

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Actividad Inhibitoria *in vitro* De Extractos De *Hamelia patens* Jacq (Rubiaceae)  
Sobre *Rhizoctonia solani* Kühn (Ceratobasidiaceae)

Por:

**MÓNICA CITLALI RODRÍGUEZ NAVARRO**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Saltillo, Coahuila, México

Abril 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Actividad Inhibitoria *in vitro* De Extractos De *Hamelia patens* Jacq (Rubiaceae)  
Sobre *Rhizoctonia solani* Kühn (Ceratobasidiaceae)

Por:

**MÓNICA CITLALI RODRÍGUEZ NAVARRO**

TESIS

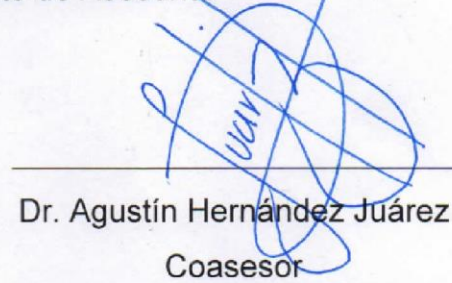
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

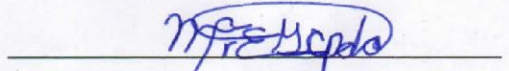
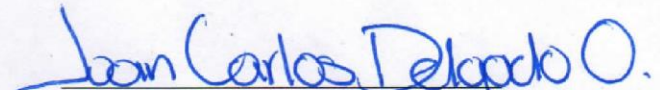
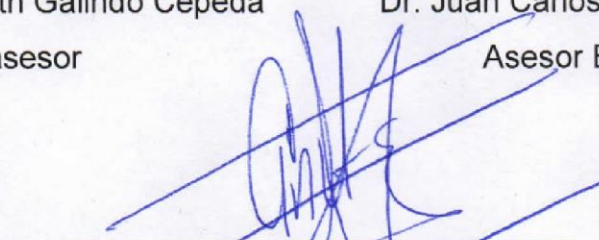
Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Epifanio Castro del Ángel  
Asesor Principal Interno



Dr. Agustín Hernández Juárez  
Coasesor

  
Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda  
Coasesor  
Dr. Juan Carlos Delgado Ortiz  
Asesor Externo  
Dr. José Antonio González Fuentes  
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Abril 2022

## DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (autoplagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante

Móny C Rodríguez N.  
Mónica Citlali Rodríguez Navarro  
Firma y Nombre

## AGRADECIMIENTOS

A **DIOS**, por darme la fuerza necesaria para terminar este proyecto que es un paso más en la vida para cumplir mis metas y sueños; gracias por todo lo que me has dado y las oportunidades que me ha presentado en la vida para seguir adelante.

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** por el financiamiento del proyecto “Actividad antifúngica de extractos de *Hamelia patens* para el biocontrol *in vitro* de *Rhizoctonia solani* de la papa” con clave de registro 38111- 425101001-2453 ante la Dirección de Investigación.

A mi **ALMA TERRA MATER**, por formarme profesionalmente dándome lo necesario para desarrollarme en el campo laborar en una de las mejores áreas que es la agronomía.

Al **Dr. Epifanio Castro del Ángel** por darme la oportunidad de realizar este proyecto con él y por apoyarme durante todo el transcurso; dedicándome parte de su tiempo cuando yo tenía dudas y el aun así se tomó la molestia para explicarme pacientemente, y que a pesar de que estuvimos en pandemia estuvo para mí.

Al **Dr. Agustín Hernández Juárez** por la facilitación del equipo rotavapor que se requirió para la elaboración de los extractos y por la revisión y comentarios al escrito.

A la **Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda** por la revisión y comentarios al escrito.

Al **Dr. Juan Carlos Delgado Ortiz** por la revisión y comentarios al escrito.

A la **T. A. María Cristina Sánchez Flores** por todas las atenciones brindadas, el apoyo, el material y equipos que requerí durante todo el tiempo en que estuve trabajando.

A **los maestros** que contribuyeron para mi formación profesional, por su apoyo, comprensión y conocimiento que me brindaron lo cual es de suma importancia al momento de ejercerme profesionalmente.

A **mis amigos y compañeros** que estuvieron para mí cuando necesite de su apoyo, que a pesar de que fueron pocos estuvieron ahí durante toda mi estancia en la UAAAN.

## **DEDICATORIAS**

### **A mis padres:**

María Elena Navarro Gutiérrez y Rafael Rodríguez Martínez, que amo tanto y agradezco todo lo que me han brindado desde el amor y apoyo durante el paso del tiempo y que siempre han creído en mí dándome la oportunidad de cumplir esta meta que no solo es mía sino también de ustedes. Agradezco y estoy orgullosa de que sean un ejemplo para mí y mis hermanos de nunca darnos por vencidos y siempre seguir adelante a pesar de las dificultades que se presentan en la vida.

### **A mis hermanos:**

Félix Rafael, Jorge Alberto, Pedro, Xóchitl Mariana, Ana Alejandra, José Manuel Rodríguez Navarro, los amo a todos y estoy agradecida de tenerlos a todos conmigo y aunque no siempre nos reunamos saben que cuentan conmigo en cualquier momento tanto física como emocionalmente.

<b>ÍNDICE DE CONTENIDO</b>	
<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>4</b>
<b>DEDICATORIAS.....</b>	<b>6</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>IV</b>
<b>ÍNDICE DE GRÁFICAS.....</b>	<b>V</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>VI</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>VII</b>
<b>1.- INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1.- OBJETIVOS.....	2
1.1.2.- Objetivo general.....	2
1.1.3.- Objetivos específicos.....	2
1.2.- HIPÓTESIS.....	3
<b>2.- REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
2.1.- CULTIVO DE PAPA.....	4
2.1.2.- Origen del cultivo.....	4
2.1.3.- Caracterización.....	4
2.1.4.- Importancia económica.....	5
2.1.5.- Problemática del cultivo.....	5
2.2.- RIZOCTONIASIS.....	6
2.2.2.- Antecedentes de la costra negra en papa.....	6
2.2.3.- Síntomas y signos.....	7
2.2.3.2.- En plantas.....	8
2.2.3.3.- En estolones.....	8
2.2.3.4.- En raíces.....	8
2.2.3.5.- En la base del tallo.....	9
2.2.3.6.- En tubérculos.....	9
2.2.3.7.- En plántulas.....	9
2.2.4.- Agente causal.....	10
2.2.4.2.- Caracterización del hongo.....	10
2.2.4.3.- Condiciones predisponentes.....	11
2.2.4.4.- La diseminación de <i>Rhizoctonia solani</i> .....	11

2.2.4.5.- Ciclo de la enfermedad.....	12
2.2.4.6.- Grupos de anastomosis.....	13
2.2.4.7.- Importancia.....	14
2.2.4.8.- Epidemiología.....	14
2.2.4.9.- Medidas de prevención.....	15
2.3.- CONTROL BIOLÓGICO.....	15
2.3.2.- Ventajas del control biológico.....	16
2.3.3.- Extractos vegetales.....	16
2.3.3.2.- Extractos vegetales y metabolitos bioactivos de las plantas.....	17
2.3.3.3.- Métodos de extracción y caracterización de extractos vegetales.....	17
2.3.3.4.- Evaluación de actividad biológica de extractos vegetales en hongos fitopatógenos.....	18
2.3.3.5.- Especies vegetales con reporte de actividad antifúngica.....	19
2.4.- <i>Hamelia patens</i> .....	23
2.4.2.- Descripción morfológica de <i>Hamelia patens</i> .....	24
2.4.3.- Categorías taxonómicas superiores.....	24
2.4.4.- Origen y distribución geográfica.....	25
2.4.5.- Composición fitoquímica de extractos etanólicos y metanólicos de hojas de <i>Hamelia patens</i> Jacq.....	25
2.4.6.- Usos.....	26
2.4.7.- Actividad biológica e investigación clínica.....	26
<b>3.- MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
3.1.- LOCALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO.....	28
3.2.- COLECTA DEL MATERIAL.....	28
3.3.- AISLAMIENTO DEL FITOPATÓGENO.....	28
3.3.2.- Purificación del fitopatógeno.....	29
3.3.3.- Identificación del fitopatógeno.....	29
3.4.- OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES.....	29
3.5.- IDENTIFICACIÓN DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS PRESENTES EN LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y METANÓLICOS CONCENTRADOS.....	30
3.6.- PRUEBAS RÁPIDAS.....	31



3.7.- ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LOS EXTRACTOS.....	31
3.7.2.- Inhibición in vitro de <i>R. solani</i> con extractos crudos de <i>H. patens</i> .....	31
3.7.3.- Inhibición in vitro de <i>R. solani</i> con extractos concentrados de <i>H. patens</i> ..	32
<b>4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>33</b>
4.2.- AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DEL FITOPATÓGENO.....	33
4.3.- IDENTIFICACIÓN DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS PRESENTES EN LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y METANÓLICOS CONCENTRADOS.....	33
4.4.- EXTRACTOS CRUDOS.....	35
4.4.2.- Extracto acuoso.....	35
4.4.3.- Extracto metanólico.....	37
4.4.4.- Extracto etanólico.....	38
4.5.- EXTRACTOS CONCENTRADOS.....	39
4.5.2.- Extracto etanólico a 90°C.....	39
4.5.3.- Extracto etanólico a 86°C.....	40
4.5.4.- Extracto etanólico a 82°C.....	41
4.5.5.- Extracto etanólico a 78°C.....	42
4.5.6.- Extracto metanólico a 82°C.....	43
4.6.- INHIBICIÓN in vitro DE <i>Rhizoctonia solani</i> CON EXTRACTOS CRUDOS DE <i>Hamelia patens</i> .....	44
4.7.- INHIBICIÓN in vitro DE <i>Rhizoctonia solani</i> CON EXTRACTOS CONCENTRADOS DE <i>Hamelia patens</i> .....	46
4.8.- MEDIAS DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LOS EXTRACTOS DE <i>Hamelia patens</i> CONCENTRADOS VERSUS CRUDOS.....	47
<b>5.- CONCLUSIONES.....</b>	<b>49</b>
<b>6.- LITERATURA CITADA.....</b>	<b>50</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>70</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Especies vegetales con actividad antifúngica .....	19
Tabla 2. Composición fitoquímica de extractos de <i>Hamelia patens</i> (Fontanills et al., 2018). .....	25
Tabla 3. (Taylor, 2005). Usos de <i>Hamelia patens</i> .....	26
Tabla 4. Compuestos presentes en el extracto etanólico de <i>H. patens</i> .....	34
Tabla 5. Compuestos presentes en el extracto metanólico de <i>H. patens</i> . .....	35
Tabla 6. Porcentaje de inhibición <i>in vitro</i> de los extractos crudos de <i>Hamelia patens</i> contra <i>Rhizoctonia solani</i> . .....	45
Tabla 7. Porcentaje de inhibición <i>in vitro</i> de los extractos concentrados de <i>Hamelia patens</i> contra <i>Rhizoctonia solani</i> . .....	46
Tabla 8. Resultados del análisis de varianza de la inhibición del extracto acuoso de <i>H. patens</i> contra <i>R. solani</i> de la papa. ....	76
Tabla 9. Resultados del análisis de varianza de la inhibición del extracto crudo etanólico de <i>H. patens</i> contra <i>R. solani</i> de la papa. ....	76
Tabla 10. Resultados del análisis de varianza de la inhibición del extracto crudo metanólico de <i>H. patens</i> contra <i>R. solani</i> de la papa. ....	77
Tabla 11. Resultados del análisis de varianza de la inhibición del extracto etanólico concentrado a 90°C de <i>H. patens</i> contra <i>R. solani</i> de la papa.....	77
Tabla 12. Resultados del análisis de varianza de la inhibición del extracto etanólico concentrado a 86°C de <i>H. patens</i> contra <i>R. solani</i> de la papa.....	78
Tabla 13. Resultados del análisis de varianza de la inhibición del extracto etanólico concentrado a 82°C de <i>H. patens</i> contra <i>R. solani</i> de la papa.....	78
Tabla 14. Resultados del análisis de varianza de la inhibición del extracto etanólico concentrado a 78°C de <i>H. patens</i> contra <i>R. solani</i> de la papa.....	79
Tabla 15. Resultados del análisis de varianza de la inhibición del extracto metanólico concentrado a 82°C de <i>H. patens</i> contra <i>R. solani</i> de la papa. ....	79

