdez-Morales, E. E., Durán-Vazquez, M. F., Méndez-Rodríguez, K. B., Barajas-Espinosa, A., Ochoa-Cortes, F., Martínez-Saldaña, M. C., Gómez-Aguirre, Y. A., & Alba, R. G. (2022). Ethanolic extract from *Lepidium virginicum* L. ameliorates DNBS-induced colitis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 289, 115056. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2022.115056>
- Damián, B. L. M., Martínez Muñoz, R. E., Salgado Garciglia, R., & Martínez Pacheco, M. M. (2010). In vitro antioomycete activity of *Artemisia ludoviciana* extracts against *Phytophthora* spp. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 9(2), 136–142. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85612475009>
- De Miccolis, A. R. M., Raguseo, C., Rotolo, C., Gerin, D., Faretra, F., & Pollastro, S. (2022). The Mycovirome in a Worldwide Collection of the Brown Rot Fungus *Monilinia fructicola*. *Journal of Fungi*, 8(5), 481. <https://doi.org/10.3390/jof8050481>

- De Nogueira, R. V. B., Freitas Rodrigues, V., Menezes de Faria Pereira, S., & Barcellos de Andrade, I. (2021). Flores de hibisco (*hibiscus sabdariffa*) comercializadas no município de Campos dos Goytacazes-RJ: Uma análise do perfil fitoquímico e do uso popular, considerando atividades atribuídas às respectivas classes de metabólidos secundários encontradas. *Revista Científica Da Faculdade de Medicina de Campos*, *16*(1), 12–18. <https://doi.org/10.29184/1980-7813.rcfmc.253.vol.16.n1.2021>
- Delgadillo, R. L., Bañuelos, V. R., Delgadillo, R. O., Silva, V. M., & Gallegos, F. P. (2017). Composición química y efecto antibacteriano in vitro de extractos de *larrea tridentata*, *origanum vulgare*, *artemisa ludoviciana* y *ruta graveolens*. *Nova Scientia*, *9*(19), 273–290.
- Dobrosłavić, E., Garofulić, I. E., Zorić, Z., Pedisić, S., & Dragović-Uzelac, V. (2021). Polyphenolic characterization and antioxidant capacity of *Laurus nobilis* L. leaf extracts obtained by green and conventional extraction techniques. *Processes*, *9*(10), 1840. <https://doi.org/10.3390/pr9101840>
- El-Esawi, M. A., El-Ballat, E. M., & Elsayed, A. (2022). Exogenous application of neem extract enhances the control of bacterial spot of tomato grown in soilless culture system through modulating gas exchange attributes, osmolytes, antioxidant machinery and genes expression. *The Egyptian Journal of Experimental Biology*, *18*(1), 85–93. <https://doi.org/10.5455/egyjebb.20220327060847>
- Estrada-Soto, S., Sánchez-Recillas, A., Navarrete-Vázquez, G., Castillo-España, P., Villalobos-Molina, R., & Ibarra-Barajas, M. (2012). Relaxant effects of *Artemisia ludoviciana* on isolated rat smooth muscle tissues. *Journal of Ethnopharmacology*, *139*(2), 513–518. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.11.041>
- Ezeta-Miranda, A., Vera-Montenegro, Y., Ávila-Acevedo, G., Manuel Álvarez-Mercado, J., & Francisco-Márquez, G. (2016). In vitro fascioliscide activity of the raw extract of estafiate (*Artemisia ludoviciana* nutt. spp mexicana). *Mexican Journal of Biotechnology*, *2016*(1), 177–183. www.mexjbiotechnol.com
- Félix-Gastélum, R., Maldonado-Mendoza, I. E., Espinoza-Mancillas, M. G., Leyva-López, N. E., Martínez-Valenzuela, C., Martínez-Álvarez, J. C., & Herrera-Rodríguez, G. (2012). Halo-spot and external stem necrosis of tomato caused by *Pseudomonas*

- syringae in Sinaloa, Mexico. *Phytoparasitica*, 40(4), 403–412. <https://doi.org/10.1007/s12600-012-0242-4>
- Fischer, J. M. M., Savi, D. C., Aluizio, R., May De Mio, L. L., & Glienke, C. (2017). Characterization of Monilinia species associated with brown rot in stone fruit in Brazil. *Plant Pathology*, 66(3), 423–436. <https://doi.org/10.1111/ppa.12578>
- Gallegos-Flores, P. I., Bañuelos-Valenzuela, R., Delgadillo-Ruiz, L., Meza-López, C., & Echavarría-Cháirez, F. (2019). Actividad antibacteriana de cinco compuestos terpenoides: Carvacrol, limoneno, linalool, α -terpineno y timol. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 22, 241–248.
- Gartemann, K.-H., Kirchner, O., Engemann, J., Gräfen, I., Eichenlaub, R., & Burger, A. (2003). Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis: first steps in the understanding of virulence of a Gram-positive phytopathogenic bacterium. *Journal of Biotechnology*, 106(2), 179–191. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2003.07.011>
- Hernández-Pérez, A., Campos-Montiel, R. G., López-Palestina, C. U., Juárez-Maldonado, A., & Hernández-Fuentes, A. D. (2022). Plantas medicinales de la familia Asteraceae con actividad hipoglucemiante en México. Una revisión. *Boletín de Ciencias Agropecuarias Del ICAP*, 8(16), 14–17. <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/icap/issue/archive>
- Hernández-Soto, I., Prieto-Méndez, J., Madariaga-Navarrete, A., Campos-Montiel, R. G., Jiménez-Alvarado, R., & Hernández-Fuentes, A. D. (2020). Actividad biológica in vitro del extracto acuoso de Argemone mexicana L. en un hongo fitopatógeno: Sclerotinia sclerotiorum. *Boletín de Ciencias Agropecuarias Del ICAP*, 6(12), 12–14. <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/icap/issue/archive>
- Joshi, R. (2018). A review of Fusarium oxysporum on its plant interaction and industrial use. ~ 112 ~ *Journal of Medicinal Plants Studies*, 6(3), 112–115.
- Kolomiets, Y. v., Grygoryuk, I. P., Butsenko, L. M., & Kalinichenko, A. v. (2019). Biotechnological control methods against phytopathogenic bacteria in tomatoes. *Appl. Ecol. Environ. Res.*, 17(2), 3215–3230. <https://doi.org/10.15666/aeer>
- Krishnan, N., Velramar, B., & Velu, R. K. (2019). Investigation of antifungal activity of surfactin against mycotoxigenic phytopathogenic fungus Fusarium moniliforme and its

- impact in seed germination and mycotoxicosis. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 155, 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.01.010>
- Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. In *Ultrasonics Sonochemistry* (Vol. 70, p. 105325). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325>
- Lima, C. A., Silva Moura, K., Cleudson Barbosa, J., & Feitosa Dos Santos, A. (2016). Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. *Diversitas Journal*, 1(2), 175–181. <https://doi.org/10.17648/diversitas-journal-v1i2.332>
- Liu, Y. L., & Mabry, T. J. (1982). Flavonoids from *Artemisia ludoviciana* var. *ludoviciana*. *Phytochemistry*, 21(1), 209–214. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(82\)80045-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(82)80045-9)
- Lopes-Lutz, D., Alviano, D. S., Alviano, C. S., & Kolodziejczyk, P. P. (2008). Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, 69(8), 1732–1738. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.02.014>
- Ma, Y., Huang, L., Abuduaini, A., Zhou, H., Wang, Y., & Suo, F. (2019). Complete mitochondrial genome of plant pathogen *Monilinia fructicola* (Sclerotiniaceae, Helotiales). *Mitochondrial DNA Part B*, 4(1), 791–792. <https://doi.org/10.1080/23802359.2019.1567282>
- Martín, G. D. A. (2018). Los compuestos fenólicos, un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 9(1), 81–104. <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>
- Martínez-Ávila, G. C. G., Aguilar-Zarate, P., & Rojas, R. (2021). Currently applied extraction processes for secondary metabolites from *lippia turbinata* and *turnera diffusa* and future perspectives. In *Separations* (Vol. 8, Issue 9, p. 158). MDPI. <https://doi.org/10.3390/separations8090158>
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17(6), 271–278.
- Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic

- Compounds from Vegetable Sources. *Agronomy*, 7(3).
<https://doi.org/10.3390/agronomy7030047>
- Michel, J., Abd Rani, N. Z., & Husain, K. (2020). A Review on the Potential Use of Medicinal Plants From Asteraceae and Lamiaceae Plant Family in Cardiovascular Diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00852>
- Miguel, A., García, A., Amat, Z., & Pérez, I. (2000). Detección en semillas de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, agente causal del cáncer bacteriano del tomate. *Fitosanidad*, 4(1–2), 9–13.
- Ordóñez-Valencia, C., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., Hernández-Cuevas, L. v., & Larsen, J. (2018). Desarrollo morfológico temprano de esclerocios por *Sclerotinia sclerotiorum* en presencia de bicarbonato de potasio. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(3), 363–378. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1803-4>
- Osuna, L., Tapia-Pérez, M. E., Figueroa, O., Jiménez-Ferrer, E., Garduño-Ramírez, M. L., González-Garza, M. T., Carranza-Rosales, P., & Cruz-Vega, D. E. (2006). Micropropagation of *Lepidium virginicum* (Brassicaceae), a plant with antiprotozoal activity. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 42(6), 596–600. <https://doi.org/10.1079/IVP2006826>
- Pacheco-Hernández, Y., Santamaría-Juárez, J. D., Hernández-Silva, N., Cruz-Durán, R., Mosso-González, C., & Villa-Ruano, N. (2021). Essential Oil of *Lepidium virginicum*: Protective Activity on Anthracnose Disease and Preservation Effect on the Nutraceutical Content of Tamarillo Fruit (*Solanum betaceum*). *Chemistry and Biodiversity*, 18(3). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000941>
- Palacios-espinoza, J. F., Núñez-aragón, P. N., Gomez-chang, E., Linares, E., Bye, R., & Romero, I. (2021). Anti-helicobacter pylori activity of artemisia ludoviciana subsp. Mexicana and two of its bioactive components, estafiatin and eupatilin. *Molecules*, 26(12). <https://doi.org/10.3390/molecules26123654>
- Pérez G., R. M., Vargas S., R., Martinez M., F. J., & Cordova R., I. (2004). Antioxidant and free radical scavenging activities of 5,7,3'- trihydroxy-3,6,4'-trimethoxyflavone from *Brickellia veronicaefolia*. *Phytotherapy Research*, 18(5), 428–430. <https://doi.org/10.1002/ptr.1445>

- Perez, R. M. (1996). Effect of Aqueous Extract of *Brickellia veronicaefolia* on the Gastrointestinal Tract of Guinea-pig, Rats and Mice. *Phytotherapy Research*, *10*, 677–679.
- Pérez-Pérez, J. U., Guerra-Ramírez, D., Reyes-Trejo, B., Cuevas-Sánchez, J. A., & Guerra-Ramírez, P. (2020). Actividad antimicrobiana in vitro de extractos de *Jatropha dioica* seseé contra bacterias fitopatógenas de tomate. *Polibotánica*, *0*(49). <https://doi.org/10.18387/polibotanica.49.8>
- Polanco, R. A. G., Magaña Castro, T. V., Iuit Cetz, J., & Quintal López, R. (2019). Uso de agroquímicos cancerígenos en la región agrícola de Yucatán, México. *Centro Agrícola*, *46*(2), 72–83. <http://cagricola.uclv.edu.cu>
- Prabhukarthikeyan, S. R., Parameswaran, C., Sawant, S. B., Naveenkumar, R., Mahanty, A., Keerthana, U., Yadav, M. K., Anandan, A., Panneerselvam, P., Bag, M. K., & Rath, P. C. (2022). Comparative proteomic analysis of *Rhizoctonia solani* isolates identifies the differentially expressed proteins with roles in virulence. *Journal of Fungi*, *8*(4), 370. <https://doi.org/10.3390/jof8040370>
- Quiñonez-Bastidas, G. N., & Navarrete, A. (2021). Mexican Plants and Derivates Compounds as Alternative for Inflammatory and Neuropathic Pain Treatment—A Review. *Plants*, *10*(5). <https://doi.org/10.3390/plants10050865>
- Ramirez, D., Abellán-Victorio, A., Beretta, V., Camargo, A., & Moreno, D. A. (2020). Functional Ingredients From Brassicaceae Species: Overview and Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(6). <https://doi.org/10.3390/ijms21061998>
- Ramón, C., & Gil-Garzón, M. A. (2021). Efecto de los parámetros de operación de la extracción asistida por ultrasonido en la obtención de polifenoles de uva: una revisión. *TecnoLógicas*, *24*(51), 263–277. <https://doi.org/10.22430/22565337.1822>
- Rivera-Sosa, L. M., Ramírez-Valverde, G., Martínez-Yáñez, B., Judith-Hernández, A., & Aranda-Ocampo, S. (2021). Response of tomato (*Solanum lycopersicum*) varieties to *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* infection. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, *40*(1). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2106-8>

- Rivero-Cruz, B., Rivero-Cruz, I., Rodríguez, J. M., Cerda-García-Rojas, C. M., & Mata, R. (2006). Qualitative and quantitative analysis of the active components of the essential oil from *Brickellia veronicaefolia* by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Natural Products*, 69(8), 1172–1176. <https://doi.org/10.1021/np060180b>
- Rivero-Cruz, I., Anaya-Eugenio, G., Pérez-Vásquez, A., Laura Martínez, A., & Mata, R. (2017). Quantitative Analysis and Pharmacological Effects of *Artemisia ludoviciana* Aqueous Extract and Compounds. *Natural Product Communications*, 12(10), 1531–1534.
- Rivero-Cruz, I., Anaya-Eugenio, G., Pérez-Vásquez, A., Martínez, A. L., & Mata, R. (2017). Quantitative Analysis and Pharmacological Effects of *Artemisia ludoviciana* Aqueous Extract and Compounds. *Natural Product Communications*, 12(10), 1531–1534.
- Rodríguez-Castro, A., Torres-Herrera, S., Domínguez-Calleros, A., Romero-García, A., & Silva-Flores, M. (2020). Extractos vegetales para el control de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*, una alternativa sostenible para la agricultura. *Abanico Agroforestal*, 2, 1–13. <https://doi.org/10.37114/abaagrof/2020.7>
- Ryan, R. P., Vorhölter, F. J., Potnis, N., Jones, J. B., van Sluys, M. A., Bogdanove, A. J., & Dow, J. M. (2011). Pathogenomics of *Xanthomonas*: Understanding bacterium-plant interactions. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 9, Issue 5, pp. 344–355). <https://doi.org/10.1038/nrmicro2558>
- Sepúlveda-Jiménez, G., Porta-Ducoing, H., & Rocha-Sosa, M. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3), 355–363. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221317>
- Suárez-Medina, K., & Coy-Barrera, E. (2016). Diversidad de los compuestos orgánicos bioactivos de origen natural: Una singularidad manifestada por la plasticidad en el metabolismo secundario. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 252–269. <https://doi.org/10.18359/rfcb.2031>
- Villota-Burbano, J. E., & Vazquez-Ochoa, O. Y. (2021). Evaluación in vitro del extracto etanólico de hojas de borraja (*Borago officinalis*) contra la actividad fungistática. *Agronomía Costarricense*, 45(2), 9–27. www.mag.go.cr/revagr/index.htmlwww.cia.ucr.ac.cr

- Wang, Z., Ma, L. Y., Cao, J., Li, Y. L., Ding, L. N., Zhu, K. M., Yang, Y. H., & Tan, X. L. (2019). Recent Advances in Mechanisms of Plant Defense to *Sclerotinia sclerotiorum*. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01314>
- Xin, X. F., Kvitko, B., & He, S. Y. (2018). *Pseudomonas syringae*: What it takes to be a pathogen. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 16, Issue 5, pp. 316–328). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.17>
- Yang, H., Zhang, W., Tian, P., Li, B., Wei, S., Zhang, S., Li, N., Lyu, Y., & Hu, Y. (2022). Insights into the mechanism of Sub3 inhibiting *Fusarium moniliforme* infection in maize. *Grain and Oil Science and Technology*, 5(1), 22–34. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2021.11.002>
- Yonekura-Sakakibara, K., Higashi, Y., & Nakabayashi, R. (2019). The Origin and Evolution of Plant Flavonoid Metabolism. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 10, Issue 943). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00943>
- Zuriegat, Q., Zheng, Y., Liu, H., Wang, Z., & Yun, Y. (2021). Current progress on pathogenicity-related transcription factors in *Fusarium oxysporum*. In *Molecular Plant Pathology* (Vol. 22, Issue 7, pp. 882–895). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/mpp.13068>

CAPITULO III

3 Actividad antibacteriana (*in vitro*) de los extractos hidroalcohólicos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia* sobre bacterias fitopatógenas

RESUMEN

A menudo los cultivos agrícolas se ven afectados por microorganismos fitopatógenos, por lo que tradicionalmente el uso de agroquímicos ha sido el método de control; sin embargo, el uso inadecuado ha generado microorganismos multirresistentes, daños a la salud humana y al medio ambiente. En búsqueda de alternativas sustentables, se ha elevado el interés por el uso de extractos vegetales, dado que diversos compuestos fitoquímicos tienen actividad antimicrobiana. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de plantas que se han utilizado en la medicina tradicional como *Artemisa ludoviciana* Nutt., *Lepidium virginicum* L. y *Brickellia veronicifolia* (Kunth) A. Gray. Los extractos hidroalcohólicos se obtuvieron por el método de extracción asistida por ultrasonido y su efecto antibacteriano fue evaluado en las cepas de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato* y *Xanthomonas campestris*. Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB). Los extractos hidroalcohólicos de *A. ludoviciana*, *L. virginicum* y *B. veronicifolia* inhibieron el crecimiento de bacterias gram positivas y gram negativas. *X. campestris* fue la bacteria más sensible al extracto hidroalcohólico de *B. veronicifolia*, mostrando una CMI de 0.39 mg mL⁻¹ y una CMB de 3.12 mg mL⁻¹, mientras que el extracto hidroalcohólico de *L. virginicum* presentó un efecto bactericida para la misma cepa.