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Dinámica de crecimiento de <i>Rhizoctonia solani</i> en contacto con extracto crudo acuoso de <i>H. patens</i> . .....	36
Gráfica 2. Crecimiento de <i>Rhizoctonia solani</i> bajo el efecto de extracto crudo metanólico de <i>H. patens</i> . .....	38
Gráfica 3. Desarrollo de <i>Rhizoctonia solani</i> bajo el contacto con extracto crudo etanólico de <i>H. patens</i> . .....	39
Gráfica 4. Crecimiento de <i>Rhizoctonia solani in vitro</i> bajo la influencia del extracto concentrado a 90°C a base de etanol de <i>Hamelia patens</i> . .....	40
Gráfica 5. Desarrollo de <i>R. solani in vitro</i> en presencia del extracto concentrado a 86°C a base de etanol de <i>Hamelia patens</i> . .....	41
Gráfica 6. Crecimiento del ciclo de <i>Rhizoctonia solani in vitro</i> bajo el dominio del extracto concentrado etanólico de <i>H. patens</i> a 82°C. .....	42
Gráfica 7. Crecimiento de <i>R. solani</i> con la influencia del extracto etanólico de <i>H. patens</i> concentrado a 78°C. ....	43
Gráfica 8. Proceso de desarrollo de <i>Rhizoctonia solani in vitro</i> al contacto con el extracto metanólico concentrado a 82°C de <i>Hamelia patens</i> . ....	44
Gráfica 9. Comparación de los extractos concentrados vs crudos de <i>H. patens</i> . .....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Corte del esclerocio .....	70
Figura 2. Lavado .....	70
Figura 3. Secado.....	70
Figura 4. Siembra.....	70
Figura 5. Purificación del hongo.....	71
Figura 6. Identificación .....	71
Figura 7. <i>R. solani</i> .....	71
Figura 8. Pulverización.....	72
Figura 9. Depósito de <i>H. patens</i> .....	72
Figura 10. Mezcla.....	72
Figura 11. Agitación .....	72
Figura 12. Filtrado .....	73
Figura 13. Centrifugado .....	73
Figura 14. Establecimiento.....	73
Figura 15. Periodo de crecimiento .....	73
Figura 16. Desinfección .....	74
Figura 17. Establecimiento de tratamientos .....	74
Figura 18. Incubación.....	74
Figura 19. Preparación de concentraciones (extractos crudos) .....	75
Figura 20. Establecimiento del experimento .....	75
Figura 21. Preparación de concentraciones (extractos concentrados) .....	75
Figura 22. Incubación.....	75

## RESUMEN

La papa (*Solanum tuberosum*) es el cultivo alimentario más importante del mundo; tiene varios problemas fitosanitarios como son las enfermedades causadas por hongos: *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Verticillium* spp., y organismos parecidos a hongos como lo es *Phytophthora infestans*, entre otras. En la última década, los sistemas agrícolas han dependido excesivamente del uso de agroquímicos para el control de malezas, insectos y enfermedades de las plantas, lo que ha generado graves problemas sobre la salud humana y el ambiente; entre estos problemas, se cita la reducción de la biodiversidad como uno de los más importantes, seguido de efectos negativos en la salud del suelo. El objetivo de la presente investigación fue estudiar el efecto de control *in vitro* de extractos crudos y concentrados de *Hamelia patens* sobre *Rhizoctonia solani* del cultivo de papa. Se prepararon extractos a base de etanol, metanol y acuosos crudos y concentrados. La inhibición del fitopatógeno se evaluó por la técnica de difusión en placa, cada 24 horas se determinó el crecimiento micelial del fitopatógeno hasta que la caja Petri del patógeno testigo llenó la placa Petri. Los resultados de inhibición fueron procesados por análisis de varianza y prueba de separación de media por Tukey al 0.05 de significancia. Los resultados obtenidos fueron que todos los extractos inhibieron el crecimiento de *R. Solani* en diferentes niveles de inhibición; destacando la mayor efectividad con los extractos crudos, principalmente los extractos acuosos.

Palabras clave: Biocontrol, costra negra de la papa, crecimiento radial, extractos vegetales.

## 1.- INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum*) es de los cultivos más importantes a nivel mundial, la demanda ha aumentado en países como Colombia, Brasil, Argentina y México y es considerado de los principales cultivos a nivel mundial, por debajo de la caña de azúcar, maíz, arroz, y trigo (FAO, 2016).

De una amplia gama de patógenos que atacan los cultivos, los grupos que más enfermedades ocasionan son los hongos y las bacterias, causando grandes pérdidas por año (Cristóbal-Alejo *et al.*, 2013). Entre los patógenos más importantes de la papa, se resaltan *Phytophthora infestans*, el hongo *Rhizoctonia solani* (Caro *et al.*, 2019) y las bacterias del género *Pectobacterium* (Pérez *et al.*, 2015).

*Rhizoctonia* es un hongo que se encuentra de forma natural en el suelo de los campos agrícolas, jardines, etc. Produce esclerocio, una estructura de consistencia dura y de color marrón oscuro que le permite sobrevivir en el suelo o infectar tejido vegetal por años (Lawson, 2018).

La medida de manejo más común es la aplicación de fungicidas sintéticos durante la siembra y las primeras etapas de crecimiento de la planta, principalmente de grupo químicos triazoles, carboximidazoles, pirazoles; cuyo modo de acción afecta a la enzima succinato deshidrogenasa de tal manera que bloquea la respiración del hongo (Xiong *et al.*, 2015). Su uso frecuente por bastante tiempo puede ser la causa de las nuevas variantes que han aparecido de *Rhizoctonia solani* con características de resistencia a los productos utilizados (Villareal, 2013; Betancourth *et al.*, 2020).

Debido a esto se ve en la necesidad de evaluar otras medidas de manejo integrando el uso de cultivares tolerantes, uso adecuado de plaguicidas con diferentes mecanismo de acción, rotación de cultivos, incorporación de abonos verdes, usos de extractos vegetales, entre otros (Betancourth *et al.*, 2020).

En el Manejo de Integrado de Plagas y Enfermedades (MIPE) se destaca el uso de agentes de control biológico como una alternativa sustentable para mitigar los efectos negativos en la productividad y calidad de los cultivos agrícolas causada por enfermedades; lo cual permite la producción de alimentos inocuos disminuyendo los costos de producción agrícola (Tena *et al.*, 2015).

Por lo que, en la actualidad; la iniciativa y tendencias están presentando el desarrollo de plaguicidas biológicos; estas alternativas incluyen estimulantes de defensa de las plantas, técnicas de control biológico ya que estos productos son obtenidos a partir de plantas y microorganismos (Ondarza- Beneitez, 2017).

*Hamelia patens* es una planta utilizada en la medicina tradicional a la que se le asocian propiedades antimicrobianas, analgésicas, y antiinflamatorias, a la cual se le ha determinado metabolitos (alcaloides, terpenos, esteroides y flavonoides) que cumplen estas funciones en la planta (Ríos y Aguilar, 2006).

## **1.1.- Objetivos**

### 1.1.2.- Objetivo general.

Estudiar el efecto de control *in vitro* de extractos crudos y concentrados de *Hamelia patens* sobre *Rhizoctonia solani* del cultivo de papa.

### 1.1.3.- Objetivos específicos.

- 1- Aislar e identificar el patógeno de la costra negra de la papa.

- 2- Estudiar la inhibición *in vitro* de extractos crudos y concentrados de *H. patens* a base de agua, etanol y metanol sobre el crecimiento y desarrollo de *R. solani*.
- 3- Determinar los compuestos fitoquímicos de los extractos con alta inhibición.

## **1.2.- Hipótesis**

Al menos un extracto de *Hamelia patens* tendrá efecto de control en el crecimiento y desarrollo de *R. solani* bajo condiciones *in vitro*.



## **2.- REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1.- Cultivo De Papa**

En el año 2020 se reporta 21 estados productores de papa en un ciclo de desarrollo de primavera-verano y otoño invierno con una superficie sembrada de 61 532.44 ha con un rendimiento promedio de 31.94 toneladas por hectárea, lo que represento un volumen de producción de 1, 943,910.46 toneladas (SIAP, 2020).

#### 2.1.2.- Origen del cultivo

Los orígenes de la papa datan de la cordillera de los Andes, en el altiplano andino. Se considera que se originó en el sur de Perú, al norte del lago Titicaca (Spoonner y Hetterscheid, 2005) de ahí se expandió a Argentina y Chile (Morales, 2007).

#### 2.1.3.- Caracterización

Planta suculenta, herbácea, que presenta tubérculos (tallos subterráneos), los cuales se desarrollan al final de los estolones que nacen del tallo principal. Los tallos aéreos son de sección angular, y entre las axilas de las hojas y los tallos se forman ramificaciones secundarias (Harris, 1978; Otiniano, 2017).

La papa consta de raíces, tallos, estolones, tubérculos, brotes, hojas, inflorescencia, flor, fruto y semilla. Las plantas provenientes de semillas verdaderas tienen un solo tallo principal y pueden llegar a producir varios tallos, los tallos laterales son ramas de los tallos principales. Tiene la función de emitir raíces adventicias por lo que son ampliamente utilizadas en la multiplicación vegetativa y puede transformarse en órgano de reserva e incluso realizar la fotosíntesis mientras se mantenga verde por la presencia de clorofila en él (Araque Barrera *et al.*, 2021).

#### 2.1.4.- Importancia económica

La papa está ubicada entre los primeros cuatro cultivos de mayor importancia en el mundo, sólo después del arroz (*Oriza sativa* L), trigo (*Triticum aestivum* L) y maíz (*Zea mays* L); con una producción de 370, 436,581 toneladas, de una superficie de 17,340,986 ha, con un rendimiento promedio de 21.4 toneladas por hectárea; entre los principales países productores se encuentran China con una producción de 90, 321,442 t/año, India con 48, 529,000 t/año, Ucrania con 22, 503,970 t/año, España con 2, 010,933 t/año (Atlas, 2021). En México el cultivo se produce a lo largo y ancho de toda la República, pero principalmente en 21 estados; los estados de Sonora (26% del total), Sinaloa (23.8%), Veracruz (11.7%), Estado de México (8.7%) y otros como Puebla, Nuevo León, Baja California Sur y Jalisco; que son los de mayor importancia, debido a sus niveles de intercambio comercial. En estas zonas se concentra un 89.5% de todo el volumen que cosecha el país, lo cual representa el 67.7% de las ganancias por exportaciones (INIFAP, 2020).

#### 2.1.5.- Problemática del cultivo de papa

A pesar de su importancia económica, este cultivo presenta una variedad de problemas, destacando la escasa disponibilidad de semilla tubérculo de calidad fitosanitaria (se requieren de 1 a 2 toneladas por hectárea), por lo que es necesario importar volúmenes considerables, ya que la que se produce en México no es suficiente. Así también la alta incidencia de plagas y enfermedades dificulta la

movilización de la semilla hasta en un 40 %, situación que se agrava por el manejo deficiente del cultivo en la mayoría de las zonas productivas (INIFAP, 2019).

Las plagas y las enfermedades de suelo pueden ser problemas recurrentes en la producción del cultivo de papa. Enfermedades de tubérculos y tallos causadas por *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Alternaria solani*, afectan y disminuyen significativamente la productividad del cultivo además de afectar la calidad de producción (Martínez *et al.*, 2007; González, 2009).

## **2.2.- Rizoctoniasis**

La rizoctoniasis conocida también con los nombres de costra negra (por la presencia de esclerocios en la superficie de los tubérculos afectados) y cancro del tallo (por las lesiones necróticas en los tallos), es una enfermedad que está presente en todas las zonas productoras de papa del mundo (Frank, 1981).

La enfermedad afecta la calidad culinaria y sanitaria de los tubérculos, pero en relación con las pérdidas en los rendimientos, en la literatura existen reportes contradictorios. Algunos dicen que la enfermedad afecta los rendimientos, otros dicen que no (Castro, 1989).

### **2.2.2.- Antecedentes de costra negra en papa**

Hace más de 100 años, Julius Kühn observó un hongo en tubérculos de papa enfermos y lo nombró *Rhizoctonia solani* (Parmeter, 1969). *R. solani* Kühn (Teleomorfo: *Thanatephorus cucumeris* Frank) es la especie más importante de *Rhizoctonia* ya que afecta a una gran variedad de cultivos en todo el mundo (Pascual, 2000; Gurav *et al.*, 2018; Kara y Arici, 2019).

En el cultivo de papa, se considera que *R. solani* ocasiona una de las principales enfermedades del tubérculo y da lugar a pérdidas considerables, reduciendo la calidad y el rendimiento total hasta en un 31.5% (Carling *et al.*, 1989).

Éste patógeno causa daños severos en el crecimiento de las plántulas ocasionando lesiones en los tallos en más del 90%, la enfermedad es generalmente desapercibida hasta su manifestación extrema, por lo que es difícil la evaluación realista de la incidencia de la infección en campos cultivados con papa; la mayoría de los síntomas distintivos ocurren debajo de la superficie del suelo y el impacto en el producto no se observa hasta la cosecha (CIP, 1983).

Esta enfermedad puede afectar desde la emergencia y durante el crecimiento del cultivo provocando la reducción del rendimiento a campo. La sarna negra reviste gran importancia cuando el tubérculo es utilizado como semilla. Las enfermedades de la papa causadas por *R. solani* ocurren en todas las áreas donde se cultivan las papas y afectan el rendimiento cualitativo de los tubérculos de papa; se han reportado pérdidas de rendimiento de alrededor del 30% (Banville, 1989).

### 2.2.3.- Síntomas y signos

La enfermedad afecta solo los tejidos jóvenes de brotes, tallos y estolones (Torres, 2002), en donde el síntoma característico es la formación de una costra negra debido a la presencia de esclerocios en la superficie del tubérculo. Se observan manchas gris-marrones, negros en ramas, estolones y tallos que con el paso del tiempo y el avance de la enfermedad pueden provocar su estrangulamiento. Los síntomas de la parte aérea de la planta involucran la producción de tubérculos aéreos, amarillamientos y enrollamiento de las hojas. Se observa menor vigor en los brotes secundarios afectando la homogeneidad del lote. Si las infecciones de los estolones se producen al inicio del ciclo del cultivo, puede afectar directamente la formación y el crecimiento de los tubérculos observando deformaciones, protuberancias y sarna negra. El hongo sobrevive saprofitamente en el suelo o sobre la superficie de los tubérculos. Los síntomas de esta enfermedad podrían ser confundidos con la presencia de tierra (Kara y Arici, 2019).

#### 2.2.3.2.- En plantas

La enfermedad afecta a los brotes del tubérculo semilla en los estados de pre y post emergencia. Los brotes afectados muestran en la base lesiones necróticas de color marrón, que cuando son profundas los estrangulan. Sin embargo, aún en este estado, la planta puede desarrollar desde la parte inferior del tallo estrangulado, brotes nuevos, que si no son afectados emergen finalmente del suelo; si las lesiones son más o menos superficiales, la planta afectada se muestra débil y crece lentamente. Posteriormente, cuando las plantas llegan a ser adultas, las lesiones necróticas llamadas también canchros, interfieren en el normal movimiento de nutrientes dando lugar a la formación de tubérculos aéreos en las axilas de las hojas. Los tubérculos aéreos, sin embargo, no son exclusivos de esta enfermedad, porque también se forman por otras causas tales como: el bloqueo de los haces vasculares causado por daños mecánicos, corte parcial del tallo causado por insectos o por patógenos como *Candidatus Liberibater solanacearum*. Otro de los síntomas asociados con la rizoctoniasis es el encarrujamiento de las hojas apicales y esto último ocurre cuando las raíces están afectadas (Torres, 2002).

#### 2.2.3.3.- En estolones.

La enfermedad ataca a los estolones, ocasionando lesiones necróticas que pueden estrangularlos o matarlos. Cuando esto ocurre, los tubérculos que están en pleno desarrollo se quedan pequeños (Torres, 2002).

#### 2.2.3.4.- En raíces

La enfermedad afecta a las raíces y como consecuencia produce enrollamiento de las hojas apicales. En algunos casos este síntoma puede ser confundido con el producido por el virus del enrollamiento de la papa (Torres, 2002), necrosis radical (Escalona *et al.*, 2011).

#### 2.2.3.5.- En la base del tallo

Durante el desarrollo de las plantas en suelos infestados, se puede observar la presencia de una capa miceliana de color blanco grisáceo en la base de los tallos, desde el nivel del suelo hacia arriba en una longitud aproximada de 10 cm. En esta capa se encuentran las estructuras que corresponden a la fase sexual del hongo, la misma que no produce ningún daño a la planta, ya que, al frotarse con la yema de los dedos, el tejido del tallo que estuvo cubierto con esta capa se muestra completamente sano (Torres, 2002; Escalona *et al.*, 2011).

#### 2.2.3.6.- En tubérculos.

En la superficie de los tubérculos afectados se observa la presencia de costras negras, llamadas esclerocios que son las estructuras de conservación del hongo; éstos les dan un mal aspecto a los tubérculos y en un mercado exigente, los tubérculos afectados son rechazados. Este es el caso de países como Costa Rica y/o México, donde dependiendo del porcentaje de tubérculos infectados los rechazan o los cotizan a un menor precio y para evitar este problema, los agricultores lavan los tubérculos y extraen los esclerocios antes de llevar su producto al mercado. Por otra parte, la costra negra resta la calidad sanitaria de los tubérculos cuando son comercializados como semilla (Torres, 2002).

#### 2.2.3.7.- En plántulas

La enfermedad afecta a plántulas procedentes de semilla botánica en el estado de pre y postemergencia. Cuando las plántulas de papa que se han desarrollado en bandejas o en camas de almácigos son trasplantadas al campo, son severamente afectadas por un complejo de patógenos, entre los cuales se encuentra *Rhizoctonia*. La muerte de plántulas trasplantadas, puede llegar en algunos casos hasta un 70% (Martin y Torres, 1989).

#### 2.2.4.- Agente causal

*Rhizoctonia solani*, agente de podredumbre, muy polífaga, puede propagarse rápidamente a una temperatura de 20°C. Se localiza en las capas superiores del suelo donde puede conservarse varios años, en principio ataca la planta a nivel del cuello. El ataque progresa rápidamente hacia el bulbo y el sistema radicular. La turba favorece el desarrollo del hongo. Todo sustrato de este tipo, no desinfectado puede considerarse como potencialmente infectado (Parmeter, 1969).

##### 2.2.4.2.- Caracterización del hongo

Los hongos tienden a reproducirse asexualmente (por esporas asexuales o por filamentos del micelio), o puede ser sexualmente (reúne rasgos de los dos padres, siendo células reproductivas o gametos; en caso de los hongos ocurre cuando dos hifas haploides se reúnen y se fusionan (+) y (-). En la situación de *Rhizoctonia solani* Kühn, esta es la fase asexual, mientras que *Thanatephorus cucumeris* (Frank.) Donk es la fase sexual. *R. solani*, pertenece a la Clase Hyphomycetes; es la fase patogénica y se caracteriza porque no produce conidias, las hifas son de color marrón oscuro formando esclerocios, las células son multinucleadas y la base de la célula que da origen a una ramificación tiene una constricción, setos ramificados partiendo de la hifa principal (Barnett y Hunter, 1998). (Agrios, 2005; Ajayi-Oyetunde y Bradley, 2018) informan que *T. cucumeris* pertenece:

Dominio: Eucariota

Reino: Hongos

Filo: Basidiomycota

Orden: Ceratobasidiales

Familia: Ceratobasidiaceae

Género: *Rhizoctonia*

*Rhizoctonia solani* es un patógeno saprotrófico facultativo (Agrios, 2005). De acuerdo con las características miceliares, este género carece de conexiones de abrazadera, pero posee hifas moniloides anchas, esclerocios y septos doliporo (rodeado por una dilatación del septo en forma de barril). Las hifas vegetativas son más anchas que las del género *Ceratobasidium* aunque no siempre ocurre así, ya que el diámetro hifal puede variar dependiendo de las condiciones *in vitro*; además las hifas hialinas jóvenes de *Thanatephorus* se vuelven marrones con la edad (Sneh *et al.*, 1991).

#### 2.2.4.3.- Condiciones predisponentes

En condiciones de alta humedad relativa, bajas temperaturas y días nublados, el hongo se forma en la base de los tallos aéreos, formando estructuras algodonosas de color blanco, las cuales afectan a la planta y ayudan a la diseminación de la enfermedad (Muzhinji *et al*, 2018).

Es un hongo hidrófilo y termófilo; por debajo de 9°C, ninguna infección puede desarrollarse. Por el contrario, a 20°C, el tiempo de incubación es tan solo de tres días y en ese momento, la propagación de la infección es muy rápida. Es básicamente un hongo de verano (de junio a octubre) o de temporada cálida. Se localiza preferentemente en las capas superiores del suelo (en los dos primeros centímetros) y puede en ausencia de plantas o de condiciones favorables, conservarse varios años. Esta conservación se hace bajo forma de esclerotios, masas de micelio entrelazado, duros y de color sombreado (Lawson, 2018).

#### 2.2.4.4.- La diseminación de *Rhizoctonia solani*

La diseminación se lleva a cabo a través de la lluvia, el riego o el riego por inundación, así como los órganos de propagación infectados o contaminados; debido a que la producción de esporas asexuadas es nula (Agrios, 2005).

Este patógeno está presente sobre una diversidad amplia de plantas hospederas, puede ser cultivado en invernadero u otras plantas cultivadas al exterior de los



invernaderos; en consecuencia, todo suelo no descontaminado es considerado como potencialmente infeccioso. Los esclerocios pueden vivir varios años en estado saprofito sobre restos vegetales germinando sobre la acción de secreciones radicular es emitidas por la planta cuando las condiciones climáticas son favorables. Dotado de una fuerte aptitud saprofita, el micelio se desarrolla rápidamente en el suelo hasta que la planta es infectada (Cyclamen, 2011).

Las condiciones favorables para el desarrollo del patógeno son ph ácido a rededor de 5.8 y temperaturas de 15 a 35°C en condiciones secas. La enfermedad es más severa en suelos que son moderadamente húmedos, que en suelos que son secos o se encuentran inundados. La infección de las plantas jóvenes es más severa cuando el crecimiento de la planta es lento, debido a las condiciones ambientales adversas para su desarrollo; las plantas de crecimiento rápido tienen la posibilidad de escapar a la infección aun cuando la temperatura y humedad sean favorables para el hongo (Agrios, 2005).

Walker (1975) citó cuatro fases de la enfermedad que son:

- a) podredumbre de las plántulas
- b) tumoración del tallo y podredumbre de la raíz
- c) descomposición de los órganos de reserva
- d) marchitez o manchas del follaje

Mantecón (2015), mencionó el acortamiento de entrenudos (arrosamiento) del ápice como síntoma típico en Argentina, además de canchros necróticos en la parte subterránea. De esta manera se disemina la enfermedad y se reinfectan los suelos a largo plazo, lo que conduce a la disminución progresiva de los rendimientos en los sucesivos ciclos de siembras (García *et al*, 2012; Lawson, 2018).

#### 2.2.4.5.- Ciclo de la enfermedad

El hongo se mantiene de un año a otro, como esclerocios y como micelio en residuos de cosecha que se encuentran en el suelo. En la siembra de papa del siguiente año

y en presencia de condiciones favorables de humedad, los esclerocios germinan y el micelio desarrolla infectando los brotes y tallos que se encuentran en estado de pre y/o post emergencia. Las raíces y los estolones son también afectados durante el desarrollo de las plantas. La formación de esclerocios sobre la superficie de los nuevos tubérculos ocurre en condiciones de suficiente humedad y temperatura óptima de 18°C, sin embargo, el máximo desarrollo de esclerocios se produce cuando los tubérculos que se encuentran listos para ser cosechados se mantienen en el campo por un tiempo prolongado, estas estructuras son las responsables de la dispersión a larga distancia (Das *et al.*, 2014).

Agrios (2005) señaló que el inóculo del patógeno inverna en forma de micelio o esclerocio en el suelo, en plantas perenes infectadas o en órganos de propagación, tales como tubérculos de papa (Hooker, 1990); así mismo los esclerocios son producidos al inicio de las lluvias y germinan entre 8 a 30°C con un óptimo de 21 a 25°C (Mendoza y Pinto, 1983) e invaden los tallos y los brotes emergentes de papa en primavera, cuando las condiciones ambientales son favorables, y penetra generalmente por heridas o lesiones provocando el marchitamiento y muerte de la planta (Wharton *et al.*, 2007; Johnson y Leach, 2020).

#### 2.2.4.6.- Grupos de anastomosis

La anastomosis de hifas es el criterio más usado para clasificar a este hongo en grupos relativamente homogéneos. Anastomosis de hifas; el sistema de clasificación fundamental para *R. solani* está basado en la anastomosis de las hifas, los primeros registros de reacciones de anastomosis de este hongo los hicieron Matsumoto (1921) y Matsumoto *et al.*, (1931), citados por Carling (1996); desde entonces se ha convertido en la información clave para agrupar a *R. solani* (Parmeter *et al.*, 1999).

La anastomosis de *R. solani* se divide en 14 grupos anastomóticos (1 a 13 y AGB1), sin embargo, se han generado subgrupos para explicar morfología y otras características; de igual manera se han generado categorías adicionales (C3, C2, C1, C0) (Carling, 1996).

Los grupos de anastomosis que afectan a la papa son GA2, GA3, GA4, GA5 y GA7. De éstos, los más importantes son GA3 y GA4, el GA3 se caracteriza porque en la superficie de los tubérculos forma esclerocios (masas compactas de micelio, cuyas células han reducido su tamaño y adquirido el color negro por la presencia del pigmento melanina), soporta temperaturas bajas y afecta especialmente a la planta de papa y a las raíces de la cebada. El GA4, es el más patogénico, no forma esclerocios, soporta temperaturas más altas y afecta a muchos cultivos incluyendo papa (Anguiz y Martin, 1990; Agrios, 2005). Las reacciones de anastomosis, sin embargo, pueden ser causadas por factores ambientales, especialmente por nutrientes, particularmente nitrógeno (Carling, 1996).

#### 2.2.4.7.- Importancia

Agrios (2005) reportó que las enfermedades ocasionadas por *Rhizoctonia* ocurren en todo el mundo y producen pérdidas en la mayoría de las plantas anuales, incluyendo a las malas hierbas, casi a todas las hortalizas, plantas ornamentales, varios cultivos mayores y también en las plantas perennes tales como pastos para césped, arbustos y árboles.

#### 2.2.4.8.- Epidemiología

El hongo *R. solani* es transmitido por el suelo, está presente en todas las regiones productoras de papa e invade varias especies de plantas (Abdoulaye *et al.*, 2019).

El monocultivo incrementa la población de *R. solani* en el suelo; los esclerocios y micelio (correspondientes al GA3), que se encuentran en el suelo y en los tubérculos usados como semilla, constituyen las principales fuentes de infección de brotes y tallos de las nuevas plantas que se desarrollan a temperaturas frías, mientras que GA4 se encuentra en residuos de cosecha o en material orgánico en descomposición que es la fuente de infección de plantas que se desarrollan a temperaturas altas (Torres, 2002).

Los factores que impiden la evaporación o el drenaje (mal movimiento del aire y drenaje del suelo, sombra excesiva) son propicios para el desarrollo de la enfermedad; la fertilización excesiva con nitrógeno crea una planta densa y exuberante que se vuelven altamente susceptible a *R. solani*; el uso frecuente de fertilizantes orgánicos también se ha asociado con una mayor gravedad de las enfermedades (García *et al.*, 2017).