Palabras clave: *Artemisa ludoviciana*, bacterias fitopatógenas, *Brickellia veronicifolia*, extracto hidroalcohólico, *Lepidium virginicum*.

ABSTRACT

Agricultural crops are often affected by phytopathogenic microorganisms, so traditionally the use of agrochemicals has been the control method; however, improper use has generated multiresistant microorganisms, harming human health and the environment. In search of sustainable alternatives, interest in the use of plant extracts has risen, since various phytochemical compounds have antimicrobial activity. The objective of this work was to evaluate the antibacterial activity of hydroalcoholic extracts from plants that have been used in traditional medicine such as *Artemisa ludoviciana* Nutt., *Lepidium virginicum* L. and *Brickellia veronicifolia* (Kunth) A. Gray. The hydroalcoholic extracts were obtained by the ultrasound assisted extraction method and their antibacterial effect was evaluated on *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato* and *Xanthomonas campestris*. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (CMB) were determined. The hydroalcoholic extracts of *A. ludoviciana*, *L. virginicum* and *B. veronicifolia* inhibited the growth of gram positive and gram negative bacteria. *X. campestris* was the most sensitive bacterium to the hydroalcoholic extract of *B. veronicifolia*, showing a MIC of 0.39 mg mL⁻¹ and a CMB of 3.12 mg mL⁻¹, while the hydroalcoholic extract of *L. virginicum* presented a bactericidal effect for the same strain.

Keywords: *Artemisa ludoviciana*, phytopathogenic bacteria, *Brickellia veronicifolia*, hydroalcoholic extract, *Lepidium virginicum*.

3.1 Introducción

A nivel mundial el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) tiene importancia agronómica y comercial, debido a su alto consumo y sus propiedades nutricionales (Salas et al., 2022); sin embargo, se ve afectado por enfermedades ocasionadas por bacterias fitopatógenas como *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* que causa cancro bacteriano, una de las enfermedades más destructivas de este cultivo, afecta los frutos, provocando manchas oscuras rodeadas de un halo blanco, similar a un ojo de pájaro (Orzali et al. 2020; Rivera-Sosa et al., 2021), *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* agente causal de la peca bacteriana que provoca la deformación de frutos y la caída de las flores que puede reducir la cosecha hasta en un 75% (Arasu et al., 2022; Pérez-Pérez et al., 2020) y *Xanthomonas campestris* que causa la mancha bacteriana, enfermedad que afecta hojas, tallos y fruto (El-Esawi et al., 2022). El control de *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *P. syringae* pv. *tomato* y *X. campestris* representa un desafío, ya que actualmente las opciones de control son el uso de cultivares resistentes y el empleo de productos químicos a base de cobre; sin embargo, estos productos han generado poblaciones resistentes, por lo que actualmente ha crecido el interés por métodos de control alternativos. Como antecedente sobre el estudio de extractos vegetales frente a bacterias fitopatógenas que afectan el cultivo de tomate, Balestra et al., (2009) reportaron que los extractos de *Allium sativum* (Amaryllidaceae) y *Ficus carica* (Moraceae) redujeron la incidencia de la enfermedad por *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *P. syringae* pv. *tomato* y *X. campestris* en un 58% y un 30 % y la gravedad de la enfermedad en un 68% y un 22 % respectivamente. También hicieron una comparación de la efectividad de los extractos contra un tratamiento estándar de cobre indicando que los extractos son efectivos en un 65% para *A. sativum* y 38% para *F. carica*

Tradicionalmente los métodos para el control de enfermedades ocasionadas por fitopatógenos han sido a través del uso de productos químicos. Sin embargo, el uso inadecuado e irracional de agroquímicos ha generado efectos secundarios como daños a la salud humana y al medio ambiente, además de microorganismos multirresistentes a dichos productos (Balestra et al., 2009b; Nicolopoulou-Stamati et al., 2016). En los últimos años se

ha impulsado la búsqueda de agentes antimicrobianos, como es el uso de plantas que se han utilizado en la medicina tradicional mexicana (Ramírez-Reyes et al., 2015). Plantas como *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*, pueden ser una alternativa al uso de antimicrobianos (Ali et al., 2017; Batiha et al., 2020) ya que sintetizan metabolitos secundarios que son agrupados en compuestos nitrogenados, fenólicos y terpenoides. Dichos compuestos actúan como mecanismos de defensa en las plantas, se han estudiado por sus propiedades repelentes, antivirales, antioxidantes y antimicrobianas. La aplicación de bioproductos puede incrementar la producción y calidad de los cultivos ya que son menos tóxicos y se degradan fácilmente (Hernández-Alvarado et al., 2018; Joaquín-Ramos et al., 2020; Orzali et al., 2020; Rodríguez et al., 2000).

3.2 Metodología

3.2.1 Colecta e identificación del material vegetal

Se colectaron las partes aéreas de las plantas *Artemisa ludoviciana* Nutt., en el municipio de Tulancingo, Hidalgo, México (20°03'45.9"N 22°51'3"O), *Lepidium virginicum* L. y *Brickellia veronicifolia* (Kunth) A. Gray, en el municipio de Tecámac, Estado de México (19°45'46"N 98°57'47"O). La identificación de las plantas se realizó en el herbario HGOM, ubicado en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH). Se verifico que las plantas son *Artemisa ludoviciana* (HGOM-3), *Lepidium virginicum* (HGOM-2) y *Brickellia veronicifolia* (HGOM-1) (Anexo 8.1).

3.2.2 Secado del material vegetal

El material vegetal fue secado a la sombra a temperatura ambiente para posteriormente ser pulverizado de forma mecánica con ayuda de un molino semiindustrial (Macoll, Herradura, Estado de México, México).

3.2.3 Obtención de extracto

Para la obtención de extractos se pesaron 250 g de muestra pulverizada y como disolvente se agregaron 2,500 mL de solución hidroalcohólica etanol: agua (70:30 v/v), la mezcla se colocó en un matraz erlenmeyer de 500 mL y se dejó reposar por 15 min, posteriormente se colocó en baño ultrasónico (Lab safety supply, 32V118A, China) durante 60 min en intervalos de 15 min, a una frecuencia de 40 kHz y se dejó en reposo durante 24 h. El sobrenadante se pasó a través de papel filtro (Whatman® 540) y fue concentrado en un rotavapor (Büchi, R-215, Flawil, Suiza) hasta obtener un extracto semisólido (Figura 1). El extracto hidroalcohólico obtenido se colocó en un vial de vidrio y fue almacenado a 4 °C hasta su evaluación.(Comlekcioglu y Kutlu, 2021).



Figura 1.- Obtención de extracto A) Partes áreas de *Brickellia veronicifolia*, B) Mezcla de la planta seca en polvo y solución hidroalcohólica, C) Proceso de extracción por baño ultrasónico, D) Concentración de extracto.

3.2.4 Evaluación (*in vitro*) de la actividad antibacteriana

3.2.4.1 Material biológico

Las cepas utilizadas fueron *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* y *Xanthomonas campestris*, pertenecientes a la colección del laboratorio de bacteriología del Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del estado de Hidalgo. Dichas cepas fueron previamente clasificadas como multirresistentes a antimicrobianos.

3.2.4.2 Reactivación de las cepas bacterianas

Las cepas bacterianas se reactivaron de la crioconservación en agar Mueller Hinton (BD Bioxon, Heidelberg, Germany) mediante la técnica de estría simple para obtener colonias aisladas, las placas se incubaron durante 24 h a 28 °C. Para corroborar la morfología y pureza de cada cepa bacteriana se realizó tinción de Gram. Una vez confirmada la pureza se inoculó una colonia de cada bacteria en caldo nutritivo (BD Bioxon, Heidelberg, Germany) con un periodo de incubación de 24 h a 28 °C (Morales-Ubaldo et al., 2021).

3.2.4.3 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Para determinar la CMI se utilizó el método de microdilución en placa de acuerdo a la descripción de Morales-Ubaldo et al. (2021). Los extractos hidroalcohólicos fueron diluidos en caldo nutritivo (BD Bioxon) y Dimetil Sulfoxido (DMSO 15%). Cada tratamiento se

evaluó por triplicado en placas de 96 pozos. Se agregaron 100 μL de cada uno de los extractos, las concentraciones evaluadas fueron de 400 a 0.09 mg mL^{-1} y 10 μL de la suspensión bacteriana previamente ajustada al 0.5 del patrón de turbidez de McFarland (Remel, R20421, Lenexa, KS, USA). Se utilizó Kanamicina (AppliChem 4K10421, Darmstadt, Alemania) como control positivo a concentraciones de 32 a 0.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, y como control negativo caldo nutritivo y DMSO (15%). Las placas se incubaron a 28 °C durante 24 h. Para la determinación de la CMI se utilizó el método colorimétrico con sales de tetrazolio. Transcurrido el tiempo de incubación a cada pocillo se agregaron 20 μL de una solución al 0.04% de p-iodonitrotetrazolium (Sigma-Aldrich I8377 St. Louis, EE. UU.) y se incubó por 30 min a 28 °C. Se determinó como CMI la concentración a la cual la solución se vira a rosa.

3.2.4.4 *Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)*

Después de la incubación y previo a la adición de p-iodonitrotetrazolium, se inocularon 5 μL de cada pocillo en agar Mueller Hinton (BD Bioxon, Heidelberg, Germany) y se incubó a 28° C durante 24 h. Transcurrido el tiempo de incubación se realizó la lectura para determinar la CMB y se consideró la concentración más baja a la que no se observó crecimiento visible de bacterias en placa (Morales-Ubaldo et al., 2021). Como CMB se consideró la concentración más baja del agente antimicrobiano que mata el 99.99% de la población inicial bacteriana (Olmedo-Juárez et al., 2019).

3.2.4.5 *Determinación del efecto bactericida o bacteriostático*

Para determinar si los tratamientos evaluados tenían efectos bactericidas o bacteriostáticos, se determinó la relación CMB/CMI. Se consideró efecto bacteriostático cuando la relación fue mayor a 4, y efecto bactericida cuando se obtuvieron valores menores o iguales a 4 (Rangel-López et al., 2022).

3.3 Análisis estadístico

Los datos obtenidos de CMI y CMB fueron normalizados (log 10) y analizados mediante un diseño completamente al azar utilizando un análisis de varianza (ANOVA). Las diferencias entre medias se evaluaron mediante un análisis estadístico de comparación de medias de Tukey a un nivel de significancia del 95% ($p \leq 0.05$). Se utilizó el software SAS (Statistical Analysis System) versión 9.4.

3.4 Resultados y discusión

3.4.1 Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Como se observa en la Tabla 1, los extractos hidroalcohólicos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*, presentaron efecto inhibitorio sobre el crecimiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas. El extracto hidroalcohólico de *B. veronicifolia* tuvo mayor y menor actividad sobre *X. campestris* y *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, respectivamente. Situación similar se presentó con el extracto de *A. ludoviciana*. Respecto al extracto de *L. virginicum* no presento diferencia estadística significativa entre *P. syringae* pv. *tomato* y *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*. En general los extractos hidroalcohólicos evaluados tuvieron un mayor efecto inhibitorio sobre *X. campestris*. Por el contrario, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* fue más resistente al extracto de *A. ludoviciana* debido a que es necesaria una mayor concentración del extracto para inhibir su crecimiento.

Tabla 1. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos hidroalcohólicos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*.

Tratamiento evaluado	Bacteria			Valor de <i>p</i>
	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	<i>Xanthomonas campestris</i>	
<i>Artemisa ludoviciana</i>	200 ^{aA}	100 ^{aB}	1.56 ^{bC}	0.0001
<i>Lepidium virginicum</i>	50 ^{bA}	50 ^{bA}	3.12 ^{aB}	0.0001
<i>Brickellia veronicifolia</i>	50 ^{bA}	25 ^{cB}	0.39 ^{cC}	0.0001
Kanamicina*	8	0.25	4	
Valor de <i>p</i>	0.0001	0.0001	0.0001	

*Los valores están expresados en $\mu\text{g mL}^{-1}$, ^{a,b,c} Las letras diferentes en las columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos. ^{A,B,C} Las letras diferentes en las filas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) entre bacterias.

Se encontró que *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* y *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* son menos susceptible al efecto del extracto hidroalcohólico de *A. ludoviciana* hasta cuatro veces menos en comparación con los extractos de *B. veronicifolia* y *L. virginicum* entre los cuales no se presentaron diferencias estadísticas significativas.

3.4.2 Concentración Mínima Bactericida (CMB)

En la Tabla 2 se muestra que los extractos hidroalcohólicos de *A. ludoviciana*, *L. virginicum* y *B. veronicifolia*, presentaron actividad bactericida sobre *X. campestris*, el mejor tratamiento fue con los extractos de *B. veronicifolia*, seguido de *A. ludoviciana* y *L. virginicum*, en los tres casos se observaron diferencias estadísticas significativas. Para las cepas de *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* y *P. syringae* pv. *tomato*, solo el extracto hidroalcohólico de *B. veronicifolia* tuvo efecto bactericida, la concentración reportada fue la más alta evaluada en este trabajo; no hubo diferencias estadísticas significativas entre estas dos cepas. Cabe mencionar que los extractos de *A. ludoviciana* y *L. virginicum* no presentaron actividad para *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* y *P. syringae* pv. *tomato*.

Tabla 2. Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extractos hidroalcohólicos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*.

Tratamiento evaluado	Bacterias			Valor de <i>p</i>
	<i>Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis</i>	<i>Pseudomonas syringae pv. tomato</i>	<i>Xanthomonas campestris</i>	
<i>Artemisa ludoviciana</i>	SA	SA	6.25 ^{ba}	0.0001
<i>Lepidium virginicum</i>	SA	SA	100 ^{aA}	0.0001
<i>Brickellia veronicifolia</i>	400 ^{aA}	400 ^{aA}	3.12 ^{cb}	0.0001
Kanamicina*	16	1	8	
Valor de <i>p</i>	0.0001	0.0001	0.0001	

SA, sin actividad *Los valores están expresados en $\mu\text{g mL}^{-1}$, ^{a,b,c} Las letras diferentes en las columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos. ^{A,B} Las letras diferentes en las filas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) entre bacterias.

Ahameethunisa y Hopper (2010), señalan que los extractos obtenidos de plantas que pertenecen al género *Artemisa*, como *Artemisia nilagirica*, presentan actividad antibacteriana frente a bacterias fitopatógenas. El extracto de cloroformo tuvo mejor actividad contra *Erwinia* sp. y *X. campestris* (CMI $32 \mu\text{g mL}^{-1}$), mientras que el extracto de éter dietílico mostro actividad frente a *P. syringae* y *C. michiganensis* (CMI $32 \mu\text{g mL}^{-1}$). El extracto de hexano tuvo actividad inhibitoria para *Erwinia* sp., *Xanthomonas campestris* y *Clavibacter michiganensis* (CMI menores a $32 \mu\text{g mL}^{-1}$). Respecto al tipo de solventes utilizado, y las concentraciones evaluadas no son comparables con nuestros resultados, pero nos permite conocer que las plantas del género *Artemisa* tienen actividad antimicrobiana debido a la presencia de metabolitos secundarios como terpenos (Damián et al., 2010), lactonas sesquiterpénicas (Abad et al., 2012) y flavonoides (Anaya-Eugenio et al., 2014; Liu y Mabry, 1982). Otros estudios sobre el extracto acuoso de *A. ludoviciana*, reportan que tuvo actividad frente a la bacteria Gram negativa *Helicobacter pylori* (CMI $250 \mu\text{g mL}^{-1}$), por separación cromatográfica obtuvieron los compuestos estafiatina y eupatilina (Flavona y lactona sesquiterpénicas), los cuales también presentaron actividad antibacteriana (CMI $15.6 \mu\text{g mL}^{-1}$ y $31.2 \mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente). Los grupos a los que pertenecen la eupatilina y la estafiatina tienen una amplia variedad de actividades biológicas y farmacológicas (Palacios-

espinosa et al., 2021b), lo que podría explicar la actividad antibacteriana de *A. ludoviciana* encontrada en este estudio.

Estudios previos reportaron que el extracto etanólico de *B. veronicifolia* y *L. virginicum*, presentan actividad antimicrobiana sobre bacterias causantes de mastitis bovina. Macías et al. (2020), evaluaron concentraciones de extracto de 15 mg mL⁻¹, utilizando el método de difusión en disco, siendo el extracto de *L. virginicum* el que presentó la mayor actividad contra el 86% de las bacterias probadas (*S. aureus*, *E. Coli*, *B. subtilis*, *Clavibacter* spp., *P. vulgaris* y *Salmonella* spp.). Por su parte Delgadillo et al. (2017), reportaron que el extracto hidroalcohólico (70%) de *A. ludoviciana* tuvo actividad sobre *Pseudomona* spp. con un 46.3% de inhibición de crecimiento. El método utilizado en este trabajo para determinar la actividad antimicrobiana es diferente al empleado en los estudios citados anteriormente; sin embargo, se confirma la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de *B. veronicifolia* y *L. virginicum* sobre bacterias Gram positivas y gram negativas, así como a bacterias multirresistentes como *E. coli* (Macías et al., 2020).

El extracto hidroalcohólico de *B. veronicifolia*, presenta mejor actividad antibacteriana que el extracto hexánico de *Jatropha dioica* sobre *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *P. syringae* pv. *tomato* y *X. campestris* reportados previamente por Pérez-Pérez et al. (2020). Por otro lado, Morales-Ubaldo et al. (2021) evaluaron la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Larrea tridentata*, sus resultados señalan que tuvo actividad contra bacterias Gram negativas y Gram positivas. La CMI para *Xanthomonas campestris* (0.39 mg/mL), fue similar a la reportada en nuestro estudio al probar el extracto hidroalcohólico de *B. veronicifolia*. De acuerdo a Suárez-Medina y Coy-Barrera (2016), los metabolitos secundarios como los sesquiterpenos se han identificado en especies que se clasifican dentro de la familia Asteraceae, esta clase de terpenoides tienen diversas actividades biológicas, entre ellas actividad antimicrobiana (Delgadillo et al., 2017), Rivero-Cruz et al. (2006) reportaron que el aceite esencial de *B. veronicifolia* contenía compuestos como benzoatos de bencilo y sesquiterpenos. Por lo anterior se podría atribuir que la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *B. veronicifolia* se debe a la presencia de terpenos.