#### 2.2.4.9.- Medidas de prevención

Utilizar semilla certificada o semilla previamente tratada con fungicidas sistémicos, hacer rotación de cultivos con gramíneas como avena con cebada, de tres años como mínimo; acelerar el tiempo de la emergencia (prebrotado) y del desarrollo de la planta, evitar iniciar el cultivo con baja temperatura y alta humedad en el suelo y cosecha inmediata luego de alcanzar la madurez de los tubérculos, controlar malezas hospederas del hongo, adicionar al suelo microorganismos para el control biológico tales como los hongos *Gliocadium roseum*, *Trichoderma harzianum* y *T. hamatum*, evitar cosechas tardías, porque los tubérculos tienen más probabilidad de ser infectados y presentar costras, los cultivos en suelo con alto contenido de materia orgánica son más favorables para el desarrollo de la enfermedad, pues propician la viabilidad del patógeno, tratar los tubérculos con fungicidas triazoles antes de almacenar la semilla (Muzhinji *et al.*, 2018).

### 2.3.- Control biológico

El control biológico puede definirse como una reducción de la cantidad de inóculo o enfermedad producida por la actividad de un patógeno, basada en el uso de enemigos naturales o el uso de compuestos derivados de su metabolismo (Soria *et al.*, 2012; Harding y Raizada, 2015; Sundin *et al.*, 2016). Este tipo de control se basa en la premisa de que contrarrestar la pérdida de hábitat y las alteraciones ambientales asociadas con los cultivos de producción intensiva para conservar los controladores biológicos (Begg *et al.*, 2017). Siendo esta estrategia una alternativa a los productos químicos, contribuyendo a minimizar las consecuencias negativas para la salud humana y el medio ambiente (O'Brien, 2017). Los agentes del control

biológico son frecuentemente probados, desarrollados y usados como un esfuerzo para el control de varios fitopatógenos del suelo (Yobo *et al.*, 2010).

Es un método agrícola de control de plagas (insectos, ácaros, malezas, enfermedades de las plantas, etc.), que usa depredadores parásitos, herbívoros u otros medios naturales. Puede ser un componente importante de control integrado de plagas y es de gran importancia económica para la agricultura (Sanidad vegetal *et al.*, 1992). Su uso ha tenido significados diferentes a lo largo del tiempo; así, los fitopatólogos han tendido a usar el término para denotar métodos de control que incluyen rotación de cultivos, alteraciones del pH del suelo, uso de enmiendas orgánicas, etc (Begg *et al.*, 2017).

### 2.3.2.- Ventajas del control biológico

Las ventajas de este control son amplias convirtiéndolo en uno de los más importantes para la protección fitosanitaria; no necesita de esfuerzos manuales excesivos, evita la contaminación del medio ambiente, no altera el equilibrio biológico, poco o ningún efecto nocivo colateral de los enemigos naturales hacia otros organismos, incluso el hombre, la resistencia de las plagas al control biológico es muy rara, el control es relativamente a largo término, con frecuencia permanente, el tratamiento con insecticidas es eliminado por completo o de manera sustancial, la relación costo/beneficio es muy favorable, evita plagas secundarias, no existe problemas de intoxicaciones, se le puede usar dentro del Manejo Integrado de plagas y enfermedades, el consumo de alimentos libres de químicos, (Rojas y de los Ángeles, 2018; Viera-Arrollo *et al.*, 2020).

### 2.3.3.- Extractos vegetales

Las plantas poseen variedad de compuestos bioactivos, los cuales pueden extraerse por lixiviación en donde se utiliza solventes no polares o ligeramente polares, así mismo disolventes polares como el metanol, etanol, acetona 18imetilsulfóxido o agua, dando lugar al extracto (Lizcano-Ramón *et al.*, 2008), los cuales están constituidos por principios activos o sustancias inertes que se

producen en totalidad o por partes desde que la planta está fresca (Cortez *et al.*, 2014).

#### 2.3.3.2.- Extractos vegetales y metabolitos bioactivos de las plantas.

La tendencia mundial muestra que el uso de las plantas y los derivados obtenidos a partir de estas va aumentando de manera considerable en el control de plagas y enfermedades importantes (Cavaliere *et al.*, 2009).

El conocimiento tradicional expresa la necesidad de trabajar en la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas a partir de plantas reconocidas (Cordell, 2000). Las plantas tienen la capacidad de sintetizar una gran diversidad de metabolitos secundarios relacionados con diferentes mecanismos de defensa, entre los que se encuentran compuestos químicos como terpenos, fenoles, compuestos nitrogenados como alcaloides y compuestos azufrados, muchos de estos con propiedades antimicrobianas. Estos metabolitos tienen una función importante en la protección ante depredadores, microorganismos patógenos y herbívoros, así como diversos tipos de estrés abiótico (por ejemplo, exposición UV) (Cowan, 1999; Ávalos García y Pérez-Urria, 2009).

La producción de sustancias bioactivas o metabolitos secundarios por las plantas ocurre a través de diferentes vías metabólicas, generando gran número de compuestos, muchos de los cuales sólo son detectados en un determinado grupo de plantas y en concentraciones variables. La cantidad y composición de esta clase de compuestos es muy variable y depende del tipo de tejido, edad de la planta, su hábitat y el tipo de suelo (Cruz, 2000).

#### 2.3.3.3.- Métodos de extracción y caracterización de extractos vegetales.

El proceso para obtener extractos vegetales es variable, todos estos componentes se obtienen en conjunto cuando se extraen de los diferentes órganos tanto vegetativos como reproductivos, tales como raíces, hojas, brotes, tallos, flores y

frutos previamente triturados con un tamaño de partícula determinado y en contacto con cantidad suficiente de solvente (García *et al.*, 2019).

Entre las técnicas de extracción se encuentra la percolación, el arrastre con vapor, en la extracción soxhlet se emplean distintos solventes donde se pueden obtener extractos acuosos, etanólicos, aceites esenciales o utilizar otros solventes para obtener diversos compuestos, acorde a su polaridad. Posterior a la extracción, la mezcla es filtrada, el material insoluble es lavado con el mismo solvente y los filtrados se mezclan para concentrar el extracto, y secarlos hasta sequedad. Según el tipo de método empleado se pueden presentar altos rendimientos de extracción y presentar una versatilidad en la separación de componentes por sus características polares, además de poder obtener extractos para el fraccionamiento y aislamiento de las sustancias marcadoras que son separadas por técnicas de cromatografías que permiten aislar los componentes principales a través de métodos de fraccionamiento guiado por bioensayo y técnicas de alta resolución para su caracterización como la cromatografía de alta resolución acoplada a espectrofotometría de masas (HPLC-DAD-MS) y la resonancia magnética nuclear (RMN) (Maldoni, 1991; Pardo *et al.*, 2011; Mesa-Vanegas *et al.*, 2015).

#### 2.3.3.4.- Evaluación de actividad biológica de extractos vegetales en hongos fitopatógenos.

A los extractos vegetales y compuestos obtenidos se les evalúa su potencial biológico en los diferentes modelos biológicos a nivel *in vitro* e *in vivo*. En su mayoría los métodos de evaluación biológica sobre hongos fitopatógenos consisten en la exposición del hongo a diferentes concentraciones de extracto en medio agar papa dextrosa (PDA) (Nene y Thapilyal, 2000).

Los macrométodos generalmente son basados en el análisis de difusión en disco en agar determinando el halo de inhibición en presencia de una concentración determinada del extracto vegetal y empleando como control positivo un fungicida agrícola (García *et al.*, 1995; Rojas *et al.*, 2005; Pardo *et al.*, 2011).

Los micrométodos permiten determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) de un extracto mediante microplacas estériles, el crecimiento del patógeno se sigue por la variación de la densidad óptica (DO) de una suspensión de esporas-conidios de cada uno de los hongos en una concentración aproximada de  $2.5 \times 10^4$  esporas/mL y se realiza la lectura inicial a los 30 minutos y pasadas las 48 horas a 25°C (García *et al.*, 1995; Rojas *et al.*, 2005; Pardo *et al.*, 2011).

#### 2.3.3.5.- Especies vegetales con reportes de actividad antifúngica.

La actividad biológica de un extracto con respecto a un hongo varía en función de la metodología de preparación (solvente, seco, fresco, tiempo de almacenamiento, etc.), especie botánica, órgano de la planta (raíces, hojas, semillas etc.), fecha de cosecha, entre otras (García *et al.*, 2019).

La actividad fungistática de muchas especies vegetales difiere entre los tipos de extractos acuosos, etanólicos, metanólicos y aceites esenciales, lo que se ha comprobado por varios investigadores es el marcado efecto de los aceites esenciales sobre patógenos, dado que en gran parte los resultados son favorables en varios agentes patógenos con un efecto selectivo que depende de la especie de planta y del patógeno (Singh, 2014).

Tabla 1. Especies vegetales con actividad antifúngica

Planta	Familia	Patógenos	Cita
<i>Capsicum annuum</i>	Solanaceae	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Alternaria solani</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Alternaria alternata</i>	Moreno-Limón <i>et al.</i> , 2012. Terrones, 2013. Rodríguez-Maturino <i>et al.</i> , 2015.



<i>Allium sativum</i>	Alliaceae	<i>Colletotrichum gloesporioides</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>A. niger</i> , <i>C. albicans</i> , <i>Coccidioides immitis</i>	Valenzuela <i>et al.</i> , 2013. Juárez-Segovia <i>et al.</i> , 2019. Zárate <i>et al.</i> , 2016.
<i>Lavandula dentata</i>	Lamiaceae	<i>Fusarium solani</i> , <i>Phytophthora</i> spp, <i>R. solani</i> , <i>C. albicans</i>	Bazaid y ElMougy, 2010. Correia <i>et al.</i> , 2022.
<i>Larrea tridentata</i>	Zygophyllaceae	<i>A. flavus</i> , <i>Penicillium</i> sp, <i>Alternaria tenuissima</i> , <i>A. niger</i> , <i>Rhizopus oryzae</i> , <i>Phytophthora infestans</i> , <i>R. solani</i>	Moreno-Limón <i>et al.</i> , 2011. Peñuelas-Rubio <i>et al.</i> , 2015. Hernández-Castillo <i>et al.</i> , 2008.
<i>Cestrum nocturnum</i>	Solanaceae	<i>Rhizopus stolonifer</i> , <i>Fusarium</i> spp, <i>C. albicans</i>	Barrera-Necha y Bautista-Baños, 2008. Baños <i>et al.</i> , 2008. Pedraza Villamil, 2017.
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Lauraceae	<i>C. gloesporioides</i> , <i>A. flavus</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i>	Gavilla <i>et al.</i> , 2020. Caballero <i>et al.</i> , 2016. Quintanilla <i>et al.</i> , 2010.

<i>Azadirachta indica</i>	Meliaceae	<i>C. albicans</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	Loyola, 2020. Revilla <i>et al.</i> , 2020. Romero <i>et al.</i> , 2011.
<i>Zingiber officinale</i>	Zingiberaceae	<i>Moniliophthora roreri</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>C. albicans</i>	Joya-Dávila <i>et al.</i> , 2015. Flores, 2017. Alberca y Dilas, 2021.
<i>Flourensia cernua</i>	Asteraceae	<i>Alternaria alternata</i> , <i>C. gloesporioides</i> , <i>Penicillium digitatum</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>Phytophthora capsici</i>	Guerrero-Rodríguez <i>et al.</i> , 2007. Aguilar-Alonso <i>et al.</i> , 2013. Díaz-Díaz <i>et al.</i> , 2013
<i>Lippia graveirolens</i>	Verbenaceae	<i>C. albicans</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>R. solani</i> ,	López-Rivera <i>et al.</i> , 2018. Tucuch-Pérez <i>et al.</i> , 2020. Valdés Oyervides, 2012.
<i>Thymus vulgaris</i>	Labiatae	<i>Colletotrichum acutatum</i> , <i>Fusarium</i> sp, <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ,	Alzate <i>et al.</i> , 2009. Necha y Barrera, 2008. Lizcano, 2007.

*B. cinerea*

<i>Lippia alba</i>	Verbenaceae	<i>Fusarium equiseti</i> , <i>Moniliophthora roreri</i> , <i>C. gloesporioides</i>	Caro et al., 2020. Lozada et al., 2012. Pérez et al., 2017.
<i>Agave lechuguilla</i>	Agavaceae	<i>F. oxysporum</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>P. pinophylum</i> , <i>M. griseocyanus</i>	Cano-Cabrera et al., 2009. Tucuch-Pérez et al., 2020.
<i>Aloe vera</i>	Asphodelaceae	<i>C. gloesporioides</i> , <i>M. fijiensis</i> , <i>C. albicans</i>	Rosales Cuentas, 2019. Jaramillo et al., 2017. Zambrano Achig, 2017.
<i>Curcuma longa L</i>	Zingiberaceae	<i>C. albicans</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>C. gloeosporioides</i>	Sáenz et al., 2021. Flores, 2017. Pérez-Cordero et al., 2021.
<i>Mentha piperita</i>	Lamiaceae	<i>Fusarium sp</i> , <i>C. albicans</i> , <i>Streptococcus mutans</i> atcc	Necha y Barrera, 2008. Huanca et al., 2018. Rojas Llanos, 2019.
<i>Ruta graveolens</i>	Rutaceae	<i>C. albicans</i> , <i>Escherichia coli</i> ,	Enríquez et al., 2018.

		<i>Pseudomonas aeruginosa,</i> <i>S. aureus,</i> <i>B. cinerea</i>	Calachua Oyoquipa, 2019. Jiménez y Mosquera, 2014.
<i>Alnus acuminata</i>	Betulaceae	<i>Trichoderma</i> spp,	Guerra, 2019.
<i>Syzygium aromaticum</i>	Myrtaceae	<i>Fusarium</i> sp, <i>C. albicans,</i> <i>M. fijiensis,</i>	Necha, 2008. Luyo, 2020. Adirano-Anaya et al., 2018.
<i>Allium cepa</i>	Alliaceae	<i>Penicillium chrysogenum,</i> <i>C. albicans,</i> <i>A. parasiticus,</i> <i>A. niger</i>	Quintana et al., 2010. Díaz y Lara, 2021. Juárez-Segovia et al., 2019.

---

#### **2.4.- *Hamelia patens***

Es un arbusto pequeño que alcanza 5 m de altura, fue descrito científicamente en 1760; y su nombre honra a Henri Lois du Hamel (1700-1781) autor francés de libros sobre árboles y arbustos, y el nombre específico *patens*, que quiere decir extendido, hace referencia al porte de la planta. Otros nombres comunes son: bayetillo, cacahuaxochitl, canchoc, hierba tinta, hoja de coyotillo, pie de pájaro, tuchumitillo, berenjena y hierba del negro (INECOL, 2021).

*H. patens* puede tolerar muchos tipos de suelo desde arcillas pesadas hasta alcalinos altos, pero en su mayoría prefiere suelos francos o arcillosos. Su propagación es por esqueje en primavera o por semilla (Surana y Wagh, 2015).

#### 2.4.2.- Descripción morfológica de *Hamelia patens*

Puede tener tallos únicos o múltiples, las ramas son de color naranja purpura, las hojas son opuestas o agrupadas de 3 en 3 o 4, con peciolo de 1 a 3.5 cm de largo, las nervaduras tienden a ser de color rojas o rosadas. En zonas templadas a medida que las temperaturas se vuelven frías el follaje se vuelve de color rojo brillante de ahí su nombre común. La inflorescencia terminal es de flores tubulares de 12 a 22 mm de largo, y de color naranja a rojo. El fruto es una baya, esférica a elíptica de 7 a 10 mm de largo de color roja y luego negra al momento de madurar; esta es comestible. Las semillas son de color marrón anaranjado de 0.6 a 0.9 mm de largo. Tiene un sistema radicular lateral y con raíces secundarias muy finas. La corteza del tallo es gris y lisa y la corteza interior es de color gris (Surana y Wagh, 2015).

#### 2.4.3.- Categorías taxonómicas superiores

(Stevens *et al.*, 2001):

Reino: Plantae.

Superdivisión: Spermatophyta.

División: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliopsida.

Subclase: Asteridae.

Orden: Rubiales.

Familia: Rubiaceae.

Género: *Hamelia*.

Especie: *Hamelia patens*.

#### 2.4.4.- Origen y distribución geográfica

*Hamelia patens* es originaria del sur de los Estados Unidos (Florida) hasta Argentina (Stevens *et al.*, 2001). Mientras que en México se ha registrado en estados como: Campeche, Chiapas, Hidalgo, Jalisco, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Querétaro, Quintana Roo, San Luís Potosí, Sinaloa, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán (Villaseñor y Espinosa, 1998) siendo nativa del país. Se puede encontrar en ríos, claros de bosques y sitios perturbados (CONABIO, 2022).

#### 2.4.5.- Composición fitoquímica de extractos etanólicos y metanólicos de hojas de *Hamelia patens* Jacq.

En estudios fitoquímicos previos con esta planta se han identificado diferentes metabolitos secundarios como esteroides, saponinas, alcaloides, flavonoides y polifenoles, de los cuales algunos son reportados en la tabla 2 (Suárez *et al.*, 2012; Surana *et al.*, 2016).

Tabla 2. Composición fitoquímica de extractos de *Hamelia patens* (Fontanills *et al.*, 2018).

Compuesto	Solvente	
	Metanol (90%)	Etanol 90%
Fenoles solubles	Presente	No determinado
Fenoles ligados a la pared celular	Presente	No determinado
Azucares reductores	Presente	Presente
Flavonoides	Presente (+)	Presente (++)
Terpenos	Presente (++)	Presente (+++)
Esteroides	Presente (+)	Presente (+++)
Saponinas	Presente (+)	Ausente
Taninos	Presente (++)	Presente (+++)
Cumarinas	Ausente	Presente (++)
Glucósidos cardiotónicos	Presente (+)	Presente (++)

#### 2.4.6.- Usos

Es un arbusto ornamental importante en los trópicos del mundo. En regiones más templadas, se cultiva como hierba perenne. Existen variedades mejoradas. Además, es una importante planta medicinal. Es antihemorrágico y ayuda en la cicatrización. Además, se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, analgésicas, febrífugas y antifúngicas (CONABIO, 2020).

Tabla 3. Usos de *Hamelia patens* (Taylor, 2005)

<b>Principales acciones</b>	<b>Otras acciones</b>	<b>Dosis estándar</b>
Alivia el dolor	Reduce los espasmos	Hojas
Reduce la inflamación	Mata parásitos	Infusión: 1 taza 2-3 veces al día
Cura las heridas	Mejora la inmunidad	Tintura: 1-2 ml dos veces al día
Mata las bacterias	Aumenta la micción	
Reduce la fiebre		
Mata hongos		
Baja la temperatura corporal		

#### 2.4.7.- Actividades biológicas e investigación clínica

Gran parte de la investigación clínica de *Hamelia patens* ha sido realizada con animales, los extractos de hojas demostraron acciones analgésicas, diuréticas e hipotérmicas. El uso externo de la hoja en ratones mostró una actividad antiinflamatoria significativa comparable a la de un medicamento antiinflamatorio recetado utilizado como control. Científicos en dos países diferentes han documentado las propiedades antibacterianas y antimicóticas de *H. patens* contra una amplia gama de hongos y bacterias en varios estudios *in vitro*. La planta

también ha sido documentada con efectos diuréticos y se ha demostrado que inhibe el crecimiento de células tumorales y bacterianas (Taylor, 2005).

En trabajos relacionados con la evaluación biológica de extractos de *Hamelia patens*, se observaron diferentes efectos como cicatrizante (Gómez *et al.*, 2003), antimicrobiano (Khandelwal *et al.*, 2012), diurético (Ahmad, 2012), antiinflamatorio (Surana y Wahg, 2015), antioxidante (Surana *et al.*, 2016), y antihemorrágico (Duke, 2009).



### **3.- MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1.- Localización del Experimento**

La preparación de los extractos, así como los bioensayos de inhibición se llevaron a cabo en el laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) unidad Saltillo.

#### **3.2.- Colecta del material**

Se colectaron plantas de *H. patens* procedentes de la localidad Chapopote, Chalma, Veracruz, México. La colecta de las hojas se realizó en el mes de marzo de 2020, se seleccionaron ramas adultas con hojas que no presentaban daño por enfermedades o insectos, las muestras fueron depositadas en bolsas de papel para ser trasladadas a la (UAAAN), Saltillo. El fitopatógeno se colectó de tubérculos de papa en establecimientos comerciales de la zona centro de Saltillo, para posteriormente ser transportados al Departamento de Parasitología.

#### **3.3.- Aislamiento del fitopatógeno**

Se obtuvo el inóculo del hongo bajo condiciones de asepsia; primeramente se cortaron los esclerocios de un promedio de 5 mm de diámetro (25 secciones) (Fig. 1), las cuales se desinfectaron con hipoclorito de sodio (25 mL) por 3 min, enseguida se les aplicó un triple lavado con agua destilada estéril con un promedio de un minuto entre cada lavado (Fig. 2).

Posteriormente se dejó secar en papel de estraza estéril bajo campana de flujo laminar por 2 horas (Fig. 3), finalmente se sembró en medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) (Fig. 4) y se incubó a  $26 \pm 2^\circ \text{C}$  por un periodo de siete días.

### 3.3.2.- Purificación del fitopatógeno

Para la purificación se llevó a cabo el método de punta de hifa; se tomó un fragmento de la punta de la hifa del hongo y se colocó en la caja Petri con medio PDA, lo cual se realizó posteriormente en otras dos repeticiones (Fig. 5). Las cajas Petri se incubaron a  $26 \pm 2^\circ \text{C}$  hasta su utilización.

### 3.3.3.- Identificación del fitopatógeno

La caracterización morfológica se llevó a cabo de acuerdo con las características reportadas por Sneh *et al.* (1991) (Figs. 6 y 7).

## 3.4.- Obtención de los Extractos Vegetales

Se obtuvieron plantas secas de *H. patens* y se llevaron al Laboratorio de Fitopatología donde se pulverizaron en una licuadora (WARING COMMERCIAL Laboratory BLENDER, MODEL 31BL91) hasta obtener un polvo fino (Fig. 8), el polvo se mantuvo en frascos de vidrio ámbar para protegerlo de la luz, para su posterior utilización (Fig. 9).

Se prepararon extractos a base de etanol (Et-OH), metanol (Met-OH) y agua (H<sub>2</sub>O). Para la obtención de los extractos se pesaron 15 g del polvo de las hojas pulverizadas y se agregaron en 400 mL del solvente (0.037 g de materia seca / mL de solvente) en matraces Erlenmeyers de 1000 mL con tapones de algodón (Fig. 10). Se mantuvieron en agitación constante durante 96 h en ausencia de luz en una placa termoagitadora (CORNING, STIRRER/HOTPLATE) a  $26^\circ \text{C}$  (Fig. 11).

Después del tiempo de agitación, los extractos se filtraron con gasa estéril de algodón y posteriormente se pasó por papel filtro Whatman número 2 (Fig. 12),

finalmente se llevó a centrifugación durante 15 min a 4000 rpm en una (DYNAC II CENTRIFUGE) (Fig. 13). El sobrenadante se recolectó en frascos de vidrio ámbar y se mantuvieron a 4 °C hasta su utilización.

Para la obtención de los extractos concentrados (Et-OH) y (Met-OH), se pesaron 37g de polvo de *H. patens* y se depositó en un matraz bola por cada 1000 mL de solvente para concentrarlos en un evaporador rotatorio (YAMATO ROTARY EVAPORATOR RE301) a una temperatura de 78, 82, 86 y 90°C.

### **3.5.- Identificación de los metabolitos secundarios presentes en los extractos etanólicos y metanólicos concentrados**

Se llevó a cabo el Análisis de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS) en el laboratorio de Biogeoquímica (UBIPRO) de la Universidad Nacional Autónoma de México, Iztacala, México. Los metabolitos presentes en el extracto de hojas de *H. patens* se identificaron en un cromatógrafo de gases 6850 (Aligent Technologies, USA), empleando una columna HP-5MS (Aligent) 30 m x 250 µm de diámetro y 0.25 µm. Acoplado al detector de espectrometría de masas 5975C (Aligent Technologies, USA), a 200 °C por 2 minutos, empleando en la fase móvil helio. La tipificación de los compuestos se estableció con base en sus espectros de masas, usando la base de datos del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (por sus siglas en inglés, NIST versión 08 MS).

Densidad relativa: fue determinada según lo descrito por Solihah *et al.* (2018, con modificaciones), a partir del extracto metanólico y etanólico de hojas de *H. patens* con un picnómetro Gay-Lussac de 25 mL (Brand 16038, Alemania) a 24 °C. Se calculó la densidad del extracto mediante la fórmula:

$$Densidad\ relativa = \frac{(m_1 - m)}{m_2 - m} * d_{24}^t$$

Donde,  $m$  es la masa del picnómetro vacío (g),  $m_1$  la masa del picnómetro con la muestra de ensayo (g),  $m_2$  masa del picnómetro con agua (g) y  $d_{24}^t$  es la densidad del agua a 24°C (0.997299 g/cm<sup>3</sup>). Los resultados se expresaron en mg/mL para la preparación de las concentraciones a partir del porcentaje de abundancia del compuesto fitol obtenidos del análisis GC MS.

### **3.6.- Pruebas rápidas**

Se hizo una prueba rápida con el extracto a base de agua, etanol y metanol probándolo a cantidades de 500 y 1000 microlitros por caja, con 3 repeticiones por cantidad (Fig. 14); se estuvo tomando datos del crecimiento del hongo hasta el momento en que el testigo obtuvo su mayor crecimiento (caja llena) (Fig. 15).

### **3.7.- Actividad inhibitoria de los extractos**

#### **3.7.2.- Inhibición *in vitro* de *R. solani* con extractos crudos de *H. patens***

El efecto inhibitorio se evaluó por la técnica de película residual (Fig. 16 y 17). Se utilizaron extractos a base de agua, etanol y metanol. Discos con micelio de crecimiento activo del hongo en estudio se colocaron en el centro de la placa Petri en medio de cultivo PDA cubierto con 100 µL del extracto. Las cajas inoculadas se incubaron a 25 ± 2°C (Fig. 18) hasta que el crecimiento del micelio de la caja testigo (PDA sin extracto) llenó la placa. El radio del crecimiento micelial se determinó cada 24 h.

Se evaluaron 10 concentraciones de 100 mg/L, 200 mg/L, 300 mg/L, 400 mg/L, 500 mg/L, 600 mg/L, 700 mg/L, 800 mg/L, 900 mg/L y 1000 mg/L de cada extracto crudo, con sus 5 repeticiones para cada concentración (Fig. 19 y 20). Los resultados obtenidos del crecimiento radial fueron transformados a porcentaje de inhibición de acuerdo con la siguiente expresión matemática:  $\%I = C - T/C * 100$ ; donde: %I es el porcentaje de inhibición del crecimiento radial, C crecimiento micelial del testigo y T crecimiento micelial del tratamiento con el extracto (Castillo-Reyes *et al.*, 2015).