Los trabajos previos en los que se ha probado el uso de extractos vegetales, sirven como antecedente para respaldar los resultados de este trabajo, ya que se conoce que las plantas que se ha utilizado en la medicina tradicional sintetizan metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.

3.5 Conclusión

Hasta el momento no se han encontrado reportes sobre la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de *A. ludoviciana*, *L. virginicum* y *B. veronicifolia* contra las bacterias fitopatógenas que afectan el cultivo de tomate como *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *P. syringae* pv. *tomato* y *X. campestris*. En este estudio se encontró que el extracto hidroalcohólico de *B. veronicifolia* tuvo actividad antibacteriana frente a bacterias gram positivas y gram negativas. *X. campestris* fue la bacteria más sensible al extracto hidroalcohólico de *B. veronicifolia*. Mientras que *L. virginicum* presentó un efecto bactericida para la misma cepa. Sin embargo, se recomienda realizar trabajo *in situ*.

3.6 Literatura citada

- Abad, M. M. J., del Olmo, L. M. B., Ticona, L. A., & Benito, P. B. (2012). The Artemisia L. genus: A review of bioactive sesquiterpene lactones. In *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 37, pp. 43–65). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59514-0.00002-X>
- Ahameethunisa, A. R., & Hopper, W. (2010). *Antibacterial activity of Artemisia nilagirica leaf extracts against clinical and phytopathogenic bacteria*. <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/10/6>
- Ali, H. K., Malik Jumaah, A., & Hassian, A. S. (2017). Studying Efficiency Inhibition of Some Medicinal Plant Extracts against Some Fungal. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(1), 108–115. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.601.014>
- Anaya-Eugenio, G. D., Rivero-Cruz, I., Rivera-Chávez, J., & Mata, R. (2014). Hypoglycemic properties of some preparations and compounds from Artemisia ludoviciana Nutt. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1), 416–425. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.05.051>
- Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Choi, K. C., Vincent Bensey, A. D., & Rajaselvam, J. (2022). Bioactive potential of Albizia lebeck extract against phytopathogens and protective properties on tomato plant against speck disease in greenhouse. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 117. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101750>
- Balestra, G. M., Heydari, A., Ceccarelli, D., Ovidi, E., & Quattrucci, A. (2009a). Antibacterial effect of Allium sativum and Ficus carica extracts on tomato bacterial pathogens. *Crop Protection*, 28(10), 807–811. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.06.004>
- Balestra, G. M., Heydari, A., Ceccarelli, D., Ovidi, E., & Quattrucci, A. (2009b). Antibacterial effect of Allium sativum and Ficus carica extracts on tomato bacterial pathogens. *Crop Protection*, 28(10), 807–811. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.06.004>
- Batiha, G. E.-S., Olatunde, A., El-mleeh, A., Hetta, H. F., Al-rejaie, S., Alghamdi, S., Zahoor, M., Beshbishy, A. M., Murata, T., Zaragoza-bastida, A., & Rivero-perez, N. (2020).

- Bioactive compounds, pharmacological actions, and pharmacokinetics of wormwood (*Artemisia absinthium*). In *Antibiotics* (Vol. 9, Issue 6, pp. 1–25). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9060353>
- Comlekcioglu, N., & Kutlu, M. (2021). Fatty acids, bioactive substances, antioxidant and antimicrobial activity of *Ankyropetalum* spp., a novel source of nervonic acid. *Grasas y Aceites*, 72(1). <https://doi.org/10.3989/GYA.0105201>
- Damián, B. L. M., Martínez Muñoz, R. E., Salgado Garciglia, R., & Martínez Pacheco, M. M. (2010). In vitro antioomycete activity of *Artemisia ludoviciana* extracts against *Phytophthora* spp. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 9(2), 136–142. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85612475009>
- Delgadillo, R. L., Bañuelos, V. R., Delgadillo, R. O., Silva, V. M., & Gallegos, F. P. (2017). Composición química y efecto antibacteriano in vitro de extractos de *larrea tridentata*, *origanum vulgare*, *artemisa ludoviciana* y *ruta graveolens*. *Nova Scientia*, 9(19), 273–290.
- El-Esawi, M. A., El-Ballat, E. M., & Elsayed, A. (2022). Exogenous application of neem extract enhances the control of bacterial spot of tomato grown in soilless culture system through modulating gas exchange attributes, osmolytes, antioxidant machinery and genes expression. *The Egyptian Journal of Experimental Biology*, 18(1), 85–93. <https://doi.org/10.5455/egyjebb.20220327060847>
- Hernández-Alvarado, J., Zaragoza-Bastida, A., López-Rodríguez, G., Peláez-Acero, A., Olmedo-Juárez, A., & Rivero-Perez, N. (2018). Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. *Abanico Veterinario*, 8(1), 14–27. <https://doi.org/10.21929/abavet2018.81.1>
- Joaquín-Ramos, A. de J., López-Palestina, C. U., Pinedo-Espinoza, J. M., Altamirano-Romo, S. E., Santiago-Saenz, Y. O., Aguirre-Mancilla, C. L., & Gutiérrez-Tlahque, J. (2020). Phenolic compounds, antioxidant properties and antifungal activity of jarilla (*Barkleyanthus salicifolius* [Kunth] H. Rob & Brettell). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 80(3), 352–360. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392020000300352>
- Liu, Y. L., & Mabry, T. J. (1982). Flavonoids from *Artemisia ludoviciana* var. *ludoviciana*. *Phytochemistry*, 21(1), 209–214. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(82\)80045-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(82)80045-9)

- Macías, A. M., López Salazar, J. C., Osegueda Robles, S., Córdova Guerrero, I., Ledezma García, F., & Marrero, J. G. (2020). In vitro antimicrobial activity of mexican plants on bovine mastitis bacteria: Preliminary studies. *Bioscience Journal*, 36(1), 183–190. <https://doi.org/10.14393/BJ-v36n1a2020-42137>
- Morales-Ubaldo, A. L., Rivero-Perez, N., Avila-Ramos, F., Aquino-Torres, E., Prieto-Méndez, J., Hetta, H. F., El-Saber Batiha Gaber, & Zaragoza Bastida, A. (2021). Bactericidal activity of *Larrea tridentata* hydroalcoholic extract against phytopathogenic bacteria. *Agronomy*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/agronomy11050957>
- Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P., & Hens, L. (2016). Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture. In *Frontiers in Public Health* (Vol. 4). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2016.00148>
- Olmedo-Juárez, A., Briones-Robles, T. I., Zaragoza-Bastida, A., Zamilpa, A., Ojeda-Ramírez, D., Mendoza de Gives, P., Olivares-Pérez, J., & Rivero-Perez, N. (2019). Antibacterial activity of compounds isolated from *Caesalpinia coriaria* (Jacq) Willd against important bacteria in public health. *Microbial Pathogenesis*, 136. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103660>
- Orzali, L., Valente, M. T., Scala, V., Loreti, S., & Pucci, N. (2020). Antibacterial activity of essential oils and *trametes versicolor* extract against *clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and *ralstonia solanacearum* for seed treatment and development of a rapid in vivo assay. *Antibiotics*, 9(9), 1–15. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9090628>
- Palacios-Espinosa, J. F., Núñez-Aragón, P. N., Gomez-Chang, E., Linares, E., Bye, R., & Romero, I. (2021). Anti-helicobacter pylori activity of *artemisia ludoviciana* subsp. *Mexicana* and two of its bioactive components, estafiatin and eupatilin. *Molecules*, 26(12). <https://doi.org/10.3390/molecules26123654>
- Pérez-Pérez, J. U., Guerra-Ramírez, D., Reyes-Trejo, B., Cuevas-Sánchez, J. A., & Guerra-Ramírez, P. (2020). Actividad antimicrobiana in vitro de extractos de *Jatropha dioica* seseé contra bacterias fitopatógenas de tomate. *Polibotánica*, 0(49). <https://doi.org/10.18387/polibotanica.49.8>

- Ramírez-Reyes, T., Flores-Estévez, N., Luna-Rodríguez, M., Noa-Carrazana, J. C., Sánchez-Velásquez, L. R., & Trigos-Landa, Á. (2015). Crude extracts of *Magnolia schiedeana* Schlttdl. for the control of phytopathogenic bacteria. *Madera y Bosques*, *21*(2), 159–164.
- Rangel-López, L., Rivero-Perez, N., Valladares-Carranza, B., Olmedo-Juárez, A., Delgadillo-Ruiz, L., Vega-Sánchez, V., Hori-Oshima, S., Nassan, M. A., El-Saber Batiha, G., & Zaragoza-Bastida, A. (2022). Antibacterial Potential of *Caesalpinia coriaria* (Jacq)Willd Fruit against *Aeromonas* spp. of Aquaculture Importance. *Animals*, *12*(4). <https://doi.org/10.3390/ani12040511>
- Rivera-Sosa, L. M., Ramírez-Valverde, G., Martínez-Yáñez, B., Judith-Hernández, A., & Aranda-Ocampo, S. (2021). Response of tomato (*Solanum lycopersicum*) varieties to *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* infection. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, *40*(1). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2106-8>
- Rivero-Cruz, B., Rivero-Cruz, I., Rodríguez, J. M., Cerda-García-Rojas, C. M., & Mata, R. (2006). Qualitative and quantitative analysis of the active components of the essential oil from *Brickellia veronicaefolia* by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Natural Products*, *69*(8), 1172–1176. <https://doi.org/10.1021/np060180b>
- Rodríguez, A. T., Morales, D., Ramírez, M. A., & Tania, A. (2000). Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos. *Cultivos Tropicales*, *21*(2), 79–82.
- Salas, G. A. L., Osorio Hernández, E., Espinosa Ahumada, C. A., Rodríguez Herrera, R., Segura Martínez, M. T. de J., Neri Ramírez, E., & Estrada Drouaillet, B. (2022). Principales enfermedades del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en condiciones de campo. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, *6*(1), 4190–4210. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v6i1.1793
- Suárez-Medina, K., & Coy-Barrera, E. (2016). Diversidad de los compuestos orgánicos bioactivos de origen natural: Una singularidad manifestada por la plasticidad en el metabolismo secundario. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, *12*(2), 252–269. <https://doi.org/10.18359/rfcb.2031>

CAPITULO IV

4 Actividad antifúngica (*in vitro*) de los extractos hidroalcohólicos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia* sobre hongos fitopatógenos.**RESUMEN**

El uso de agroquímicos se ha hecho necesario para el control de patógenos como *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Monilia fructicola*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*. Actualmente se busca disminuir la residualidad de los productos sintéticos que se utilizan en la agricultura, razón por la que cada día crece el interés por la búsqueda de productos amigables con el medio ambiente, tal es el caso de los extractos vegetales. El objetivo del presente trabajo fue determinar la actividad antifúngica de los extractos hidroalcohólicos de plantas que se han utilizado en la medicina tradicional como *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*. Para la obtención de los extractos hidroalcohólicos se utilizaron las partes aéreas de cada planta, el método fue por baño ultrasónico. Se evaluaron tres concentraciones 25, 50 y 100 mg/mL, por el método de dilución del extracto en agar, las cepas evaluadas fueron *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *M. fructicola*, *R. solani* y *S. sclerotiorum*. El crecimiento del micelio fue medido a las 24, 48, 72, 96 y 168 h de incubación. Los resultados obtenidos se expresaron como porcentaje de inhibición del crecimiento micelial. El extracto de *B. veronicifolia*, presentó el porcentaje mayor de inhibición frente a la cepa de *M. fructicola* (60.04 ± 0.10) a la concentración de 100 mg/mL y a las 168 h de incubación. Mientras que para el extracto de *A. ludoviciana*, *R. solani* presentó la mayor inhibición a las 24 h de incubación y a la concentración de 50 mg/mL (22.92 ± 0.87), la cepa de *F. moniliforme* tuvo un porcentaje similar al de *R. solani* al mismo tiempo de incubación, pero a la concentración de 100 mg/mL (22.25 ± 4.48). En el caso de la evaluación antifúngica del extracto hidroalcohólico del *L. virginicum* a partir de las 24 h de incubación el crecimiento micelial para *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *M. fructicola* y *R. solani* fue mayor respecto al control (PDA), por lo que los porcentajes de inhibición fueron negativos.

Palabras clave: Extracto hidroalcohólico, actividad antifúngica, fitopatógenos

ABSTRACT

The use of agrochemicals has become necessary to control pathogens such as *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Monilia fructicola*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum*. Currently, the aim is to reduce the residuality of synthetic products used in agriculture, which is why interest in the search for environmentally friendly products grows every day, such is the case of plant extracts. The objective of this work was to determine the antifungal activity of the hydroalcoholic extracts of plants that have been used in traditional medicine such as *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* and *Brickellia veronicifolia*. To obtain the hydroalcoholic extracts, the aerial parts of each plant were used, the method was by ultrasonic bath. Three concentrations 25, 50 and 100 mg/mL were evaluated, by the method of extract dilution in agar, the strains evaluated were *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *M. fructicola*, *R. solani* and *S. sclerotiorum*. The growth of the mycelium was measured at 24, 48, 72, 96 and 168 h of incubation. The results obtained were expressed as percentage inhibition of mycelial growth. The extract of *B. veronicifolia*, presented the highest percentage of inhibition against the strain of *M. fructicola* (60.04 ± 0.10) at the concentration of 100 mg/mL and at 168 hours of incubation. While for the extract of *A. ludoviciana*, *R. solani* presented the highest inhibition at 24 hours of incubation and at a concentration of 50 mg/mL (22.92 ± 0.87), the *F. moniliforme* strain had a percentage similar to that of *R. solani* at the same incubation time, but at a concentration of 100 mg/mL (22.25 ± 4.48). In the case of the antifungal evaluation of the hydroalcoholic extract of *L. virginicum* after 24 hours of incubation, mycelial growth for *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *M. fructicola* and *R. solani* was greater compared to the control (PDA). so the inhibition percentages were negative.

Keywords: Hydroalcoholic extract, antifungal activity, phytopathogens.

4.1 Introducción

A nivel mundial, una amplia variedad de cultivos agrícolas se ven afectados por enfermedades causadas por hongos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum*; un patógeno que se transmite a través del suelo y se reproduce a través de esporas, que pueden permanecer latentes durante largos periodos de tiempo lo que dificulta su control. Una vez que *F. oxysporum* ingresa a la planta a través de la raíz, su colonización en el sistema vascular altera los vasos del xilema que conducen el agua, lo que provoca síntomas de marchitez, retraso en el crecimiento, clorosis en las hojas, los tejidos vasculares afectados se vuelven de color marrón o negro y finalmente la muerte de la planta. (Joshi, 2018; Zuriegat et al., 2021). Las cepas fitopatógenas de *F. oxysporum* se dividen en patotipos de acuerdo a su capacidad para infectar diferentes cultivos, como es el caso de las solanáceas (Tomates, papas, pimientos y berenjenas), la palma de aceite, las leguminosas, las fresas, la lechuga, la caña de azúcar, la sandía y el plátano. (Zuriegat et al., 2021). Dentro del género *Fusarium*, se encuentra *F. moniliforme* un hongo filamentoso ampliamente distribuido en el suelo, que afecta principalmente el cultivo de trigo y maíz, causando pérdidas irreversibles en el rendimiento y la calidad de los granos (Yang et al., 2022). Frecuentemente este fitopatógeno causa podredumbre en tallo y semillas de maíz, ocasionando daños en las etapas precosecha y poscosecha; además de disminuir el rendimiento y la calidad de la producción agrícola, ya que la presencia de micotoxinas inhibe la viabilidad de las semillas, la germinación, así como el vigor de las plántulas (Krishnan et al., 2019). Los hongos del género *Monilinia* se encuentran en todo el mundo, siendo *Monilinia fructicola*, el que prevalece sobre *Monilinia laxa* y *Monilinia fructigena*. *M. fructicola* se encuentra entre los patógenos más destructivos de los cultivos de fruta de hueso (Fischer et al., 2017); induce la enfermedad conocida como podredumbre parda, provocando el tizón de flores y ramas, así como la descomposición de la fruta. Este patógeno afecta tanto en precosecha como en poscosecha. Cuando las condiciones para su desarrollo son favorables, las pérdidas poscosecha pueden ser del 80 al 90% (Boiteux et al., 2018; Casals et al., 2014; de Miccolis et al., 2022; Ma et al., 2019). Entre los patógenos que se transmiten a través del suelo y semillas infectadas esta *Rhizoctonia solani* el cual se puede transportar fácilmente a través de algunos órganos de la planta, como los tubérculos. Es un patógeno difícil de controlar ya que infecta a un gran número de cultivos

como la cebada, la pimienta, el trigo, los tomates, las alubias, las zanahorias, el clavo, la coliflor, los garbanzos, las papas, la remolacha azucarera, la soja, el tabaco, el arroz, etc. (Ajayi-Oyetunde y Bradley, 2018). *R. solani* puede sobrevivir por largos periodos de tiempo como micelio en la materia orgánica y como esclerocios en el suelo. Los síntomas en los diversos huéspedes son pudrición de semillas, raíces, tallos y frutos, cáncer de tallos y coronas, tizón de las hojas y de la vaina, enanismo en varios órganos de las plantas y daño en las plántulas de varias especies de plantas (Aydin, 2022). En condiciones favorables este fitopatógeno puede afectar hasta en un 50% el rendimiento de los cultivos (Prabhukarthikeyan et al., 2022). Otro fitopatógeno de importancia agronómica es *Sclerotinia sclerotiorum*, este hongo causa la enfermedad conocida comúnmente como pudrición del tallo o moho blanco (Wang et al., 2019).infecta a diversos cultivos de importancia económica como el girasol, la soja, la colza, el frijol, las lentejas, el garbanzo, la canola, el tulipán y la cebolla. Este patógeno se caracteriza por la formación de esclerocios, que son estructuras fúngicas de resistencia y propagación, las cuales se pueden mantener viables en el suelo durante varios años (Ordóñez-Valencia et al., 2018).