El experimento se distribuyó en un diseño completamente al azar, la separación de las medias se realizó mediante la prueba de rangos múltiples de Tukey al 0.05 de significancia en el programa SAS versión 9.0 para Windows.

### 3.7.3.- Inhibición *in vitro* de *R. solani* con extractos concentrados de *H. patens*

Los extractos de etanol se evaporaron a diferentes temperaturas (90°C, 86°C, 82°C y 78°C). Para el caso de las temperaturas de 90°C, 86°C y 78°C se establecieron los tratamientos de 100 mg/L, 200 mg/L, 300 mg/L, 400 mg/L, 500 mg/L, 600 mg/L, 700 mg/L, 800 mg/L, 900 mg/L y 1000 mg/L (Fig. 21), para el caso de 82°C se realizaron las concentraciones de 7.96, 7.17, 6.37, 5.57, 4.78, 3.98, 3.19, 2.39, 1.59 y 0.79 mg/mL del compuesto de interés (Fitol) (Fig. 22). El extracto metanólico se preparó a 8.28, 7.45, 6.62, 5.79, 4.97, 4.14, 3.31, 2.48, 1.65, 0.83 mg/mL de fitol; el establecimiento del experimento se llevó a cabo de la misma manera a la metodología anterior.

## 4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.2.- Aislamiento e identificación del fitopatógeno

Las cepas de hongos aisladas de tubérculos de papa con signos y síntomas de costras negras, fueron identificadas por características morfológicas. Las características consideradas para la identificación de *R. solani* fueron observadas como micelio incoloro a los primeros tres días de desarrollo, pero se volvió amarillento a color marrón claro a las dos semanas de edad, con células alargadas y ramificaciones que crecieron en ángulos rectos a la hifa principal, estaban ligeramente constreñidos en la unión, y con una pared transversal cerca de la unión, estas características corresponden a las reportadas por Sneh *et al.* (1991) y Al-Fadhal *et al.* (2019), se pueden observar en las figuras 6 y 7.

### 4.3.- Identificación de los metabolitos secundarios presentes en los extractos etanólicos y metanólicos concentrados

Se identificaron 12 compuestos en el extracto etanólico de *H. patens* (tabla 4), el compuesto de interés fue fitol con una presencia del 17%; mientras que en el extracto metanólico se encuentra en 14% (tabla 5). El fitol es un alcohol diterpénico y se puede encontrar como producto del metabolismo de la clorofila en las plantas; mejora la actividad inhibitoria sobre *Candida* spp. donde las concentraciones altas muestran un 100% de inhibición (Lima *et al.*, 2020).

Así mismo, el fitol y sus metabolitos son compuestos dietéticos potenciales para la prevención del cáncer porque, algunas pruebas en estudios de cultivos celulares y evidencia limitada en modelos animales, pueden alterar las vías involucradas en la carcinogénesis a concentraciones fisiológicas que se pueden lograr mediante modificaciones dietéticas (Bobe *et al.*, 2020).

Tabla 4. Compuestos presentes en el extracto etanólico de *H. patens*

R.T.*	Compuesto	Área	CAS	Referencia
12.68	n-Hexadecanoic acid	2.18	000057-10-3	102726
13.14	Hexadecanoic acid, ethyl ester	2.06	000628-97-7	124592
15.26	Phytol	17.30	000150-86-7	133806
15.45	Linoleic acid ethyl ester	1.36	000544-35-4	142869
15.53	9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)-	2.80	1000316-79-6	141488
17.65	Furan-2-carboxylic acid, (4-benzofuran-2-ylphenyl)amide	4.25	1000316-79-6	139044
18.19	Furan-2-carboxylic acid, (4-benzofuran-2-ylphenyl)amide	2.91	1000316-79-6	139044
21.50	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-, (all-E)-	3.04	000111-02-4	198715
22.83	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	9.66	000112-63-0	132275
22.93	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	3.33	000112-63-0	132274
23.09	9,15-Octadecadienoic acid, methyl ester, (Z,Z)-	24.39	017309-05-6	132283
23.37	1,3,5-Triazin-2(1H)-one, 4,6-di(1-piperidinyl)-	20.42	063110-89-4	107744

Tabla 5. Compuestos presentes en el extracto metanólico de *H. patens*.

R.T.*	Compounds	Área	CAS	Referencia
11.11	Hexadecanoic acid, methyl ester	2.77	000112-39-0	113690
12.69	n-Hexadecanoic acid	10.14	000057-10-3	102726
14.71	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	2.80	000301-00-8	130794
15.00	Phytol	14.36	000150-86-7	133806
15.17	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	4.45	000060-33-3	121228
15.26	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	13.35	000463-40-1	119801
15.49	Octadecanoic acid	2.14	000057-11-4	124560
16.13	Furan-2-carboxylic acid, (4-benzofuran-2-ylphenyl)amide	12.32	1000316-79-6	139044
16.47	Methanone, (2-furyl)[3-(4-nitrobenzylthio)-4H-1,2,4-triazol-3-yl]-	8.46	332019-65-5	158230
19.07	Phenol, 2,4-bis(1-methyl-1-phenylethyl)-	1.32	002772-45-4	158951
21.51	Squalene	6.12	007683-64-9	198700

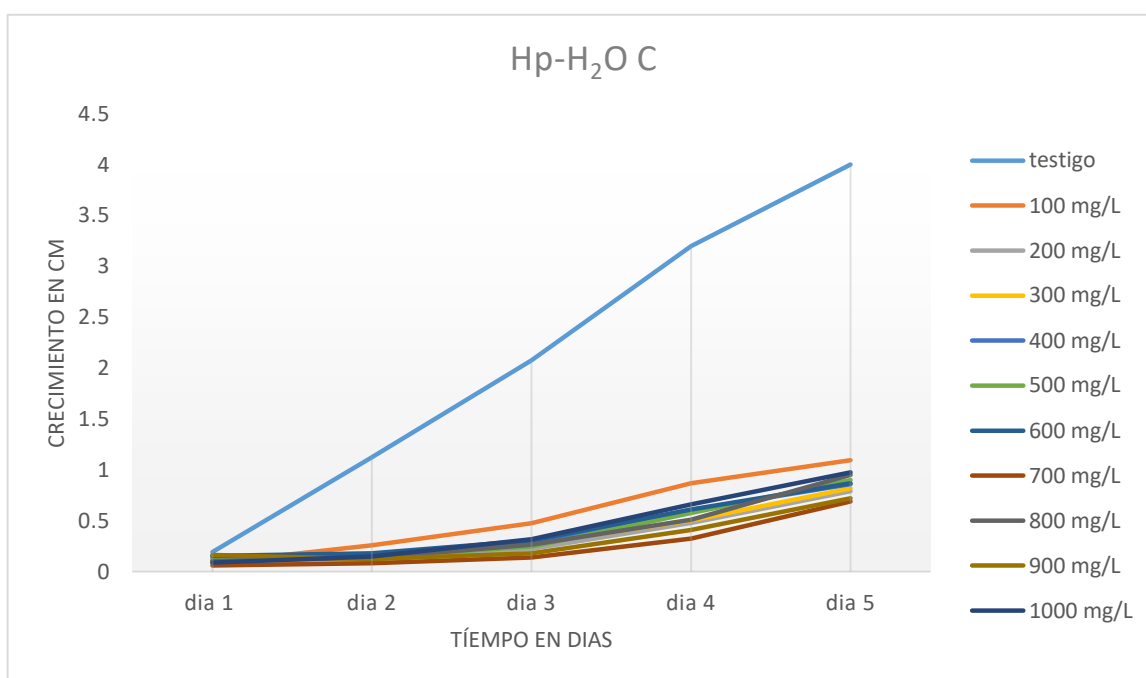
#### 4.4.- Extractos crudos

##### 4.4.2.- Extracto acuoso

En la gráfica 1 se reporta el crecimiento diario de *R. solani* en presencia del extracto acuoso crudo de la planta en estudio. Se puede observar que el máximo crecimiento del patógeno sucedió a los cinco días, se puede apreciar que el menor crecimiento resultó con el extracto de 700 mg/L en comparación con el testigo el cual presenta



el mayor crecimiento. Los valores de las concentraciones efectivas en el extracto a base de agua sobre el crecimiento de *R. solani* en las cuales se obtuvo una inhibición del 80%. Los extractos de *H. patens* contienen diferentes compuestos bioactivos como terpenos, flavonoides, taninos, esteroides, cumarinas y polifenoles, los cuales poseen diferentes actividades biológicas; se ha comprobado que el extracto etanólico de sus hojas tiene actividad microbiana sobre *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, lo que justifica su uso en infecciones de la piel en el humano (Fontanills *et al.*, 2018).



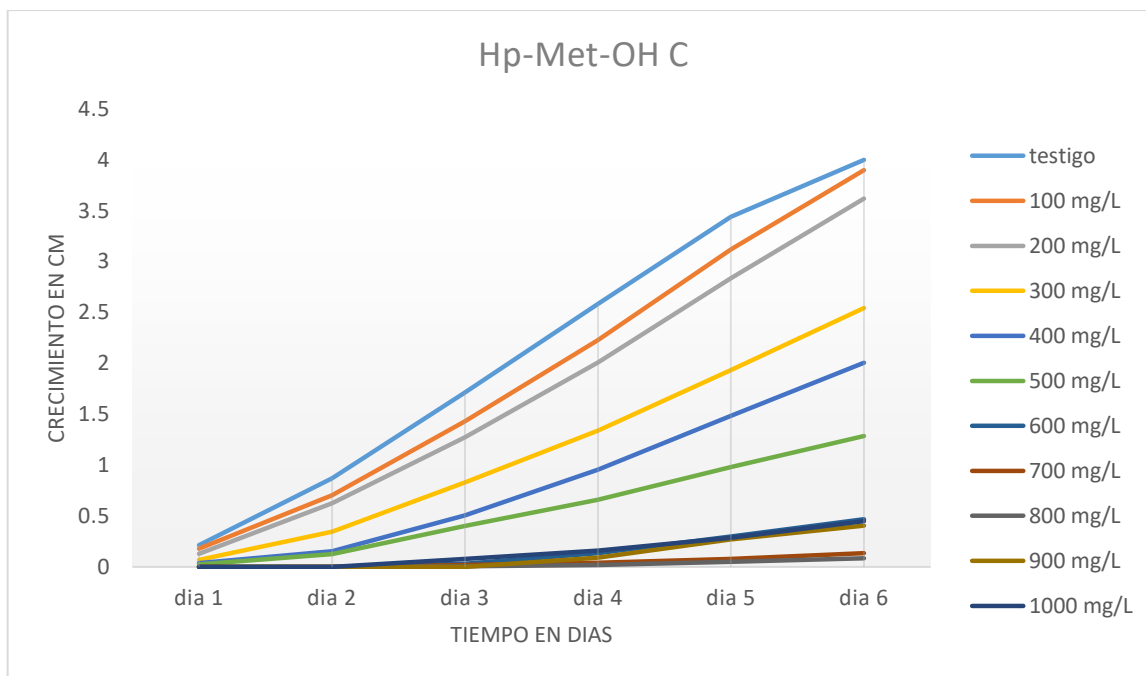
Gráfica 1. Dinámica de crecimiento de *Rhizoctonia solani* en contacto con extracto crudo acuoso de *H. patens*.

#### 4.4.3.- Extracto metanólico

En el crecimiento de *R. solani* con extractos crudos metanólicos de *H. patens*, se puede observar que las concentraciones de 700 mg/L y 800 mg/L presentaron el menor crecimiento, sin embargo, las concentraciones del 100 mg/L y 200 mg/L fueron muy cercanas al testigo. Todos los extractos evaluados inhibieron el crecimiento de *R. solani* en diferentes niveles de control, durante los seis días que tardó el testigo en llenar la caja Petri (gráfica 2). Zainab *et al.* (2013) analizó extractos crudos metanólicos de *Pajanelia longifolia* (Rubiaceae) a concentraciones de 1000 y 2000 µg/mL, mostrando la inhibición de *Aspergillus niger* y *Penicillium chrysogenum*.

En comparación con los extractos crudos acuosos podemos observar que el crecimiento del fitopatógeno fue mayor en sus diferentes concentraciones, sin embargo podemos constatar que el menor crecimiento en ambos extractos se muestra en las concentraciones de 700 mg/L y 900 mg/L.