Tradicionalmente el uso de fungicidas químicos ha sido el método principal para el control de fitopatógenos (Mesa et al., 2019). Sin embargo, se sabe que el uso de productos químicos ha generado efectos secundarios como resistencia por parte de los microorganismos, problemas sobre la salud humana y el medio ambiente (Acedo-Zegarra et al., 2020). Además, los organismos reguladores exigen cumplir con estándares de calidad que minimicen la residualidad de los productos sintéticos empleados en la agricultura (Mesa et al., 2019; Samsidar et al., 2018; Tamilselvi y Arumugam, 2017).

Una alternativa sustentable para el control de plagas y enfermedades es el uso de extractos vegetales como potenciales biocontroles de patógenos (Badaracco et al., 2020; Rodríguez-Castro et al., 2020). Las plantas que se han utilizado en la medicina tradicional pueden ser una alternativa al uso de tratamientos antifúngicos, ya que pueden ser efectivos y amigables con el medio ambiente (Ali et al., 2017). En el presente trabajo se consideró la evaluación de los extractos hidroalcohólicos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*, ya que el uso de extractos vegetales obtenidos de plantas medicinales

representa una alternativa en la búsqueda de biofungicidas, dado que las plantas sintetizan metabolitos secundarios que pueden tener actividad antimicrobiana (Al Otibi et al., 2020).

4.2 Metodología

4.2.1 Colecta e identificación del material vegetal

Se colectaron las partes aéreas de las plantas *Artemisa ludoviciana* Nutt., en el municipio de Tulancingo, Hidalgo, México (20°03'45.9"N 22°51'3"O), *Lepidium virginicum* L. y *Brickellia veronicifolia* (Kunth) A. Gray, en el municipio de Tecámac, Estado de México (19°45'46"N 98°57'47"O). La identificación de las plantas se realizó en el herbario HGOM, ubicado en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH). Se verificó que las plantas son *Artemisa ludoviciana* (HGOM-3), *Lepidium virginicum* (HGOM-2) y *Brickellia veronicifolia* (HGOM-1) (Anexo 8.1).

4.2.2 Secado del material vegetal

El material vegetal fue secado a la sombra a temperatura ambiente para posteriormente ser pulverizado de forma mecánica con ayuda de un molino semiindustrial (Macoll, Herradura, Estado de México, México).

4.2.3 Obtención de extractos

Para la obtención de extractos se pesaron 250 g de muestra pulverizada y como disolvente se agregaron 2,500 mL de solución hidroalcohólica etanol: agua (70:30 v/v), la mezcla se colocó en un matraz erlenmeyer de 500 mL y se dejó reposar por 15 min, posteriormente se colocó en baño ultrasónico (Lab safety supply, 32V118A, China) durante 60 min en intervalos de 15 min, a una frecuencia de 40 kHz y se dejó en reposo durante 24 h. El sobrenadante se pasó a través de papel filtro (Whatman® 540) y fue concentrado en un rotavapor (Büchi, R-215, Flawil, Suiza) hasta obtener un extracto semisólido. El extracto hidroalcohólico obtenido se colocó en un vial de vidrio y fue almacenado a 4 °C hasta su evaluación.(Comlekcioglu y Kutlu, 2021).

4.2.4 Evaluación (*in vitro*) de la actividad antifúngica

4.2.4.1 Material biológico

Las cepas utilizadas fueron *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Monilinia fructicola*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*, las cuales son parte de la colección del área de fitopatología del Área Académica de agronomía del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del estado de Hidalgo.

4.2.4.2 Resiembra de cepas

Previo a la evaluación de la actividad antifúngica las cepas de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Monilinia fructicola*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*, fueron cultivadas en placas petri que contenían 20 mL de PDA (Papa Dextrosa Agar) (BD Bioxon, Heidelberg, Germany), se utilizaron 39 g de PDA por cada litro de agua destilada. Para la resiembra se tomó un explante de 5 mm y se colocó al centro de las cajas petri previamente identificadas (Figura 2). Se utilizó una campana de flujo laminar (Tequimec, México) para llevar a cabo la resiembra de las cepas. Una vez que las cajas fueron selladas se colocaron en una incubadora microbial (Binder, ED115, Alemania) a una temperatura de 27 ± 2 °C., por un periodo de siete días.

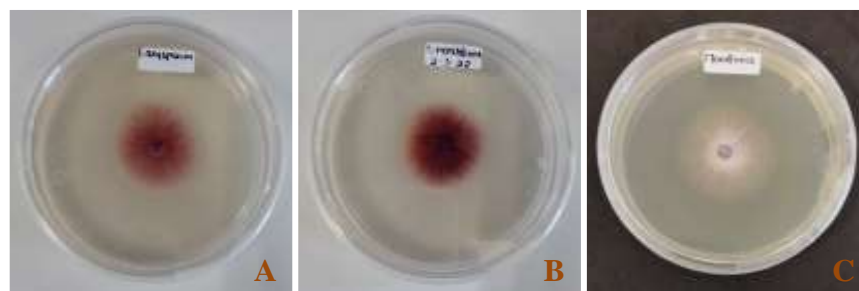


Figura 2. Cultivo de cepas en medio PDA A) *Fusarium oxysporum*, B) *Fusarium moniliforme*, C) *Monilinia fructicola*.

4.2.4.3 Evaluación fungicida por el método de dilución del extracto en agar

Para la evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia* se utilizó el método de dilución del extracto en agar (Boiteux et al., 2018). De cada una de las cepas cultivadas (*F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *M. fructicola*, *R. solani* y *S. sclerotiorum*) se tomó un explante de 5 mm, el cual fue colocado al centro de las cajas petri que contenían como medio de cultivo 25 mL de PDA (Papa Dextrosa Agar) previamente esterilizado en autoclave (Lorma, AV07, México) y extracto hidroalcohólico de *A. ludoviciana*, *L. virginicum* y *B. veronicifolia* a diferentes concentraciones (25, 50 y 100 mg/mL). Antes de realizar la mezcla de PDA y del extracto hidroalcohólico, cada uno de los extractos fue diluido en agua destilada estéril. Como control negativo se utilizaron cajas petri que solo contenían PDA y como control positivo se usaron cajas que contenían PDA y captan (fungicida comercial); la suspensión se preparó mezclando el fungicida en agua destilada a una concentración de 24 mg/mL. Cada tratamiento se hizo por triplicado. Una vez que las cajas petri fueron inoculadas se incubaron a una temperatura de 27 ± 2 °C, por un periodo de 168 h. Durante el periodo de incubación se midió el crecimiento del micelio (mm) utilizando un vernier digital (Mitutoyo, 500-196-30, Japón), las lecturas se realizaron a las 24, 48, 72, 96 y 168 h. Los resultados obtenidos se expresaron como porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, para calcular el % de inhibición se utilizó la siguiente fórmula de acuerdo a Hernández-Soto et al. (2020):

$$\% \text{ crecimiento} = \left(\frac{T}{C} \right) \times 100\% \quad (1)$$

$$\% IC = 100 - \% \text{ crecimiento} \quad (2)$$

Donde: *T* representa el crecimiento (mm) radial del hongo en el tratamiento a evaluar, *C* es el crecimiento radial del micelio en el control y % *IC* es el porcentaje de inhibición de crecimiento.

4.3 Análisis estadístico

Para el análisis de los datos obtenidos se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una comparación de medias de Tukey a un nivel de significancia del 95% ($p \leq 0.05$). Se utilizó el software SAS (Statistical Analysis System) versión 9.4.

4.4 Resultados y discusión

4.4.1 Evaluación fungicida por el método de dilución del extracto en agar

En la tabla 3, se muestran los porcentajes de inhibición respecto a la evaluación antifúngica del extracto hidroalcohólico de *Artemisa ludoviciana*. De acuerdo a los datos obtenidos *R. solani* presentó la mayor inhibición a las 24 h de incubación y a la concentración de 50 mg/mL (Figura 3), sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas respecto al porcentaje de incubación reportado para la concentración de 100 mg/mL. La cepa de *F. moniliforme* tuvo un porcentaje similar al de *R. solani* al mismo tiempo de incubación, pero a la concentración de 100 mg/mL. Por otro lado, se observa que partir de las 72 h de incubación a mayor concentración de extracto y a mayor tiempo de incubación hay menor inhibición para *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *M. fruticola* y *R. solani*, dado que el crecimiento del micelio fue mayor respecto al control (PDA).

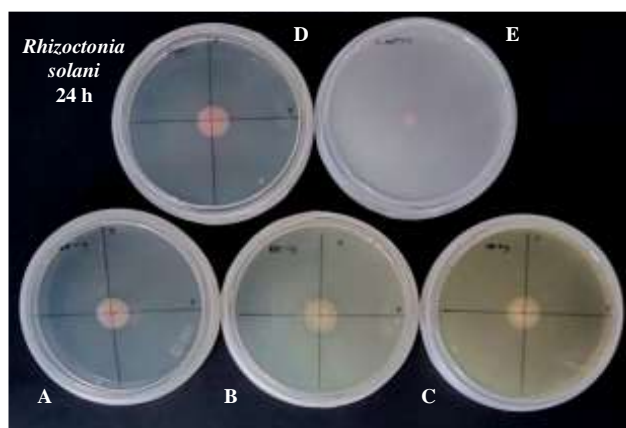


Figura 3. Evaluación del extracto hidroalcohólico de *Artemisa ludoviciana* sobre la inhibición de crecimiento de *Rhizoctonia solani*, a las 24 h de incubación. Concentraciones evaluadas A) 25 mg/mL, B) 50 mg/mL, C) 100 mg/mL, D) PDA, E) Captan.

La evaluación antifúngica del extracto hidroalcohólico del *Lepidium virginicum* se presenta en la tabla 4. Para *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *M. fructicola* y *R. solani*, se nota que a partir de las 24 h de incubación el crecimiento del micelio fue mayor respecto al control (PDA), ya que para todos los tiempos evaluados el porcentaje de inhibición fue negativo. En la figura 4, se presenta el crecimiento micelial de *M. fructicola*, a las 48, 72 y 168 h de incubación al evaluar el extracto hidroalcohólico a la concentración de 25, 50 y 100 mg/mL, en el cual se observa que los tratamientos tuvieron un mayor crecimiento del micelio respecto al control (PDA).

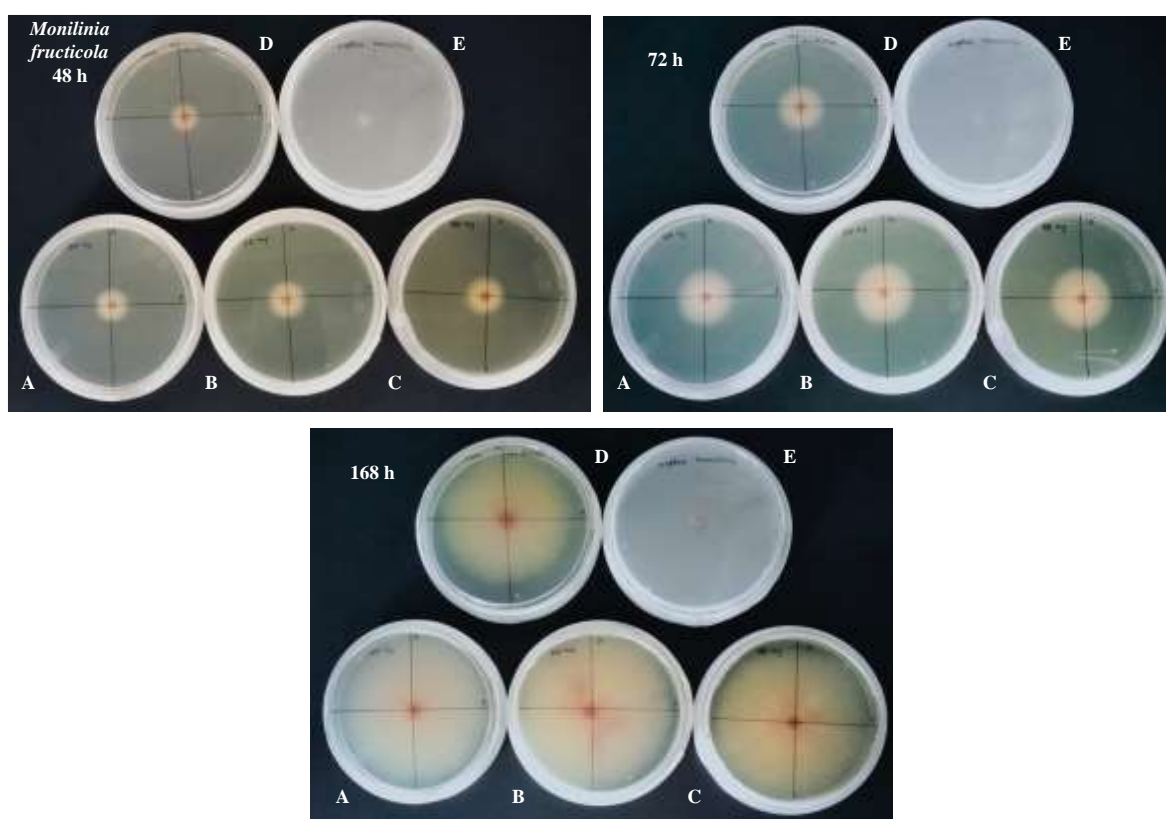


Figura 4. Evaluación del extracto hidroalcohólico del *Lepidium virginicum* sobre la inhibición de crecimiento de *Monilinia fructicola* a las 48, 72 y 168 h de incubación. Concentraciones evaluadas A) 25 mg/mL, B) 50 mg/mL, C) 100 mg/mL, D) PDA, E) Captan.

En la tabla 5, se presentan los datos del porcentaje de inhibición al evaluar el extracto hidroalcohólico de *B. veronicifolia* sobre *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *M. fructicola* y *R. solani*. De acuerdo a los datos obtenidos *F. oxysporum* y *M. fructicola* presentaron el mayor porcentaje de inhibición a las 24 h de incubación, para las tres concentraciones evaluadas

(25, 50 y 100 mg/mL). De las cepas evaluadas *M fructicola* presento el porcentaje más alto a la concentración de 100 mg/mL y a 168 h de incubación. Como se puede observar en la tabla 5, al aumentar la concentración de extracto y el tiempo de incubación, aumenta el porcentaje de inhibición; sin embargo, no en todos los casos existen diferencias estadísticas significativas. En la figura 5 se observa que el crecimiento micelial de *F. oxysporum* y *F. moniliforme*, cambia de color rojo a blanco, esto respecto al control (PDA) cuando se evalúa la concentración de 50 y 100 mg/mL.

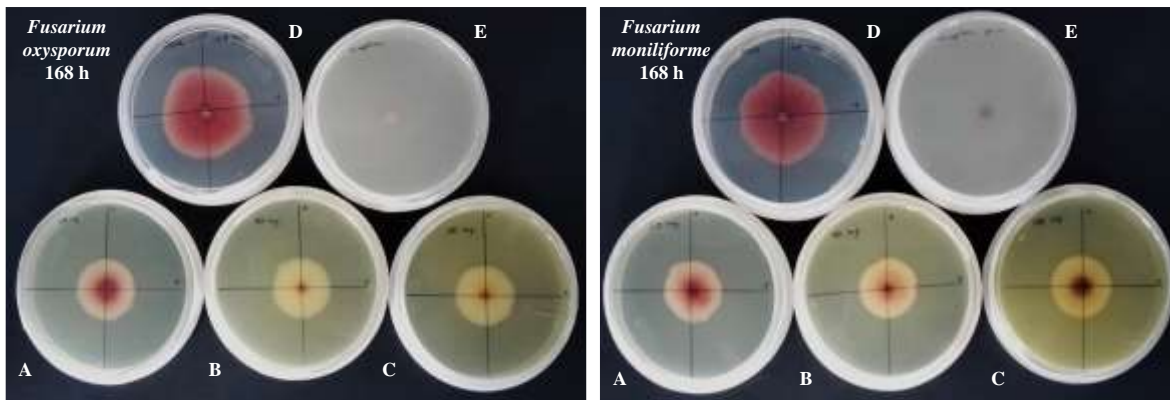


Figura 5. Evaluación del extracto hidroalcohólico de *Brickellia veronicifolia* sobre la inhibición de crecimiento de *Fusarium oxysporum* y *Fusarium moniliforme*, a las 168 h de incubación. Concentraciones evaluadas A) 25 mg/mL, B) 50 mg/mL, C) 100 mg/mL, D) PDA, E) Captan.

Para el caso de la cepa de *Sclerotinia Sclerotiorum*, no se incluyeron los datos, ya que la cepa no desarrollo crecimiento del micelio para ninguno de los tres tratamientos evaluados y el control (PDA).

Tabla 3. Porcentaje de inhibición de crecimiento de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Monilinia fructicola* y *Rhizoctonia solani*, utilizando como tratamiento tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Artemisa ludoviciana*.