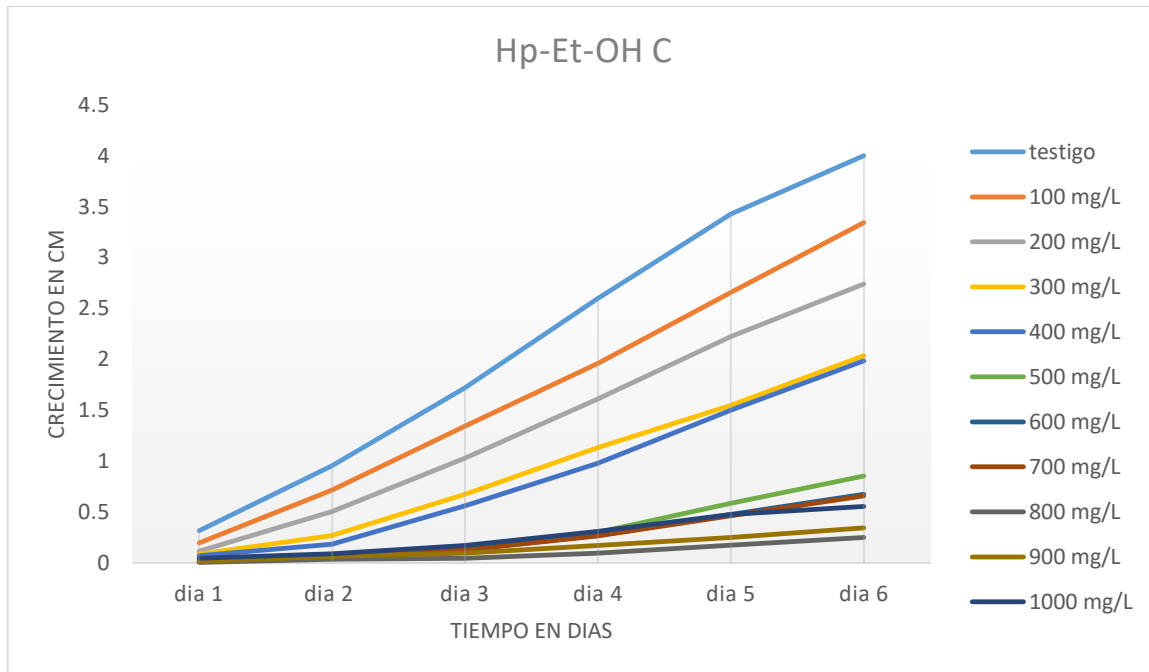
En otro contexto, Taylor *et al.* (2013) reportan que dentro de las bondades de *H. patens* se ha notificado de la actividad citotóxica contra el carcinoma de cuello uterino epitelioide humano, cáncer de próstata, cáncer de mama, carcinoma de colon.



Gráfica 2. Crecimiento de *Rhizoctonia solani* bajo el efecto de extracto crudo metanólico de *H. patens*.

#### 4.4.4.- Extracto etanólico

Los extractos crudos etanólicos de *H. patens* redujeron el crecimiento de *R. solani* en donde los de mayor inhibición fueron las concentraciones de 800 mg/L y 900 mg/L, durante seis días que fue el periodo de evaluación de desarrollo (gráfica 3). Es importante señalar que la concentración de 1000 mg/L no tuvo un efecto significativo como el de las concentraciones de 700 y 800 mg/L en los extractos acuosos. Al respecto Okoye (2016), demostró con un análisis fitoquímico de *H. patens*, la presencia de metabolitos cuyo grado de actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, teniendo como concentraciones bactericidas mínima y fungicida las que oscilaron entre 25 mg/mL y >100 mg/mL; en donde los extractos etanólicos fueron los más efectivos.

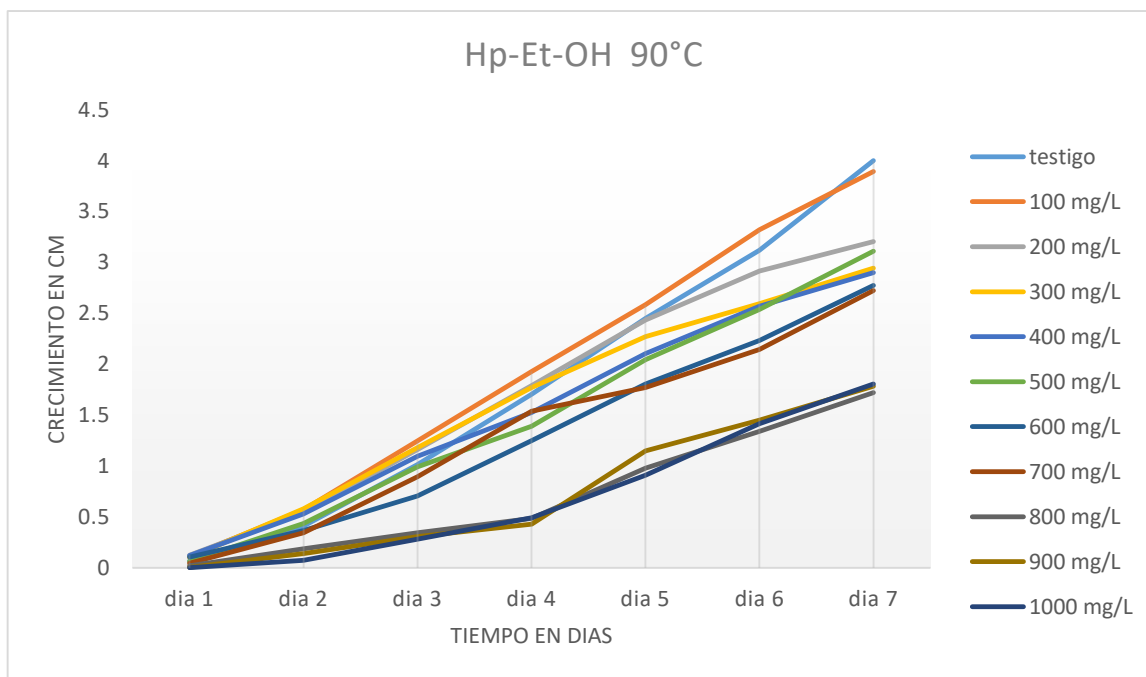


Gráfica 3. Desarrollo de *Rhizoctonia solani* bajo el contacto con extracto crudo etanólico de *H. patens*.

#### 4.5.- Extractos concentrados

##### 4.5.2.- Extracto etanólico a 90°C

En la gráfica 4 se muestra el crecimiento de *R. solani* bajo el efecto del extracto etanólico rotaevaporado de *H. patens* a 90°C en donde se presentó menor crecimiento a una concentración de 800 mg/L. Sin embargo, presentó resultados muy cercanos al expresado en las concentraciones de 900 mg/L y 1000 mg/L. Cabe mencionar que los tratamientos presentaron mayor crecimiento que en los extractos crudos a sus mismas concentraciones. Por otra parte, Touré (2010), utilizó extractos rotaevaporados a 55°C de hojas de *Morinda morindoides* (Rubiaceae) a base de hexano para la elaboración de jabón para analizar el control de *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Aspergillus niger*, utilizando 31.25 mg/mL como concentración mínima inhibitoria; de las cuales las cepas más susceptibles fueron *Trichophyton mentagrophytes* y las más resistentes fueron *Candida albicans*.

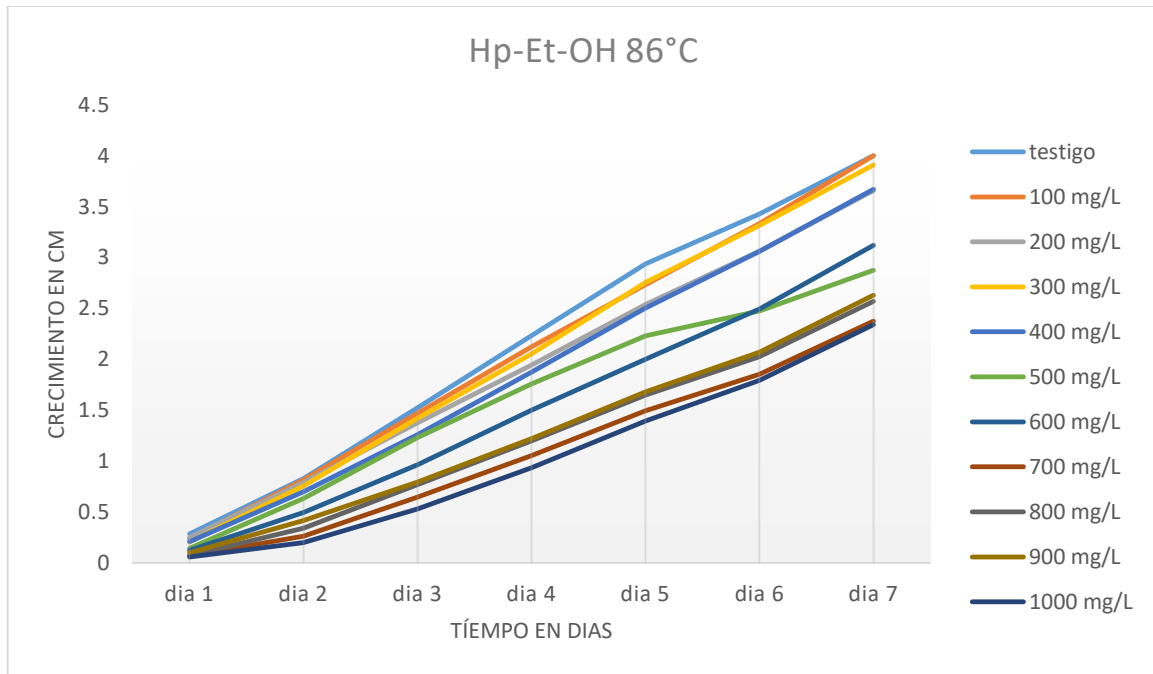


Gráfica 4. Crecimiento de *Rhizoctonia solani* in vitro bajo la influencia del extracto concentrado a 90°C a base de etanol de *Hamelia patens*.

#### 4.5.3.- Extracto etanólico a 86°C

El crecimiento de *R. solani* se reporta en la gráfica 5, ante el efecto de inhibición del extracto etanólico rotaevaporado de *H. patens* a una temperatura de 86°C. El menor crecimiento se obtuvo en la concentración más alta (1000 mg/L) reduciendo casi el 50%, resultado muy similar a la concentración 700 mg/L. Mientras que la concentración 800 y 900 mg/L presentan inhibición muy similar ante el patógeno y muy cercana a las anteriores.

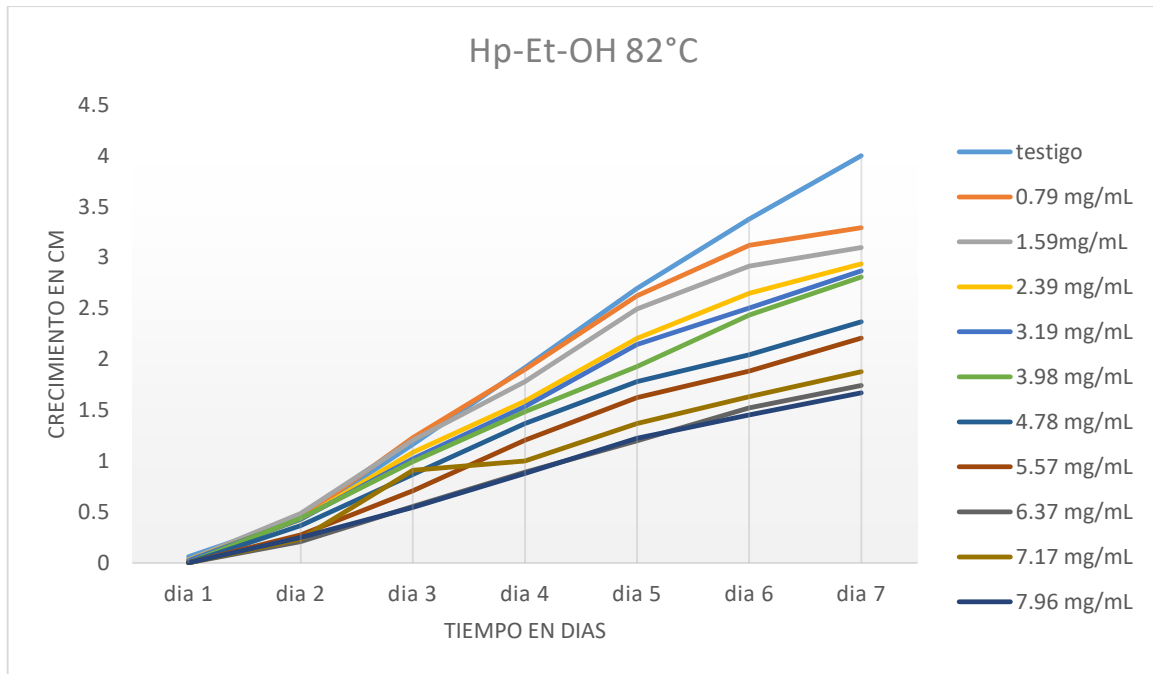
En la comparación entre los extractos de 86 y 90°C, podemos ver menor inhibición del crecimiento en el de 90°C. De igual manera se puede mencionar que en las concentraciones más bajas la reducción del crecimiento fue casi nula si la comparamos con el testigo.



Gráfica 5. Desarrollo de *R. solani* in vitro en presencia del extracto concentrado a 86°C a base de etanol de *Hamelia patens*.

#### 4.5.4.- Extracto etanólico a 82°C

En la gráfica 6 se expresa el crecimiento de *R. solani* desde el momento en que se inóculo hasta que el patógeno testigo llenó la caja Petri. En los diferentes tratamientos del extracto de *H. patens* rotaevaporado a 82°C, los resultados oscilaron desde 1,67 a 4.0 cm. En comparación con los extractos rotaevaporados a 90 y 86°C podemos notar que el desplazamiento de la curva de crecimiento del fitopatógeno en cada concentración está más alejado de la del testigo.