H	Hongo	Tratamiento (mg/mL)			Captan 24 mg/mL
		25	50	100	
24	<i>F. oxysporum</i>	6.94 ± 1.16 ^{dB}	10.10 ± 0.67 ^{cC}	21.26 ± 0.12 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>F. moniliforme</i>	9.78 ± 3.77 ^{cAB}	16.83 ± 1.37 ^{bcB}	22.25 ± 4.48 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>M. fructicola</i>	7.30 ± 0.08 ^{dB}	8.36 ± 0.59 ^{cC}	9.28 ± 0.33 ^{bB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>R. solani</i>	14.38 ± 0.87 ^{cA}	22.92 ± 0.87 ^{bA}	20.97 ± 4.14 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
48	<i>F. oxysporum</i>	3.78 ± 0.39 ^{cB}	1.40 ± 0.19 ^{dB}	7.20 ± 0.42 ^{bAB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>F. moniliforme</i>	5.58 ± 0.95 ^{cAB}	10.34 ± 0.62 ^{bA}	9.65 ± 0.13 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>M. fructicola</i>	6.70 ± 1.93 ^{bAB}	10.05 ± 3.48 ^{bA}	6.99 ± 0.47 ^{bB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>R. solani</i>	10.50 ± 3.26 ^{bA}	9.69 ± 3.33 ^{bA}	9.36 ± 1.70 ^{bAB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
72	<i>F. oxysporum</i>	3.40 ± 2.45 ^{bB}	-4.76 ± 2.51 ^{cB}	-3.35 ± 2.58 ^{bcB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>F. moniliforme</i>	5.58 ± 1.13 ^{bAB}	5.07 ± 0.04 ^{bA}	-3.57 ± 0.63 ^{cB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>M. fructicola</i>	2.02 ± 0.51 ^{bB}	4.56 ± 2.41 ^{bA}	-2.06 ± 0.04 ^{cAB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>R. solani</i>	7.90 ± 0.41 ^{bA}	1.15 ± 0.02 ^{cA}	2.48 ± 2.08 ^{cA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
96	<i>F. oxysporum</i>	0.41 ± 1.24 ^{bB}	-0.46 ± 1.08 ^{bc}	-4.97 ± 1.22 ^{cA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>F. moniliforme</i>	8.10 ± 2.72 ^{bA}	6.41 ± 1.27 ^{bAB}	-2.40 ± 0.91 ^{cA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>M. fructicola</i>	8.58 ± 1.12 ^{bA}	10.38 ± 3.04 ^{bA}	2.39 ± 0.11 ^{cA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>R. solani</i>	11.12 ± 0.59 ^{bA}	3.40 ± 0.66 ^{bBC}	0.85 ± 7.84 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
168	<i>F. oxysporum</i>	5.70 ± 3.06 ^{bAB}	3.44 ± 1.29 ^{bB}	-8.13 ± 0.80 ^{cC}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>F. moniliforme</i>	10.21 ± 1.92 ^{bAB}	9.92 ± 0.72 ^{bA}	-4.23 ± 0.15 ^{cB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>M. fructicola</i>	2.69 ± 2.86 ^{bcB}	8.54 ± 3.16 ^{bAB}	-2.75 ± 1.62 ^{cB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>R. solani</i>	11.68 ± 2.90 ^{bA}	10.27 ± 1.05 ^{bA}	7.94 ± 1.54 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}

Los datos se presentan con una desviación estándar de tres repeticiones, ^{a,b,c} Las letras diferentes en las filas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos a diferentes concentraciones. ^{A,B,C,D} Las letras diferentes en las columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) entre hongos.

Tabla 4. Porcentaje de inhibición de crecimiento de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Monilinia fructicola* y *Rhizoctonia solani*, utilizando como tratamiento tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Lepidium virginicum*.

H	Hongo	Tratamiento (mg/mL)			Captan 24 mg/mL
		25	50	100	
24	<i>F. oxysporum</i>	-20.12 ± 0.12 ^{cAB}	-24.26 ± 0.49 ^{dB}	-17.69 ± 0.24 ^{bB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>F. moniliforme</i>	-16.01 ± 4.71 ^{bA}	-19.25 ± 3.19 ^{bA}	-17.74 ± 1.92 ^{bB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>M. fructicola</i>	-24.36 ± 0.59 ^{bB}	-27.53 ± 0.08 ^{cB}	-30.74 ± 0.13 ^{dC}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>R. solani</i>	-15.51 ± 2.17 ^{cA}	-15.65 ± 0.50 ^{cA}	-11.78 ± 1.25 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
48	<i>F. oxysporum</i>	-9.58 ± 0.13 ^{bAB}	-14.44 ± 0.55 ^{dA}	-12.99 ± 0.06 ^{cA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>F. moniliforme</i>	-5.88 ± 2.05 ^{bA}	-10.68 ± 2.11 ^{cA}	-13.96 ± 0.44 ^{cA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>M. fructicola</i>	-15.49 ± 2.47 ^{bC}	-27.23 ± 4.26 ^{cB}	-26.86 ± 1.86 ^{cB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>R. solani</i>	-12.60 ± 1.37 ^{cBC}	-12.89 ± 1.70 ^{cA}	-9.22 ± 2.30 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
72	<i>F. oxysporum</i>	-7.92 ± 0.25 ^{bBC}	-11.09 ± 2.83 ^{bA}	-11.79 ± 2.84 ^{bB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>F. moniliforme</i>	-1.64 ± 0.04 ^{bA}	-6.27 ± 0.82 ^{cA}	-12.01 ± 0.33 ^{dB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>M. fructicola</i>	-9.64 ± 2.32 ^{bC}	-22.16 ± 2.25 ^{cB}	-22.12 ± 0.99 ^{cC}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>R. solani</i>	-5.97 ± 1.93 ^{bB}	-8.54 ± 0.14 ^{bA}	-7.57 ± 0.30 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
96	<i>F. oxysporum</i>	-8.66 ± 1.11 ^{bA}	-11.53 ± 0.69 ^{bA}	-16.07 ± 2.26 ^{cAB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>F. moniliforme</i>	-5.29 ± 1.15 ^{bA}	-10.05 ± 0.40 ^{bA}	-28.82 ± 14.37 ^{bB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>M. fructicola</i>	-13.41 ± 2.38 ^{bB}	-20.06 ± 0.45 ^{cB}	-21.08 ± 1.06 ^{cAB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>R. solani</i>	-8.68 ± 0.05 ^{bA}	-8.24 ± 2.46 ^{bA}	-6.87 ± 1.27 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
168	<i>F. oxysporum</i>	-2.96 ± 0.58 ^{bA}	-13.90 ± 1.61 ^{cB}	-15.41 ± 0.28 ^{cB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>F. moniliforme</i>	-6.09 ± 0.52 ^{bB}	-4.86 ± 1.80 ^{bA}	-17.00 ± 1.45 ^{cB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>M. fructicola</i>	-4.04 ± 0.70 ^{bA}	-10.49 ± 0.85 ^{dB}	-9.15 ± 0.36 ^{cA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>R. solani</i>	-3.09 ± 0.15 ^{bA}	-5.97 ± 0.66 ^{bcA}	-7.81 ± 2.90 ^{cA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}

Los datos se presentan con una desviación estándar de tres repeticiones, ^{a,b,c,d} Las letras diferentes en las filas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos a diferentes concentraciones. ^{A,B,C} Las letras diferentes en las columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) entre hongos.

Tabla 5. Porcentaje de inhibición de crecimiento de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Monilinia fruticola* y *Rhizoctonia solani*, utilizando como tratamiento tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Brickellia veronicifolia*.

H	Hongo	Tratamiento (mg/mL)			Captan 24 mg/mL
		25	50	100	
24	<i>F. oxysporum</i>	100.00 ± 0.00 ^{aA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>F. moniliforme</i>	22.00 ± 2.93 ^{cB}	25.73 ± 4.51 ^{cC}	34.02 ± 1.46 ^{bC}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>M. fruticola</i>	100.00 ± 0.00 ^{aA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>R. solani</i>	23.39 ± 0.38 ^{dB}	33.89 ± 0.87 ^{cB}	40.33 ± 1.48 ^{bB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
48	<i>F. oxysporum</i>	29.75 ± 0.74 ^{cA}	35.32 ± 1.80 ^{bA}	37.05 ± 0.84 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>F. moniliforme</i>	29.46 ± 2.55 ^{cA}	35.36 ± 3.38 ^{bcA}	37.67 ± 0.94 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>M. fruticola</i>	32.40 ± 0.70 ^{cA}	36.91 ± 0.31 ^{bA}	36.80 ± 0.15 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>R. solani</i>	32.40 ± 1.17 ^{cA}	37.83 ± 0.87 ^{bA}	38.97 ± 0.96 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
72	<i>F. oxysporum</i>	36.84 ± 0.03 ^{dB}	37.69 ± 0.16 ^{cC}	38.86 ± 0.34 ^{bD}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>F. moniliforme</i>	30.28 ± 2.50 ^{cC}	38.62 ± 1.19 ^{bC}	41.78 ± 0.32 ^{bC}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>M. fruticola</i>	41.34 ± 0.76 ^{dA}	45.75 ± 0.49 ^{cA}	49.53 ± 0.02 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>R. solani</i>	38.29 ± 0.90 ^{cAB}	41.90 ± 1.51 ^{bB}	44.73 ± 0.14 ^{bB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
96	<i>F. oxysporum</i>	34.41 ± 0.07 ^{dC}	38.42 ± 1.08 ^{cC}	41.35 ± 0.44 ^{bC}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>F. moniliforme</i>	37.64 ± 1.36 ^{cB}	40.53 ± 0.24 ^{bB}	41.45 ± 0.71 ^{bC}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>M. fruticola</i>	46.90 ± 0.68 ^{dA}	52.02 ± 0.02 ^{cA}	54.19 ± 0.26 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>R. solani</i>	39.35 ± 0.19 ^{cB}	42.52 ± 0.61 ^{bB}	43.36 ± 0.73 ^{bB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
168	<i>F. oxysporum</i>	34.33 ± 0.45 ^{bC}	31.60 ± 1.14 ^{cD}	35.90 ± 0.25 ^{bD}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>F. moniliforme</i>	33.50 ± 0.82 ^{cC}	36.78 ± 2.00 ^{bC}	37.92 ± 0.10 ^{bC}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>M. fruticola</i>	53.29 ± 1.10 ^{cA}	55.01 ± 0.92 ^{cA}	60.04 ± 0.10 ^{bA}	100.00 ± 0.00 ^{aA}
	<i>R. solani</i>	39.24 ± 0.71 ^{cB}	41.72 ± 0.17 ^{bB}	42.30 ± 0.15 ^{bB}	100.00 ± 0.00 ^{aA}

Los datos se presentan con una desviación estándar de tres repeticiones, ^{a,b,c,d} Las letras diferentes en las filas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos a diferentes concentraciones. ^{A,B,C,D} Las letras diferentes en las columnas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) entre hongos.

Cabe mencionar que la composición química de los extractos vegetales depende de la polaridad del solvente de extracción utilizado, por lo que la sensibilidad de los hongos fitopatógenos a los extractos evaluados en este trabajo depende de los compuestos bioactivos extraídos, dado que los microorganismos responden de manera variable a los diferentes fitoquímicos (Al Otibi et al., 2020). De acuerdo a Bañuelos-Valenzuela et al. (2018) los metabolitos secundarios presentes en las plantas aromáticas como los terpenos, tienen propiedades antioxidantes, antisépticas y antifúngicas. Dentro del grupo de las plantas aromáticas se encuentra *A. ludoviciana*, la cual es popular en la medicina tradicional mexicana. Anaya-Eugenio et al. (2016), mencionan que el estudio fitoquímico del extracto obtenido de partes aéreas de *A. ludoviciana* dio como resultado el aislamiento de monoterpenos, sesquiterpenos y flavonoides. Mientras que Damian et al. (2010), reportaron que el extracto crudo (cloroformo-metanol) de las partes aéreas de *A. ludoviciana* tuvo actividad antioomiceto frente a cinco especies de *Phytophthora* (*P. cactorum*, *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *P. infestans* y *P. mirabilis*). Al fraccionar el extracto, identificaron que el aceite esencial de la fracción con actividad inhibitoria contenía terpenos como borneol en mayor porcentaje, camfor y *cis*-verbenol. Para identificar que compuestos tenían actividad antioomiceto, evaluaron los compuestos purificados y la mezcla de ellos, dando como resultado que solo la mezcla de los compuestos afecto el crecimiento de *Phytophthora* spp. Como señalan Pérez-Pérez et al. (2020) los principales compuestos de un extracto son los responsables de su actividad biológica; sin embargo, algunos componentes actúan sinérgicamente. La presencia de metabolitos secundarios como los terpenos y flavonoides otorgan actividad biológica a las plantas, entre ellas la actividad antifúngica, dicha actividad se puede explicar por mecanismos de acción como daño a la estructura y función de la membrana, inhibición de la biosíntesis y función de los ácidos nucleicos, interferencia de procesos metabólicos esenciales, así como en la inducción de la coagulación de los componentes citoplasmáticos (Martín, 2018) . Por lo anterior se puede considerar que los extractos de *A. ludoviciana*, pueden tener actividad sobre los hongos fitopatógenos; sin embargo, es importante evaluar factores como el método y el solvente de extracción, características de las células microbianas; además, de las condiciones ambientales y fisicoquímicas como la hidrofobicidad, la concentración del compuesto, la temperatura y el pH (Gallegos-Flores et al., 2019).

Lepidium virginicum (Brasicáceas), es una planta herbácea que se usa popularmente debido a sus propiedades medicinales (Osuna et al., 2006). Como antecedente sobre el estudio de las propiedades de esta planta Pacheco-Hernández et al. (2021) sugieren que el aceite esencial de *L. virginicum* (CMI 19-30 µg/mL), es más efectivo que los compuestos puros, como el fenilacetronitrilo (CMI 45 µg/mL) y el α -terpineol (CMI 73 µg/mL), indican que están involucrados en la actividad antifúngica del aceite esencial contra *Colletotrichum acutatum* en frutos de *Solanum betaceum*. Otros autores como Brucato et al. (2014), mencionan que *L. virginicum* presenta actividad contra los parásitos responsables de la diarrea como *Entamoeba histolytica* trophozoites y *Giardia lamblia*. Por otro lado Calzada et al. (2003) reportaron el aislamiento de glucosinolato de bencilo como el principal compuesto antiamebiano (IC₅₀ de 20.4 µg/mL) de las raíces de *L. virginicum*. Hasta el momento no existen reportes en la literatura sobre el uso del extracto de *L. virginicum* como antifúngico sobre las cepas evaluadas en este trabajo de investigación. Con base a lo reportado sobre los compuestos identificados en esta planta se considera importante evaluar que compuestos están presentes en el extracto hidroalcohólico, dado que en los ensayos realizados frente a las cepas de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Monilinia fructicola* y *Rhizoctonia solani*, no se presentó actividad antifúngica.

Rodríguez-Castro et al., (2020), evaluaron la actividad antifúngica del extracto metanólico de *Brickellia equarrosa* (Asteraceae) frente a *F. oxysporum* y a *R. solani*, a la concentración de 25 ppm, utilizando el método de cultivo envenenado. Para *F. oxysporum* reportaron un porcentaje de inhibición de 38.6% a las 144 horas de incubación, este porcentaje se encuentra en el rango del porcentaje de inhibición que reportamos con el extracto hidroalcohólico de *B. veronicifolia* a las concentraciones de 50 mg/mL y 100 mg/mL a las 72 y 96 horas de incubación. Mientras que para *R. solani* indican que a mayor tiempo de incubación hubo menor porcentaje de inhibición, caso contrario con el extracto de *B. veronicifolia* donde se puede observar que a mayor tiempo de incubación aumento el porcentaje de inhibición. Cabe mencionar que el método de extracción, el solvente de extracción y las concentraciones evaluadas son diferentes a lo que reportamos en este trabajo; sin embargo, se toma como referencia dado que a las plantas que pertenecen a la familia Asteraceae se le atribuye la presencia de compuestos bioactivos como lactonas sesquiterpénicas, diterpenos, triterpenos,

poliacetilenos, benzofuranos, flavonas, y flavonoides (Cilia-López et al., 2021), los cuales juegan un papel importante en la defensa de las plantas contra un gran número de fitopatógenos, ya que los sesquiterpenos, fenoles y flavonoides son lipofílicos por lo que presentan una buena difusión a través de las membranas (Células y vacuolas) lo que provoca deterioro e inestabilidad de las células fúngicas, llevando a la ruptura, fuga y lisis de las células (Al Otibi et al., 2020; Panda y Luyten, 2018).

4.5 Conclusión

Cabe mencionar que hasta el momento no se han encontrado reportes sobre la actividad antifúngica de los extractos hidroalcohólicos de *A. ludoviciana*, *L. virginicum* y *B. veronicifolia* sobre las cepas de los hongos fitopatógenos *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *M. fructicola* y *R. solani*. A partir de los resultados obtenidos, podemos deducir que el extracto hidroalcohólico de *Brickellia veronicifolia* tuvo la mejor actividad antifúngica frente a las cepas de *F. oxysporum* y *M. fructicola*, dado que presentaron el mayor porcentaje de inhibición a las 24 h de incubación, para las tres concentraciones evaluadas (25, 50 y 100 mg/mL). De las cepas evaluadas *M. fructicola* presentó el porcentaje más alto a la concentración de 100 mg/mL y a 168 h de incubación. Sin embargo, se deben realizar ensayos *in situ*.

4.6 Literatura citada

- Acedo-Zegarra, V. J., Arana-Bardales, D. F., & Condo-Montano, A. E. (2020). Actividad antifúngica in vitro de diferentes concentraciones de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” contra *Fusarium oxysporum*. *Revista de Investigación de Agroproducción Sustentable*, 4(1), 35. <https://doi.org/10.25127/aps.20201.541>
- Ajayi-Oyetunde, O. O., & Bradley, C. A. (2018). *Rhizoctonia solani*: taxonomy, population biology and management of rhizoctonia seedling disease of soybean. *Plant Pathology*, 67(1), 3–17. <https://doi.org/10.1111/ppa.12733>
- Al Otibi, F., Rizwana, H., Alharbi, R. I., Alshaikh, N., & Albasher, G. (2020). Antifungal effect of *Saussurea lappa* roots against phytopathogenic fungi and resulting morphological and ultrastructural changes. *Gesunde Pflanzen*, 72(1), 57–67. <https://doi.org/10.1007/s10343-019-00483-5>
- Ali, H. K., Malik Jumaah, A., & Hassian, A. S. (2017). Studying Efficiency Inhibition of Some Medicinal Plant Extracts against Some Fungal. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(1), 108–115. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.601.014>
- Anaya-Eugenio, G. D., Rivero-Cruz, I., Bye, R., Linares, E., & Mata, R. (2016). Antinociceptive activity of the essential oil from *Artemisia ludoviciana*. *Journal of Ethnopharmacology*, 179, 403–411. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.01.008>
- Aydin, M. H. (2022). *Rhizoctonia solani* and its biological control. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 9(1), 118–135. <https://doi.org/10.19159/tutad.1004550>
- Badaracco, P., Sortino, M., & Pioli, R. N. (2020). Estudio de compuestos vegetales con potencial acción antifúngica sobre patógenos de plantas cultivadas. In *Chilean journal of Agricultural and Animal Sciences* (Vol. 36, Issue 3, pp. 244–252). Universidad de Concepcion. <https://doi.org/10.29393/CHJAAS36-23ECPB30023>
- Bañuelos-Valenzuela, R., Delgadillo-Ruiz, L., Echavarría-Cháirez, F., Delgadillo-Ruiz, O., & Meza-López, C. (2018). Composición química y FTIR de extractos etanólicos de *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare*, *Artemisia ludoviciana* y *Ruta graveolens*. *Agrociencia*, 52(3), 309–321.

- Boiteux, J., Monardez, C., Fernández, M. de los Á., Espino, M., Pizzuolo, P., & Silva, M. F. (2018). Larrea divaricata volatilome and antimicrobial activity against Monilinia fructicola. *Microchemical Journal*, *142*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.06.011>
- Brucato, M. G., Lindorf, H., Trujillo, I., & Oropeza, M. (2014). Morfoanatomía comparada de hojas de *Lepidium virginicum* L. (mastuerzo) brassicaceae en condiciones in vivo e in vitro. *Acta Botánica Venezuelica*, *37*(1), 31–42.
- Calzada, F., Barbosa, E., & Cedillo-Rivera, R. (2003). Antiamoebic activity of benzyl glucosinolate from *Lepidium virginicum*. *Phytotherapy Research*, *17*(6), 618–619. <https://doi.org/10.1002/ptr.1210>
- Casals, C., Segarra, J., de Cal, A., Lamarca, N., & Usall, J. (2014). Overwintering of *Monilinia* spp. on mummified stone fruit. *Journal of Phytopathology*, *163*(3), 160–167. <https://doi.org/10.1111/jph.12298>
- Cilia-López, V. G., Cariño-Cortés, R., & Zurita-Salinas, L. R. (2021). Ethnopharmacology of the Asteraceae family in Mexico. *Botanical Sciences*, *99*(3), 455–486. <https://doi.org/10.17129/BOTSCI.2715>
- Comlekcioglu, N., & Kutlu, M. (2021). Fatty acids, bioactive substances, antioxidant and antimicrobial activity of *Ankyropetalum* spp., a novel source of nervonic acid. *Grasas y Aceites*, *72*(1). <https://doi.org/10.3989/GYA.0105201>
- Damian, B. L. M., Martínez, M. R. E., Salgado, G. R., & Martínez, P. M. M. (2010). In vitro antioomycete activity of *Artemisia ludoviciana* extracts against *Phytophthora* spp. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, *9*(2), 136–142. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85612475009>
- De Miccolis, A. R. M., Raguseo, C., Rotolo, C., Gerin, D., Faretra, F., & Pollastro, S. (2022). The Mycovirome in a Worldwide Collection of the Brown Rot Fungus *Monilinia fructicola*. *Journal of Fungi*, *8*(5), 481. <https://doi.org/10.3390/jof8050481>
- Fischer, J. M. M., Savi, D. C., Aluizio, R., May De Mio, L. L., & Glienke, C. (2017). Characterization of *Monilinia* species associated with brown rot in stone fruit in Brazil. *Plant Pathology*, *66*(3), 423–436. <https://doi.org/10.1111/ppa.12578>
- Gallegos-Flores, P. I., Bañuelos-Valenzuela, R., Delgadillo-Ruiz, L., Meza-López, C., & Echavarría-Cháirez, F. (2019). Actividad antibacteriana de cinco compuestos

- terpenoides: Carvacrol, limoneno, linalool, α -terpineno y timol. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 22, 241–248.
- Hernández-Soto, I., Prieto-Méndez, J., Madariaga-Navarrete, A., Campos-Montiel, R. G., Jiménez-Alvarado, R., & Hernández-Fuentes, A. D. (2020). Actividad biológica in vitro del extracto acuoso de *Argemone mexicana* L. en un hongo fitopatógeno: *Sclerotinia sclerotiorum*. *Boletín de Ciencias Agropecuarias Del ICAP*, 6(12), 12–14. <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/icap/issue/archive>
- Joshi, R. (2018). A review of *Fusarium oxysporum* on its plant interaction and industrial use. ~ 112 ~ *Journal of Medicinal Plants Studies*, 6(3), 112–115.
- Krishnan, N., Velramar, B., & Velu, R. K. (2019). Investigation of antifungal activity of surfactin against mycotoxigenic phytopathogenic fungus *Fusarium moniliforme* and its impact in seed germination and mycotoxicosis. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 155, 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.01.010>
- Ma, Y., Huang, L., Abuduaini, A., Zhou, H., Wang, Y., & Suo, F. (2019). Complete mitochondrial genome of plant pathogen *Monilinia fructicola* (Sclerotiniaceae, Helotiales). *Mitochondrial DNA Part B*, 4(1), 791–792. <https://doi.org/10.1080/23802359.2019.1567282>
- Martín, G. D. A. (2018). Los compuestos fenólicos, un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 9(1), 81–104. <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>
- Mesa, V. A. M., Marín, P., Ocampo, O., Calle, J., & Monsalve, Z. (2019). Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 45(1), 23–30.
- Ordóñez-Valencia, C., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., Hernández-Cuevas, L. v., & Larsen, J. (2018). Desarrollo morfológico temprano de esclerocios por *Sclerotinia sclerotiorum* en presencia de bicarbonato de potasio. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(3), 363–378. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1803-4>
- Osuna, L., Tapia-Pérez, M. E., Figueroa, O., Jiménez-Ferrer, E., Garduño-Ramírez, M. L., González-Garza, M. T., Carranza-Rosales, P., & Cruz-Vega, D. E. (2006). Micropropagation of *Lepidium virginicum* (Brassicaceae), a plant with antiprotozoal

- activity. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 42(6), 596–600. <https://doi.org/10.1079/IVP2006826>
- Pacheco-Hernández, Y., Santamaría-Juárez, J. D., Hernández-Silva, N., Cruz-Durán, R., Mosso-González, C., & Villa-Ruano, N. (2021). Essential Oil of *Lepidium virginicum*: Protective Activity on Anthracnose Disease and Preservation Effect on the Nutraceutical Content of Tamarillo Fruit (*Solanum betaceum*). *Chemistry and Biodiversity*, 18(3). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000941>
- Panda, S. K., & Luyten, W. (2018). Antiparasitic activity in Asteraceae with special attention to ethnobotanical use by the tribes of Odisha, India. *Parasite*, 25(10). <https://doi.org/10.1051/parasite/2018008>
- Pérez-Pérez, J. U., Guerra-Ramírez, D., Reyes-Trejo, B., Cuevas-Sánchez, J. A., & Guerra-Ramírez, P. (2020). Actividad antimicrobiana in vitro de extractos de *Jatropha dioica* seseé contra bacterias fitopatógenas de tomate. *Polibotánica*, 0(49). <https://doi.org/10.18387/polibotanica.49.8>
- Prabhukarthikeyan, S. R., Parameswaran, C., Sawant, S. B., Naveenkumar, R., Mahanty, A., Keerthana, U., Yadav, M. K., Anandan, A., Panneerselvam, P., Bag, M. K., & Rath, P. C. (2022). Comparative proteomic analysis of *Rhizoctonia solani* isolates identifies the differentially expressed proteins with roles in virulence. *Journal of Fungi*, 8(4), 370. <https://doi.org/10.3390/jof8040370>
- Rodríguez-Castro, A., Torres-Herrera, S., Domínguez-Calleros, A., Romero-García, A., & Silva-Flores, M. (2020). Extractos vegetales para el control de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*, una alternativa sostenible para la agricultura. *Abanico Agroforestal*, 2, 1–13. <https://doi.org/10.37114/abaagrof/2020.7>
- Samsidar, A., Siddiquee, S., & Shaarani, S. M. (2018). A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 188–201. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.011>
- Tamilselvi, N. A., & Arumugam, T. (2017). Breeding Approaches for Sustainable Vegetable Production – A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(11), 2845–2860. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.336>

-
- Wang, Z., Ma, L. Y., Cao, J., Li, Y. L., Ding, L. N., Zhu, K. M., Yang, Y. H., & Tan, X. L. (2019). Recent Advances in Mechanisms of Plant Defense to *Sclerotinia sclerotiorum*. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01314>
- Yang, H., Zhang, W., Tian, P., Li, B., Wei, S., Zhang, S., Li, N., Lyu, Y., & Hu, Y. (2022). Insights into the mechanism of Sub3 inhibiting *Fusarium moniliforme* infection in maize. *Grain and Oil Science and Technology*, 5(1), 22–34. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2021.11.002>
- Zuriegat, Q., Zheng, Y., Liu, H., Wang, Z., & Yun, Y. (2021). Current progress on pathogenicity-related transcription factors in *Fusarium oxysporum*. In *Molecular Plant Pathology* (Vol. 22, Issue 7, pp. 882–895). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/mpp.13068>

CAPITULO V

5 Evaluación del contenido de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante *in vitro* de los extractos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*.**RESUMEN**

Las especies vegetales que son parte de la flora medicinal, son una fuente natural de metabolitos secundarios, dichos compuestos están relacionados con propiedades antioxidantes y antimicrobianas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el contenido de fenoles totales, flavonoides totales y la capacidad antioxidante mediante los ensayos de 2,2'-difetil-1-picrilhidrazilo (DPPH[•]) y 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS^{•+}) de los extractos de *A. ludoviciana*, *L. virginicum* y *B. veronicifolia*. Se obtuvieron extractos hidroalcohólicos de las partes aéreas de cada planta, mediante una extracción asistida por baño ultrasónico. Se determinó el rendimiento de los extractos y posteriormente se realizaron las pruebas de la capacidad antioxidante. Los datos se analizaron mediante ANOVA y una comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$). El extracto hidroalcohólico de *A. ludoviciana* presentó el mayor rendimiento (18.35%) y el extracto de *B. veronicifolia* el porcentaje menor (10.10%). Respecto al contenido de fenoles totales el extracto de *A. ludoviciana* fue el que presentó el mayor contenido (105.22 mg EAG/g extracto) y el de *L. virginicum* fue el menor (28.43 mg EAG/g extracto), mientras que los extractos de *A. ludoviciana* (287.45 EQ/g extracto) y *B. veronicifolia* (283.95 mg EQ/g extracto) mostraron el mayor contenido de flavonoides totales, para los cuales no se observaron diferencias estadísticas significativas. Los extractos de *B. veronicifolia* (281.15 μ M Trolox/g extracto) y *A. ludoviciana* (280.20 μ M Trolox/g extracto) presentaron alta actividad antioxidante por el método ABTS^{•+}, por otra parte, los resultados obtenidos por el método DPPH[•] indican que de igual manera los extractos de *B. veronicifolia* (97.95 μ M Trolox/g extracto) y *A. ludoviciana* (97.62 μ M Trolox/g extracto) presentaron la mayor actividad antioxidante, el extracto de *L. virginicum*, tuvo la menor actividad antioxidante por el método ABTS y DPPH. (206.10 y 71.81 μ M Trolox/g extracto, respectivamente).

Palabras clave: Fenoles, flavonoides, antioxidante, antimicrobiana.

ABSTRACT

Plant species that are part of the medicinal flora are a natural source of secondary metabolites, these compounds are related to antioxidant and antimicrobial properties. The objective of this work was to evaluate the content of total phenols, total flavonoids and antioxidant capacity through the 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH•) and 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic) (ABTS•+) from the extracts of *A. ludoviciana*, *L. virginicum* and *B. veronicifolia*. Hydroalcoholic extracts were obtained from the aerial parts of each plant, through an extraction assisted by ultrasonic bath. The yield of the extracts was determined and subsequently the antioxidant capacity tests were carried out. Data were analyzed using ANOVA and Tukey's comparison of means ($P \leq 0.05$). The hydroalcoholic extract of *A. ludoviciana* presented the highest yield (18.35%) and the extract of *B. veronicifolia* the lowest percentage (10.10%). Regarding the content of total phenols, the extract of *A. ludoviciana* was the one with the highest content (105.22 mg EAG/g extract) and that of *L. virginicum* was the lowest (28.43 mg EAG/g extract), while the extracts of *A. ludoviciana* (287.45 EQ/g extract) and *B. veronicifolia* (283.95 mg EQ/g extract) showed the highest content of total flavonoids, for which no significant statistical differences were observed. The extracts of *B. veronicifolia* (281.15 μM Trolox/g extract) and *A. ludoviciana* (280.20 μM Trolox/g extract) showed high antioxidant activity by the ABTS•+ method, on the other hand, the results obtained by the DPPH• method. indicate that similarly the extracts of *B. veronicifolia* (97.95 μM Trolox/g extract) and *A. ludoviciana* (97.62 μM Trolox/g extract) presented the highest antioxidant activity, the extract of *L. virginicum* had the lowest antioxidant activity due to the ABTS and DPPH method. (206.10 and 71.81 μM Trolox/g extract, respectively).

Keywords: Phenols, flavonoids, antioxidant, antimicrobial.

5.1 Introducción

Una alternativa sustentable para el control de plagas y enfermedades es el uso de extractos vegetales como potenciales biocontroles de fitopatógenos (Badaracco *et al.*, 2020; Rodríguez *et al.*, 2020). Las especies vegetales sintetizan compuestos denominados metabolitos primarios y metabolitos secundarios. Los metabolitos primarios están implicados en su crecimiento, desarrollo y reproducción; mientras que los metabolitos secundarios tienen un papel importante en su adaptación frente al estrés ambiental y la defensa ante depredadores y patógenos (Lustre Sánchez, 2022). Los metabolitos secundarios se clasifican de acuerdo a su estructura, función y biosíntesis. Azcón-Bieto y Talón (2013) los clasifican en terpenos, fenoles y alcaloides, los cuales tienen propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Arredondo *et al.*, 2017).

La actividad antioxidante de las plantas está relacionada con la presencia de oxidrilos fenólicos, los cuales actúan sobre los radicales libres y las moléculas que regulan los procesos fisiológicos (Bañuelos-Valenzuela *et al.*, 2018). Los radicales libres son altamente reactivos ya que tienen un electrón desapareado o libre y tienden a captar un electrón de moléculas estables y alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre sustrajo el electrón, la molécula estable que lo cedió se transforma en radical libre, por quedar con un electrón desapareado y de esta manera inicia una reacción en cadena que destruye a las células (Bañuelos-Valenzuela *et al.*, 2018).

La obtención de los compuestos bioactivos o metabolitos secundarios se ve afectada por diversos factores que pueden derivarse del método de extracción. Actualmente existen métodos sencillos, rápidos y sustentables, como es el uso de la extracción asistida por baño ultrasónico, en el cual la ruptura de la pared celular se lleva a cabo a través de ondas de ultrasonido, que permite la transferencia de componentes bioactivos. Este método se ha utilizado principalmente para obtener pigmentos, lípidos, polisacáridos y proteínas (Rojas *et al.*, 2019; Zheng *et al.* 2021).

Actualmente la investigación de compuestos fitoquímicos está encaminada hacia el estudio de extractos vegetales de plantas conocidas en la medicina tradicional por sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes. Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el contenido de fenoles y flavonoides totales, así como la capacidad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*.

5.2 Metodología

5.2.1 Colecta e identificación del material vegetal

Se colectaron las partes aéreas de las plantas *Artemisa ludoviciana* Nutt., en el municipio de Tulancingo, Hidalgo, México (20°03'45.9"N 22°51'3"O), *Lepidium virginicum* L. y *Brickellia veronicifolia* (Kunth) A. Gray, en el municipio de Tecámac, Estado de México (19°45'46"N 98°57'47"O). La identificación de las plantas se realizó en el herbario HGOM, ubicado en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH). Se verifico que las plantas son *Artemisa ludoviciana* (HGOM-3), *Lepidium virginicum* (HGOM-2) y *Brickellia veronicifolia* (HGOM-1) (Anexo 8.1).

5.2.2 Secado del material vegetal

El material vegetal fue secado a la sombra a temperatura ambiente para posteriormente ser pulverizado de forma mecánica con ayuda de un molino semiindustrial (Macoll, Herradura, Estado de México, México).

5.2.3 Obtención de extractos

Para la obtención de extractos se pesaron 250 g de muestra pulverizada y como disolvente se agregaron 2,500 mL de solución hidroalcohólica etanol: agua (70:30 v/v), la mezcla se colocó en un matraz erlenmeyer de 500 mL y se dejó reposar por 15 min, posteriormente se colocó en baño ultrasónico (Lab safety supply, 32V118A, China) durante 60 min en intervalos de 15 min, a una frecuencia de 40 kHz y se dejó en reposo durante 24 h. El sobrenadante se pasó a través de papel filtro (Whatman® 540) y fue concentrado en un rotavapor (Büchi, R-215, Flawil, Suiza) hasta obtener un extracto semisólido. El extracto hidroalcohólico obtenido se colocó en un vial de vidrio y fue almacenado a 4 °C hasta su evaluación.(Comlekcioglu y Kutlu, 2021).

5.2.4 Rendimiento de los extractos vegetales

La determinación del rendimiento de cada uno de los extractos se hizo de acuerdo a Mesa-Vanegas et al. (2015) , utilizando la siguiente formula:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Peso extracto}}{\text{Peso material vegetal}} \times 100$$

5.2.5 Determinación del contenido de fenoles y flavonoides totales

Para determinar el contenido de fenoles y flavonoides totales, se pesaron 30 mg de extracto y se disolvieron en 10 mL de solución hidroalcohólica etanol: agua (70:30 v/v), la mezcla se colocó en un baño ultrasónico (Ultrasonic Cleaner, Mod. 32V118A, USA), por un tiempo de 15 min. Para obtener el sobrenadante, las muestras fueron centrifugadas a 10 000 rpm por 10 min a 4 °C (Thermo Scientific Mod. ST 16R, Germany) (Montaño-Herrera et al., 2022).

El contenido de fenoles totales se determinó por el método de Folin-Ciocalteu, descrito por Waterman y Mole (1994). Se tomaron 0.5 mL de sobrenadante y se mezcló con 0.5 mL de reactivo Folin-Ciocalteu (50% v/v en agua destilada), posteriormente se agregaron 1.5 mL de solución de carbonato de sodio (2% p/v en agua) y 2.5 mL de agua destilada; la mezcla se mantuvo en completa oscuridad durante 60 min. Una vez transcurrido el tiempo se midió la absorbancia a 725 nm en un espectrofotómetro (Genesys 150 UV/Visible, Thermo scientific, USA). Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (mg EAG / g extracto).

El contenido de flavonoides se determinó de acuerdo al método descrito por Chang et al. (2002). Se tomaron 0.5 mL del sobrenadante y se mezclaron con 2 ml de agua destilada y 0.15 mL de NaNO₂ (5% p/v), después de 5 min se añadieron 0.15 mL de AlCl₃ · 6H₂O (10% p/v), la mezcla se almaceno a temperatura ambiente durante 5 min; posteriormente, se añadió 1 mL de solución de NaOH (1 M). La mezcla se dejó en reposo durante 15 min en la oscuridad. Finalmente se midió la absorbancia a 415 nm en un espectrofotómetro (Genesys 150 UV/Visible, Thermo scientific, USA), los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de quercetina por gramo de extracto (mg EQ / g extracto).

5.2.6 Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó por el método 2,2'-Azino-bis (Ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS), de acuerdo a Re et al. (1999). El ABTS•+ se preparó de acuerdo a lo siguiente: Se mezcló ABTS (7 mM) con 10 mL de persulfato de potasio (2.45 mM) y se agitó durante 16 h protegido de la luz. Cuando se obtuvo el radical, se mezclaron 100 μ L de sobrenadante con 3 mL de ABTS•+ (Reactivo estabilizado) y se dejó en reposo durante 6 min en la oscuridad. La absorbancia se midió a 734 nm en un espectrofotómetro (Genesys 150 UV, Thermo scientific, USA). Los resultados fueron expresados como equivalentes de micromol Trolox por gramo de extracto (μ M Trolox / g extracto).

Posteriormente se determinó la actividad antioxidante por el método 2,2'-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) descrito por Brand-Williams et al. (1995). Se preparó una solución etanólica a 6×10^{-5} M del radical DPPH, la cual se dejó en agitación durante 2 horas en condiciones de oscuridad. Posteriormente se tomaron 0.5 mL de sobrenadante y 2.5 mL de solución DPPH, la mezcla se dejó reaccionar durante 1 hora a 4°C. La absorbancia fue medida a 517 nm en un espectrofotómetro (Genesys 150 UV, Thermo scientific, USA). Los resultados se expresaron como equivalentes de micromol Trolox por gramo de extracto (μ M Trolox / g extracto).

5.3 Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar, cada tratamiento con tres repeticiones. Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey a un nivel de significancia ($p \leq 0.05$). Para el análisis de datos se utilizó el programa SAS (Statistical Analysis System, 2002) versión 9.4.

5.4 Resultados y discusión

5.4.1 Rendimiento de los extractos vegetales

La figura 6, muestra el contenido de fenoles totales y flavonoides totales de los extractos hidroalcohólicos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*. El extracto de *A. ludoviciana* fue el que presentó el mayor contenido de fenoles totales y el de *L. virginicum* fue el de menor contenido. Mientras que los extractos de *A. ludoviciana* y *B. veronicifolia* mostraron el mayor contenido de flavonoides totales, para los cuales no se observan diferencias estadísticas significativas.

Tabla 6. Rendimiento de los extractos hidroalcohólicos de *Brickellia veronicifolia*, *Artemisa ludoviciana* y *Lepidium virginicum*.

Planta	Rendimiento (%)
<i>B. veronicifolia</i>	10.10 ^c
<i>A. ludoviciana</i>	18.35 ^a
<i>L. virginicum</i>	11.08 ^b

^{a,b,c} Las letras diferentes en las filas indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos.

5.4.2 Determinación del contenido de fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante

La figura 6, muestra el contenido de fenoles totales y flavonoides totales de los extractos hidroalcohólicos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*. El extracto de *A. ludoviciana* fue el que presentó el mayor contenido de fenoles totales y el de *L. virginicum* fue el de menor contenido. Mientras que los extractos de *A. ludoviciana* y *B. veronicifolia* mostraron el mayor contenido de flavonoides totales, para los cuales no se observan diferencias estadísticas significativas.

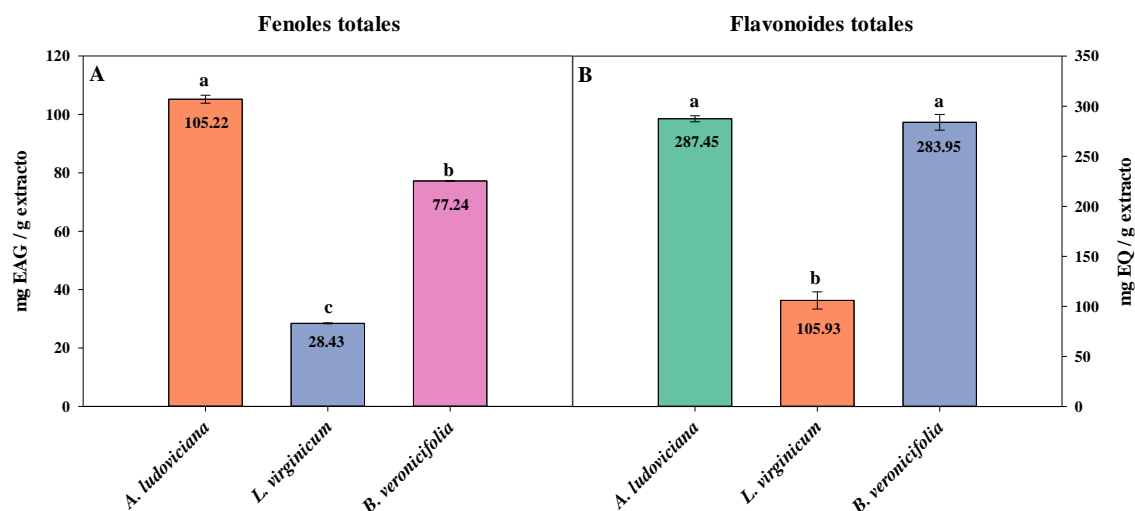


Figura 6. A) Contenido de fenoles totales y B) flavonoides totales de los extractos hidroalcohólicos de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*^{a,b,c}. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos.

Como se observa en la figura 7, los extractos de *B. veronicifolia* y *A. ludoviciana* presentaron alta actividad antioxidante por el método ABTS^{•+}, este ensayo mide la capacidad antioxidante total (Compuestos lipofílicos e hidrofílicos), se basa en la decoloración del radical en presencia de antioxidantes como los compuestos fenólicos (Mesa-Vanegas et al., 2015). Por otra parte, los resultados obtenidos por el método DPPH[•] indican que de igual manera los extractos de *B. veronicifolia* y *A. ludoviciana* presentaron la mayor actividad antioxidante, en este ensayo el radical DPPH cambia de color púrpura a color amarillo en presencia de antioxidantes (Mesa-Vanegas et al., 2015). De acuerdo al análisis estadístico los valores obtenidos para *B. veronicifolia* y *A. ludoviciana* no presentaron diferencias estadísticas significativas. El extracto de *L. virginicum*, tuvo la menor actividad antioxidante por el método ABTS y DPPH.

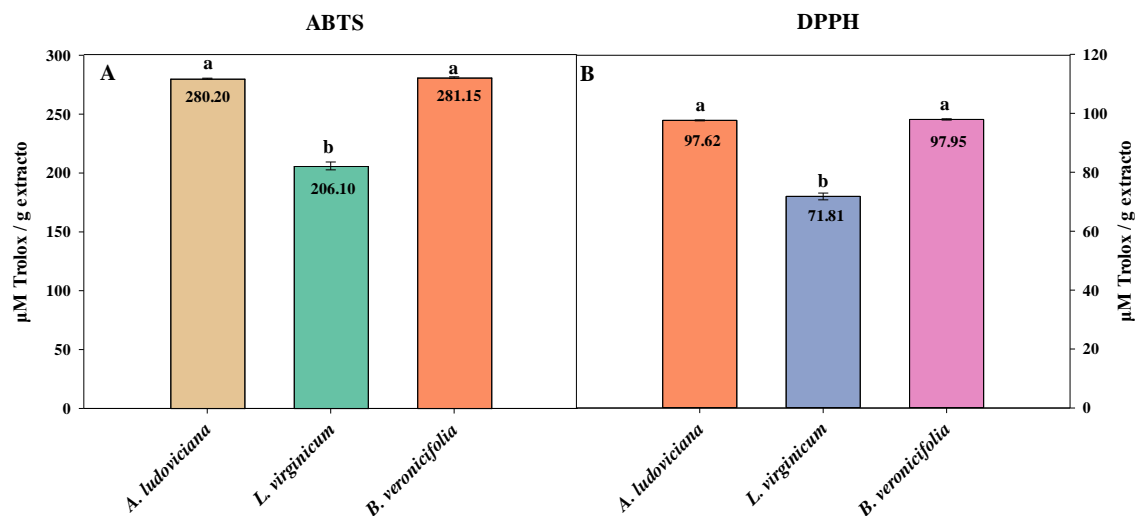


Figura 7. Actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de *Artemisia ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia* por el método A) ABTS y B) DPPH. ^{a,b,c} Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos.

Ahameethunisa y Hopper (2010), señalaron que las plantas del género artemisa (Asteraceae) sintetizan metabolitos secundarios con propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Tal es el caso de *Artemisia absinthium*, de la cual Andrade-Cetto y Heinrich (2005) mencionan el contenido de sesquiterpenos, lactonas y flavonoides en la infusión de las hojas. Como menciona Bañuelos-Valenzuela et al. (2018), es importante considerar que los factores genéticos, agronómicos y ambientales influyen en el uso de los extractos de plantas como agentes antimicrobianos y antioxidantes. Sobre el contenido de metabolitos secundarios presentes en *A. ludoviciana*, las investigaciones fitoquímicas han indicado la presencia de monoterpenos (Alcanfor, limoneno), lactonas sesquiterpénicas (Estafiatina y ludovicina) y flavonoides (Eupatilina y jaceosidina), (Anaya-Eugenio et al., 2014, 2016; Palacios-Espinosa et al., 2021; Rivero-Cruz et al., 2017). En un estudio previo Liu y Mabry (1982), reportaron la presencia de diecinueve flavonoides aislados de *Artemisia ludoviciana* var. *ludoviciana*, los compuestos mencionados incluyen 2'-hidroxi-6-metoxiflavona, 5,7,2',4'-tetrahidroxi-6,5'-dimetoxiflavona, quercetagetina 3,6,3',4'-tetrametiléter, eupatilina, 5,7-dihidroxi-3,6,8,4'-tetrametoxiflavona, luteolina 3',4'-dimetiléter, jaceosidina, 5,7,4'-trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona, tricina, hispidulina, crisoeriol, kaempferol 3-metil éter, apigenina, axilarina, eupafolina, selagina, 5,7,4'-trihidroxi-6,3',5'-trimetoxiflavona, 5,7,3'-trihidroxi-

6,4',5'-trimetoxiflavona y 5,7,3',4'-tetrahidroxi -6,5'- dimetoxiflavona. Como lo indican los resultados obtenidos el extracto de *A. ludoviciana* tiene alto contenido de flavonoides, por lo tanto, alta actividad antioxidante.

Como se mencionó anteriormente el extracto de *B. veronicifolia* (Asteraceae) presento alto contenido de flavonoides y alta actividad antioxidante. Los flavonoides son un grupo de pigmentos naturales, que actúan en las plantas como antioxidantes, antimicrobianos, fotorreceptores, atractores visuales, repelentes de alimentación y para la protección de la luz. La eficacia antioxidante de algunos flavonoides puede deberse a la degradación de varios ácidos fenólicos, los cuales poseen capacidad de captar radicales (Pérez G. et al., 2004). De acuerdo a Pacheco-Hernández et al. (2021), estudios fitoquímicos en *B. veronicifolia* reportaron la presencia de metoxi-flavonoles y diterpenos tipo labdano. Por otro lado, Andrade-Cetto y Heinrich (2005), identificaron la presencia de flavonas (Artementina, brickelina, casticina y trimetoxiquercetagenina), flavonoles (Eupatin, eupatolin, patuletin y vernicaefolin) y diterpenos tipo labdano en las hojas de *B. veronicaefolia*. También mencionan la presencia de flavonoides en otras plantas del género *Brickellia* como es el caso de *Brickellia cavanillesii* y *Brickellia squarrosa*. Pérez G. et al. (2004) fraccionaron el extracto de cloroformo de las hojas de *B. veronicifolia* y aislaron el compuesto centaureidina o 5,7,3 -trihidroxi-3,6,4 -trimetoxiflavona, además determinaron la actividad antioxidante por el método DPPH, donde la centaureidina mostró actividad antioxidante moderada (32.1%). Mencionan que la capacidad de los flavonoides para inhibir los procesos de oxidación está controlada por la presencia del doble enlace entre C-2 y C-3 y un hidroxilo libre en C-3.

Como antecedente sobre las investigaciones realizadas en plantas del género *Lepidium* (Brassicaceae), Calzada et al. (2003) evaluaron la actividad antiprotozoaria de *L. virginicum* contra los trofozoítos de *Entamoeba histolytica*, como responsable de dicha actividad identificaron al compuesto glucosinolato de bencilo. De acuerdo a Yan et al., (2022) los glucosinolatos son uno de los metabolitos secundarios importantes en las plantas de la familia Brassicaceae. (Gonzales et al., 2014) indicaron que en *Lepidium meyenii* la glucotropaelina representa el 79% del total de glucosinolatos y catequinas, y las galocatequinas el 97% del

total de fenoles; sin embargo, presenta valores bajos de polifenoles, carotenos y actividad antioxidante. En otro estudio Asnaashari et al. (2018) evaluaron la composición, la actividad antioxidante por el método DPPH y la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las partes aéreas de *Lepidium vesicarium*, también conocida por sus propiedades medicinales. Entre los compuestos principales identificados se encuentra el cianuro de bencilo (43,94 %), el ácido isotiocianico (22,69 %) y el isotiocianato de bencilo (20,69 %). Como resultados reportaron que el aceite esencial de *Lepidium vesicarium* no presento propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Como lo indican los reportes sobre especies de *Lepidium*, las plantas de este genero tienen baja actividad antioxidante y antimicrobiana, tal como lo indican los resultados obtenidos en este trabajo.

5.5 Conclusión

De acuerdo a resultados obtenidos el extracto de *A. ludoviciana* fue el que presento el mayor contenido de fenoles totales, mientras que los extractos de *A. ludoviciana* y *B. veronicifolia* presentaron un mayor contenido de flavonoides totales y una mayor actividad antioxidante de acuerdo al ensayo de ABTS. Se encontró que la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de *A. ludoviciana* y *B. veronicifolia* es debido a la presencia de flavonoides principalmente.

5.6 Literatura citada

- Ahameethunisa, A. R., & Hopper, W. (2010). *Antibacterial activity of Artemisia nilagirica leaf extracts against clinical and phytopathogenic bacteria*. <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/10/6>
- Anaya-Eugenio, G. D., Rivero-Cruz, I., Bye, R., Linares, E., & Mata, R. (2016). Antinociceptive activity of the essential oil from *Artemisia ludoviciana*. *Journal of Ethnopharmacology*, *179*, 403–411. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.01.008>
- Anaya-Eugenio, G. D., Rivero-Cruz, I., Rivera-Chávez, J., & Mata, R. (2014). Hypoglycemic properties of some preparations and compounds from *Artemisia ludoviciana* Nutt. *Journal of Ethnopharmacology*, *155*(1), 416–425. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.05.051>
- Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, *99*(3), 325–348. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.019>
- Arredondo, V. R., Hernández Castillo Francisco D., Anguiano Cabello Julia C., Ochoa Fuentes Yissa M., Morales G. Gallegos, Jasso Cantú Diana, & Aguilar N. Cristóbal. (2017). Review of antibacterial activity of plant extracts and growth-promoting microorganism (GPM) against phytopathogenic bacterial tomato crop. *European Journal of Biotechnology and Genetic Engineering*, *4*(1). www.idpublications.org
- Asnaashari, S., Keshavarz, S., Delazar, A., Sarvari, Y., & Asgharian, P. (2018). GC-MS Analysis, antioxidant and antimicrobial screening of volatile oil of *Lepidium vesicarium*. *Pharmaceutical Sciences*, *24*(3), 246–249. <https://doi.org/10.15171/PS.2018.36>
- Azcón-Bieto, J., & Talón, M. (2013). *Fundamentos de Fisiología Vegetal* (S. L. McGraw-Hill-Interamericana de España, Ed.; 2da ed.). Universitat de Barcelona.
- Bañuelos-Valenzuela, R., Delgadillo-Ruiz, L., Echavarría-Cháirez, F., Delgadillo-Ruiz, O., & Meza-López, C. (2018). Composición química y FTIR de extractos etanólicos de *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare*, *Artemisia ludoviciana* y *Ruta graveolens*. *Agrociencia*, *52*(3), 309–321.

- Brand Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.
- Calzada, F., Barbosa, E., & Cedillo-Rivera, R. (2003). Antiamoebic activity of benzyl glucosinolate from *Lepidium virginicum*. *Phytotherapy Research*, 17(6), 618–619. <https://doi.org/10.1002/ptr.1210>
- Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M., & Chern, J.-C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182.
- Comlekcioglu, N., & Kutlu, M. (2021). Fatty acids, bioactive substances, antioxidant and antimicrobial activity of *Ankyropetalum* spp., a novel source of nervonic acid. *Grasas y Aceites*, 72(1). <https://doi.org/10.3989/GYA.0105201>
- Gonzales, G. F., Villaorduña, L., Gasco, M., Rubio, J., & Gonzales, C. (2014). Maca (*Lepidium meyenii* Walp), una revisión sobre sus propiedades biológicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 3(1), 100–110.
- Liu, Y. L., & Mabry, T. J. (1982). Flavonoids from *Artemisia ludoviciana* var. *ludoviciana*. *Phytochemistry*, 21(1), 209–214. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(82\)80045-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(82)80045-9)
- Lustre Sánchez, H. (2022). Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. *Revista Digital Universitaria*, 23(2). <https://doi.org/10.22201/cuaieed.16076079e.2022.23.2.10>
- Mesa-Vanegas, A. M., Zapata-Uribe, S., Arana, L. M., Zapata, I. C., Monsalve, Z., & Rojano, B. (2015). Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de *Ageratum conyzoides* L. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 14(1), 1–10. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85632845001>
- Montaño-Herrera, A., Santiago-Saenz, Y. O., López-Palestina, C. U., Cadenas-Pliego, G., Pinedo-Guerrero, Z. H., Hernández-Fuentes, A. D., & Pinedo-Espinoza, J. M. (2022). Effects of Edaphic Fertilization and Foliar Application of Se and Zn Nanoparticles on Yield and Bioactive Compounds in *Malus domestica* L. *Horticulturae*, 8(6), 542. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8060542>
- Pacheco-Hernández, Y., Santamaría-Juárez, J. D., Hernández-Silva, N., Cruz-Durán, R., Mosso-González, C., & Villa-Ruano, N. (2021). Essential Oil of *Lepidium virginicum*: Protective Activity on Anthracnose Disease and Preservation Effect on the

- Nutraceutical Content of Tamarillo Fruit (*Solanum betaceum*). *Chemistry and Biodiversity*, 18(3). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000941>
- Palacios-Espinosa, J. F., Núñez-Aragón, P. N., Gomez-Chang, E., Linares, E., Bye, R., & Romero, I. (2021). Anti-helicobacter pylori activity of artemisia ludoviciana subsp. Mexicana and two of its bioactive components, estafiatin and eupatilin. *Molecules*, 26(12). <https://doi.org/10.3390/molecules26123654>
- Pérez G., R. M., Vargas S., R., Martinez M., F. J., & Cordova R., I. (2004). Antioxidant and free radical scavenging activities of 5,7,3'- trihydroxy-3,6,4'-trimethoxyflavone from *Brickellia veronicaefolia*. *Phytotherapy Research*, 18(5), 428–430. <https://doi.org/10.1002/ptr.1445>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231–1237.
- Rivero-Cruz, I., Anaya-Eugenio, G., Pérez-Vásquez, A., Laura Martínez, A., & Mata, R. (2017). Quantitative Analysis and Pharmacological Effects of *Artemisia ludoviciana* Aqueous Extract and Compounds. *Natural Product Communications*, 12(10), 1531–1534.
- Rojas, T., Fuentes Campos, M. E., Contreras-López, E., Gómez, S., & Muñoz-Jáuregui Ana María. (2019). Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la cáscara de sanky (*Corryocactus brevistylus*). *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 85(2), 258–267.
- Waterman, P., & Mole, S. (1994). Análisis de metabolitos de plantas fenólicas. *Blackwell Scientific*.
- Yan, S., Wei, J., & Chen, R. (2022). Evaluation of the Biological Activity of Glucosinolates and Their Enzymolysis Products Obtained from *Lepidium meyenii* Walp. (Maca). *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), 14756. <https://doi.org/10.3390/ijms232314756>
- Zheng, S., Zhang, G., Wang, H. J., Long, Z., Wei, T., & Li, Q. (2021). Progress in ultrasound-assisted extraction of the value-added products from microorganisms. In *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (Vol. 37, Issue 4, pp. 1–14). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03037-y>

CAPITULO VI

6 Conclusiones generales

Al momento no hay estudios reportados sobre la actividad antimicrobiana de los extractos hidroalcohólicos de *Artemisa ludoviciana*, *Brickellia veronicifolia* y *Lepidium virginicum* contra las bacterias y hongos fitopatógenos evaluados en este trabajo.

Los resultados obtenidos indican que el extracto hidroalcohólico de *B. veronicifolia* tuvo la mejor actividad frente a las bacterias gram positivas y gram negativas. *Xanthomonas campestris* fue la bacteria más sensible al extracto hidroalcohólico de *B. veronicifolia*. Mientras que el extracto de *L. virginicum* presentó un efecto bactericida para la misma cepa.

Respecto a la actividad antifúngica *B. veronicifolia* tuvo la mejor actividad frente a las cepas de *Fusarium oxysporum* y *Monilinia fructicola*.

En cuanto al contenido de flavonoides totales y actividad antioxidante los extractos de *A. ludoviciana* y *B. veronicifolia* presentaron los valores más altos.

Cabe mencionar que, para considerar el uso de las plantas evaluadas como potenciales antimicrobianos, se deben realizar ensayos *in situ*, análisis fitoquímicos, evaluar los niveles de toxicidad, así como hábitos de crecimiento y disponibilidad de las plantas.

CAPITULO VII

7 Trabajos a futuro

Actualmente crece el interés por la identificación, la caracterización y el aislamiento de metabolitos secundarios con actividades biológicas. Los cuales se puedan utilizar como alternativas al uso de productos químicos para el control de plagas y enfermedades en los cultivos agrícolas. Por lo anterior, como complemento a los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, se sugiere realizar la identificación y cuantificación de los compuestos bioactivos presentes en los extractos evaluados de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*. Dado que de acuerdo a los resultados obtenidos el contenido de polifenoles tiene relación con la actividad antioxidante y antimicrobiana, la identificación de dichos compuestos se puede realizar por métodos como la resonancia magnética nuclear (RMN) a través de la cual se puede conocer la estructura molecular, la cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas (GC.MS) que permite la identificación de compuestos utilizando bases de datos de biomoléculas previamente conocidas, así como la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) para la identificación y cuantificación de biomoléculas.

Como parte de los ensayos se sugiere el fraccionamiento de los extractos vegetales con actividad antimicrobiana, dado que de acuerdo a los resultados obtenidos es importante identificar el compuesto o el grupo de compuestos responsables de dicha actividad.

Respecto a la actividad antifúngica es recomendable evaluar concentraciones de extracto superiores a las reportadas en este trabajo; sin embargo, se debe valorar si dichas concentraciones son convenientes respecto al rendimiento de extracto obtenido.

CAPÍTULO VIII

8 Anexos

8.1 Constancia de identificación de material vegetal de *Artemisa ludoviciana*, *Lepidium virginicum* y *Brickellia veronicifolia*.


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
 Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería
Institute of Engineering and Basic Sciences
 Área Académica de Biología
Department of Biology

Mineral de La Reforma, 10 de mayo de 2022.

C. Adriana Hernández García
 Estudiante de Maestría en Ciencias y Tecnología Agrícola Forestal Sustentable
 ICAP, UAEH.

Por este medio hago constar que se recibe un total de 3 vouchers que se indican a continuación, material que forma parte del proyecto "Evaluación de la actividad microbiana de extractos vegetales de *Artemisa ludoviciana* (Will. ex Spreng.) D.D. Keck, *Brickellia veronicifolia* (Kunth) A. Gray y *Lepidium virginicum* L. sobre hongos fitopatógenos", bajo la dirección del Dr. Alfredo Madariaga Navarrete, desarrollada en la Maestría en Ciencias y Tecnología Agrícola Forestal Sustentable, ICAP-UAEH.

Como señala en el oficio entregado a este herbario (con fecha 03 de mayo, 2022, recibido el mismo día), se recibieron 3 vouchers al herbario HGOM, cuya identificación botánica fue verificada por los abajo firmantes, como se indica a continuación:

Especie	Colector y #	Localidad	# de vouchers
<i>Brickellia veronicifolia</i> (Kunth) A. Gray (Asteraceae)	A. Hernandez García # 1	Santa María Ajoloapan, Tecámac, Edo. México	1
<i>Lepidium virginicum</i> L. (Brassicaceae)	A. Hernandez García # 2	Santa María Ajoloapan, Tecámac, Edo. México	1
<i>Artemisa ludoviciana</i> Nutt. (Asteraceae)	A. Hernandez García # 3	Santiago Tulantepec, Tulancingo, Hgo.	1

El material que se recibe montado junto con la información de las etiquetas.

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

CS WORLD RESEARCH UNIVERSITY 2020 RANKING 2020

THE QUALITY ASSURANCE

www.uaeh.edu.mx

8.2 Actividades de producción científica

8.2.1 Memoria en extenso del Congreso 17a. Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales, mayo de 2022

Rev. Mex. Inv. Prod. Nat. 2022, 1 (Supl. Especial)

Compuestos fenólicos y actividad antioxidante en extractos de *Brickellia veronicifolia* (Kunth) A. Gray.

Adriana Hernández García,¹ César Uriel López Palestina², Ashutosh Sharma³, Eliazar Aquino Torres¹, Judith Prieto Méndez⁴, Alfredo Madariaga Navarrete⁵.

¹Área Académica de Ciencias Agrícolas y Forestales, ²Área Académica de Ingeniería Agroindustrial e Ingeniería en Alimentos, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Rancho Universitario Av. Universidad km 1, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Ex-Hda de Aquezalpa, Tulancingo, Hidalgo 43600, México. ³Centro de Biotecnología Tecnológico de Monterrey Campus Querétaro. ⁴alfredo_madariaga@uaeh.edu.mx.

Palabras clave: Extractos vegetales, *Brickellia veronicifolia*.

INTRODUCCIÓN

Las especies vegetales, parte de la flora medicinal, son fuente natural de metabolitos secundarios como terpenos, flavonoides y alcaloides, que están relacionados con propiedades antioxidantes y antimicrobianas.^[1] *Brickellia veronicifolia*, conocida como orégano de monte,^[2] pecho o hierba dorada, es utilizada para curar enfermedades gastrointestinales y valorada por su actividad antioxidante e hipoglucémica.^[3,7] El objetivo del presente trabajo fue obtener extractos etanólicos de *B. veronicifolia* para evaluar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron partes aéreas de *B. veronicifolia*, en Tecámac, Estado de México. Las muestras se separaron en hoja y tallo, posteriormente se secaron y pulverizaron. El método de extracción fue por baño ultrasónico,^[4] usando etanol al 96% como disolvente. Se determinó el contenido de fenoles totales,^[5] flavonoides^[6] y la actividad antioxidante por el método de 2,2'-difeni-1-picrilhidrazilo (DPPH)^[7] y 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS+).^[8] Los datos se analizaron mediante ANOVA y una comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$). Además de una correlación entre los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto etanólico en hoja presentó el mayor rendimiento; sin embargo, el porcentaje es menor a los reportados en extracto etanólico de hojas de *Ageratum conyzoides* L. (25.40%)^[9]. Referente a la actividad antioxidante, el extracto de hoja presentó la mayor actividad ABTS, comparado con el ensayo DPPH. El extracto de hoja también mostró el mayor contenido de fenoles totales. De acuerdo a los valores obtenidos existe alta correlación ($r=0.99$, $p<0.005$) entre el contenido de fenoles y el ensayo ABTS. (Tabla 1).

Tabla 1. Rendimiento del extracto, contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de hoja y tallo de *Brickellia veronicifolia*.

Tratamientos	Hoja	Tallo
% Rendimiento	4.23*	2.37*
Fenoles totales (mg EAG/g)	63.47*	54.27*
Flavonoides (mg EQ/g)	397.11*	260.70*
ABTS (μ M Trolox/g)	149.02*	115.49*
DPPH (μ M Trolox/g)	79.86*	78.50*

* * Letras diferentes en las filas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey $p \leq 0.05$) entre tratamientos.

CONCLUSIONES

El extracto etanólico de hoja presenta un mayor rendimiento, además de un alto contenido de fenoles totales y flavonoides; por lo tanto, una mayor actividad antioxidante.

AGRADECIMIENTOS

La autora agradece el apoyo brindado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) a través de la beca No. 790929.

REFERENCIAS

- Andrade-Cetto, A.; Heinrich, M. *Journal of ethnopharmacology* **2005**, *99*, 325-348.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. *LWT-Food science and Technology*, **1995**, *28*, 25-30.
- Cheng, C. C.; Yang, M. H.; Wen, H. M.; & Chen, J. C. *Journal of food and drug analysis*, **2002**, *10*, 3.
- Cornejo-Castro, N.; Kufu, M. *Gressa y Acetosa*, **2021**, *72*, 369.
- Palacio-Espinosa, F.; Dávila-Campos, M.; Maiz, R. *Journal of ethnopharmacology*, **2008**, *118*, 448-454.
- Palat, F. R.; Modi, N. R. *International Journal of Botany Studies*, **2021**, *6*, 1152-1162.
- Pérez G. R. M.; Vargas S. R.; Martínez M. F. J.; Cordova R. L. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, **2004**, *18*, 5, 429-430.
- Ru, R.; Pellegrini, N.; Protopopescu, A.; Panzola, A.; Yang, M. *Free radical biology and medicine*, **2002**, *26*, 1231-1237.
- Villa M. A.; Pérez L. R.; Morales M. H. A.; Beasato S. M.; Soto P. J. M.; Martínez E. E. *Acta Agronómica*, **2015**, *64*, 194-205.
- Weerman, P. G.; Moiz, S. *Blackwell Scientific*, **1994**, 210-230.

17a. Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales 40

8.2.2 Constancia de participación en el Congreso 17a. Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales, mayo de 2022



8.2.3 Memoria en extenso del Congreso Academia Journals Hidalgo 2022

Artículos del Congreso Internacional de Investigación Academia Journals Hidalgo 2022

Hidalgo, México
19-21 de octubre de 2022

© Academia Journals 2022

Compuestos Fenólicos y Actividad Antioxidante en Extractos de *Artemisa ludoviciana* Nutt.

Hernández García A¹, Dr. Alfredo Madariaga Navarrete², Dr. Cesar Uriel López Palentina³ y Dra. Eliazar Aquino Torres⁴

Resumen—Las especies vegetales son fuente natural de metabolitos secundarios como terpenos, flavonoides y alcaloides, que están relacionados con propiedades antioxidantes y antimicrobianas. *Artemisa ludoviciana* Nutt. conocida como estafate, es valorada en la medicina tradicional por su actividad antiparasitaria, antihelmíntica, antiespasmódica y antibacteriana. El objetivo fue obtener extractos etanólicos por baño ultrasonico de *A. ludoviciana* y evaluar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante (DPPH•, ABTS•+). El extracto de raíz presentó el mayor contenido de fenoles totales (99.39 mg EAG/g), mientras que el extracto de hoja presentó el mayor contenido de flavonoides (395.85 mg EG/g), respecto a la actividad antioxidante el mejor resultado se presentó en extracto de hoja y con el ensayo ABTS (188.34 µM Trolox/g). El extracto de *A. ludoviciana* presentó alto contenido de flavonoides, por lo tanto, una mayor actividad antioxidante.

Palabras clave—*Artemisa ludoviciana*, fenoles, flavonoides, antioxidante.

Introducción

México es uno de los países con mayor diversidad vegetal en el mundo, estimándose que tiene entre 23,000 y 30,000 especies de plantas (Belmont et al., 2000). Dentro de la amplia biodiversidad de plantas vasculares, se considera que 3000 de ellas son valoradas por sus propiedades medicinales. Pocas de ellas han sido estudiadas, sin embargo, se sabe que sintetizan una gran diversidad de compuestos bioactivos entre los que se encuentran compuestos químicos como terpenos, flavonoides, alcaloides, fenoles y taninos, los cuales están presentes en diferentes órganos de las plantas como son las hojas, tallo, raíz, flor, semilla o fruto (Hernández-Pérez et al., 2022). Los compuestos más importantes como los polifenoles, ácidos fenólicos y flavonoides se consideran poseen propiedades antioxidantes, lo que les atribuye propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y anticarcinógenas (Joaquín-Ramos et al., 2020).

La familia Asteraceae es uno de los grupos más numerosos con una distribución mundial de 100 géneros y 2,500 especies. En la clasificación de esta familia se encuentra *Artemisa ludoviciana* Nutt. (Ávila-Lirio et al., 2016). *A. ludoviciana* es una planta aromática, ampliamente conocida en la medicina tradicional mexicana, que se caracteriza por su sabor amargo, (Rivero-Cruz et al., 2017), dependiendo del lugar de origen, recibe diferentes nombres como estafate (Delgado Ruiz et al., 2017), estafate o artemisa. Algunos estudios han reportado actividades biológicas asociadas con *A. ludoviciana*, tales como actividad antiparasitaria, antihelmíntica, antiespasmódica, antifúngica y antibacteriana (Istrido-Soto et al., 2012). Como antecedente sobre su uso en la medicina tradicional se ha reportado que el extracto alcohólico de las partes aéreas se aplica sobre la piel como cataplasmas para el dolor y la inflamación, mientras que la inhalación de plantas se usa para tratar enfermedades respiratorias como resfriados y bronquitis. Otra evaluación *in vitro* del extracto acuoso de *A. ludoviciana* reveló su actividad como agente anti-*Salicobacter pylori*, además se sabe que el extracto de la planta fue bien tolerado y no provocó ningún efecto tóxico visible (Palencia-espinoza et al., 2021). Recientemente se ha revelado el potencial como agente hipoglucémico y antihiperlipemizante (Araya-Eugenio et al., 2014; Palencia-espinoza et al., 2021). Varios estudios sobre los componentes químicos de *A. ludoviciana* han permitido la identificación de más de 70 compuestos. Los principales grupos están representados por monoterpenos (Alcarilol, linoeno), lactonas sesquiterpénicas (Estafiatina y ludovicina) y flavonoides (Isopurilina y jacosidina) (Abad Martínez et al., 2012; Araya-Eugenio et al., 2016; Damián Barillo et al., 2010).

¹ Hernández García A. es estudiante de posgrado en el Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México. ha123770@uah.edu.mx (autor correspondiente)

² El Dr. Alfredo Madariaga Navarrete es profesor en Área Académica de Ciencias Agrícolas y Forestales en el Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México. alfredo_madariaga@uah.edu.mx

³ El Dr. Cesar Uriel López Palentina es profesor en Área Académica de Ingeniería Agroindustrial e Ingeniería en Alimentos en el Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México. cesar_lopez@uah.edu.mx

⁴ La Dra. Eliazar Aquino Torres es profesora en Área Académica de Ciencias Agrícolas y Forestales en el Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México. emai@uah.edu.mx

ISSN online 1868-2021
Vol. 14, No. 8, 2022

237

ACADEMIA JOURNALS

8.2.4 Certificado de participación en el Congreso Academia Journals Hidalgo 2022