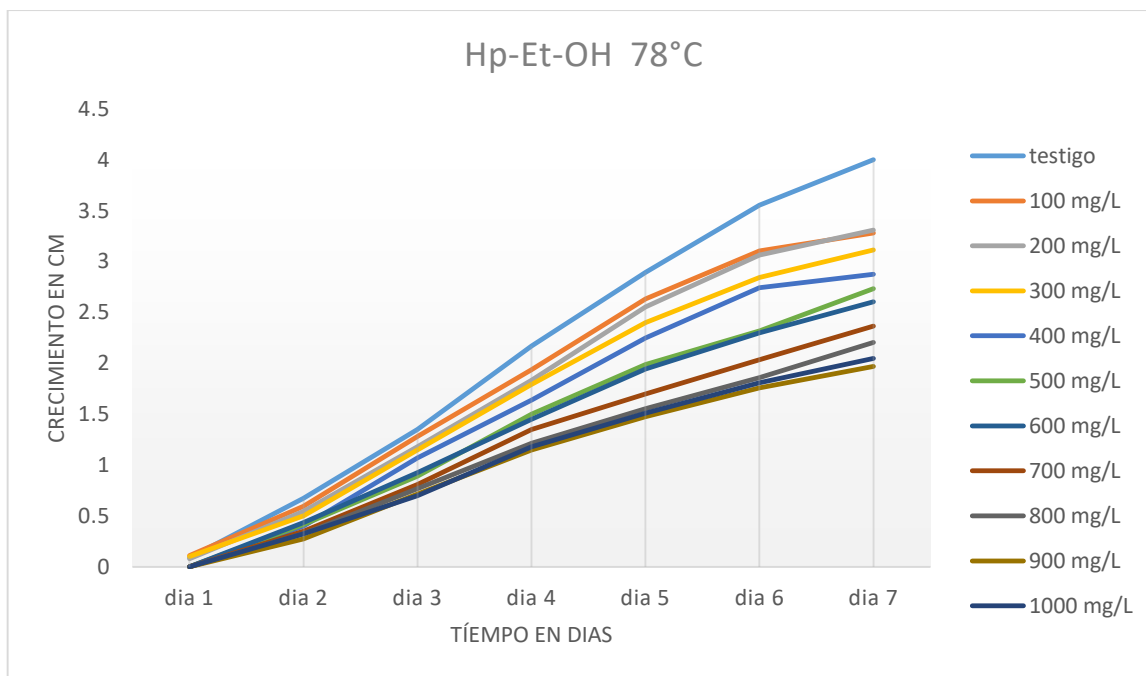


Gráfica 6. Crecimiento de *Rhizoctonia solani* *in vitro* bajo el dominio del extracto concentrado etanólico de *H. patens* a 82°C.

#### 4.5.5.- Extracto etanólico a 78°C

Se expresa el desarrollo de *R. solani* bajo la influencia de *Hamelia patens*, donde se puede ver que la mayor eficacia se mostró a concentraciones de 900 mg/L y 1000 mg/L del extracto. Sin embargo, la concentración de 800 mg/L fue cercana a las anteriores mostrando muy poca diferencia (esto se puede observar en la gráfica 7).

El rango de los resultados de los tratamientos se encuentra entre 2.05 y 3.31 cm de crecimiento, mostrando muy poca diferencia entre ellos. Se puede observar que la concentración del 900 mg/L puede reducir hasta un 49.25% el crecimiento del patógeno.



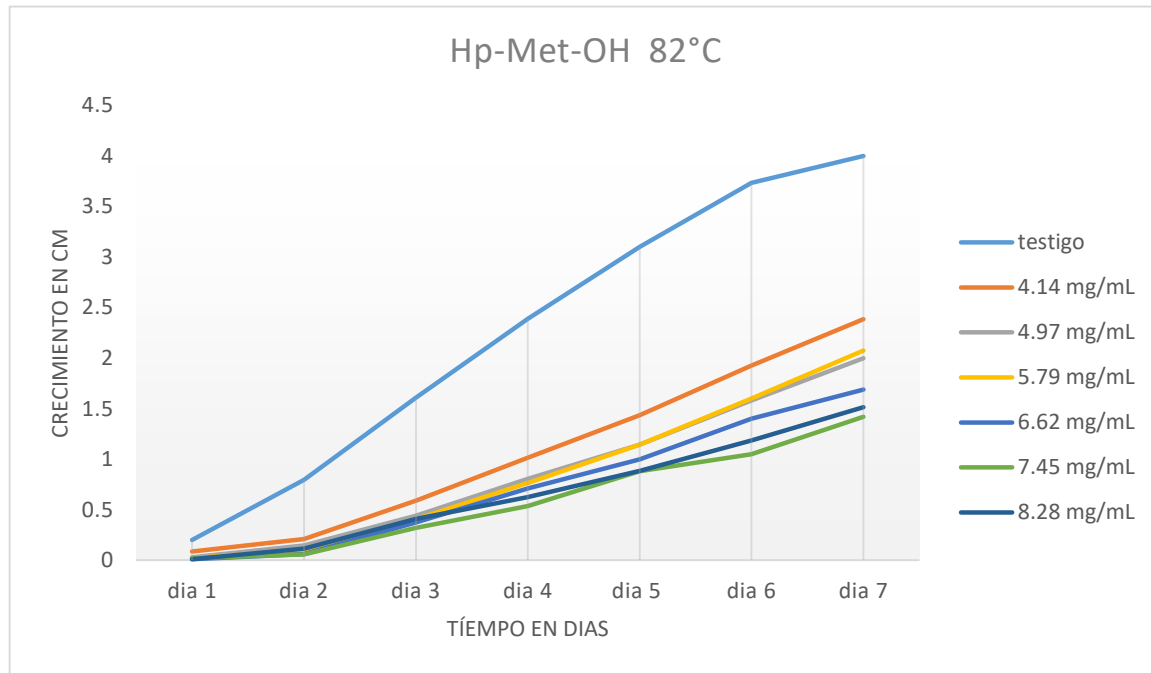
Gráfica 7. Crecimiento de *R. solani* con la influencia del extracto etanólico de *H. patens* concentrado a 78°C.

#### 4.5.6.- Extracto metanólico a 82°C

En el desarrollo de *R. solani* en contacto con extracto metanólico concentrado de *H. patens* a 82°C podemos observar que las concentraciones que redujeron el crecimiento del fitopatógeno oscilaron de 1.42 a 2.39 cm, destacándose el extracto a una concentración de 7.45 mg/L de fitol. El fitol es un miembro diterpénico de los alcoholes acíclicos insaturados de cadena larga; el fitol y algunos de sus derivados, incluido el ácido fitánico, ejercen una amplia gama de efectos biológicos (Islam *et al.*, 2018); es uno de los principales constituyentes de los aceites esenciales derivados de plantas y se han realizado diversas investigaciones para demostrar que la actividad antimicrobiana o citotóxica observada para esos aceites esenciales está relacionada con su contenido de fitol (Murbach Teles Andrade *et al.*, 2014). Se plantea que el mecanismo de la actividad antimicrobiana podría estar relacionado con la capacidad de las moléculas lipofílicas para atravesar las membranas



celulares y ejercer su actividad inhibidora sobre múltiples objetivos simultáneamente (Ghaneian *et al.*, 2015).



Gráfica 8. Proceso de desarrollo de *Rhizoctonia solani* *in vitro* al contacto con el extracto metanólico concentrado a 82°C de *Hamelia patens*.

#### 4.6.- Inhibición *in vitro* de *Rhizoctonia solani* con extractos crudos de *Hamelia patens*

La mayor inhibición se obtuvo con los extractos acuosos (80.74%) seguida por los extractos etanólicos y metanólicos (70.13 y 66.89%, respectivamente). Con respecto al análisis de varianza no demostró alguna diferencia significativa entre las concentraciones ( $P=0.1758$ ). Sin embargo, para el extracto etanólico y metanólico se encontró alta diferencia significativa ( $P<.0001$ ,  $P<.0001$ ).

Para considerar que la inhibición es aceptable se debe reportar por arriba del 70%, con las concentraciones mayores o iguales a 500 mg/L (tabla 6). Al respecto,

Abubacker *et al.* (2013), reportaron que extractos acuosos de hojas, flores y frutos de *Hamelia patens* Jacq. Evaluados contra *Aspergillus fumigatus* NCBT 112, *Candida albicans* NCBT 140, *Fusarium oxysporum* NCBT 156 y *Rhizoctonia solani* NCBT 194; los extractos de hojas y frutos a una concentración del 10% inhibieron el crecimiento del 100% para *Aspergillus fumigatus* así como para *Candida albicans*. Los extractos de hojas, flores y frutos a una concentración del 10% (10 gr de la planta) revelaron una inhibición del crecimiento del 100% para *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*. La concentración del 100% de extractos acuosos de hojas, flores y frutos puede ser comparable con el testigo químico (Bavistin) con una concentración al 0.5%.

Tabla 6. Porcentaje de *inhibición in vitro* de los extractos crudos de *Hamelia patens* contra *Rhizoctonia solani*.

Concentración mg/L	H <sub>2</sub> O	Et-OH	Met-OH
100	75.7 B	25.7 E	13.3 D
200	82.5 AB	39.1 D	19.6 D
300	81.8 AB	54.8 C	43.4 C
400	80.9 AB	56.0 C	55.4 C
500	80.0 AB	81.0 B	71.4 B
600	80.7 AB	85.0 AB	89.6 A
700	84.7 A	85.4 AB	97.0 A
800	78.9 AB	94.4 A	98.1 A
900	84.0 AB	92.4 A	91.0 A
1000	78.3 AB	87.7 AB	90.0 A

#### 4.7.- Inhibición *in vitro* de *Rhizoctonia solani* con extractos concentrados de *Hamelia patens*

Respecto a la comparación de resultados de los extractos rotaevaporados a base de metanol y etanol (tabla 7), se puede observar que se presentó la mayor eficacia en el extracto metanólico en un 5.92 % sobre el extracto etanólico. El análisis de varianza detectó diferencia significativa entre las concentraciones, destacándose la inhibición superior al 60% a partir de las concentraciones de 800 mg/L. Ramírez (2017) encontró que extractos de brócoli, coliflor y col concentrados a 65°C, presentaron inhibición de 55.17% sobre *Alternaria* spp. en el día 2, mientras que para el fin de tratamiento se obtuvo un 12% de inhibición utilizando concentraciones de 1 mg/mL, 10 mg/mL y 20 mg/mL. Además demostró que el extracto metanólico de *Larrea tridentata* inhibe hasta un 100% del crecimiento de *R. solani* señalando su efecto fungistático de manera eficaz, mientras que *Rosmarinus officinalis* inhibe hasta en un 63.7 % el crecimiento del patógeno (Rodríguez-Castro *et al.*, 2020).

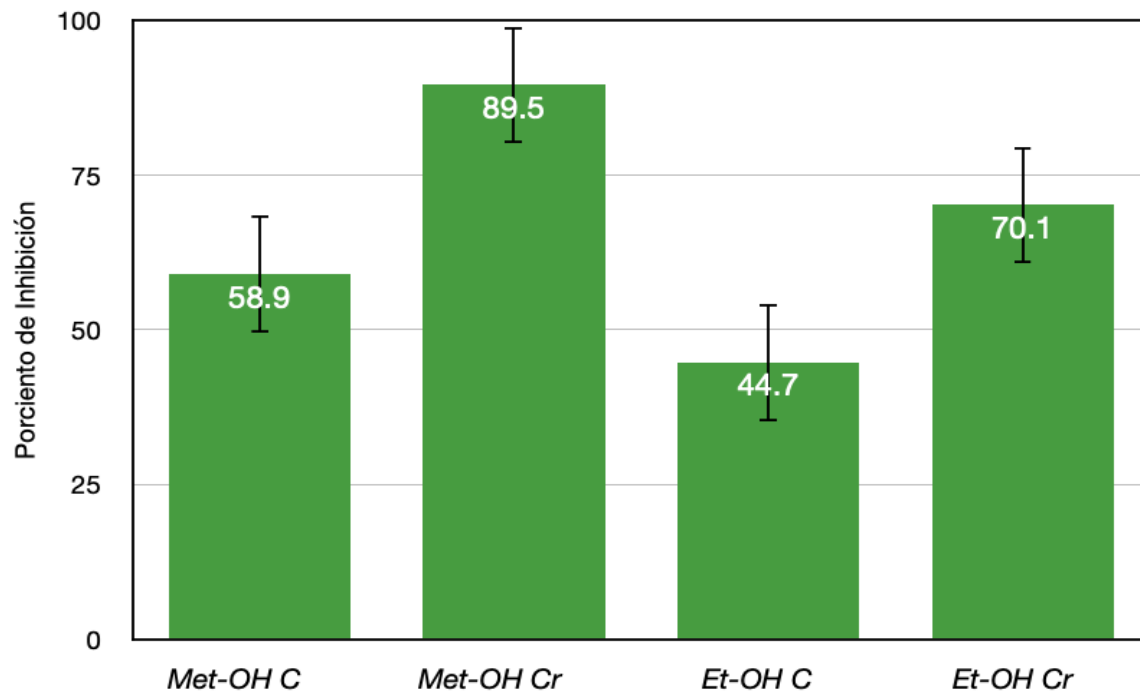
Tabla 7. Porcentaje de inhibición *in vitro* de los extractos concentrados de *Hamelia patens* contra *Rhizoctonia solani*.

Concentración mg/L	Et-OH	Met-OH
500	37.5 C	47.0 C
600	47.3 BC	53.9 BC
700	50.9 BC	55.5 BC
800	61.2 A	62.4 AB
900	58.2 AB	66.3 A
1000	62.9 A	68.4 A

#### **4.8.- Medias del porcentaje de inhibición de los extractos de *Hamelia patens* concentrados versus crudos**

Al analizar la comparación entre los extractos crudos y concentrados de metanol se observó una diferencia muy marcada, donde la de mejor eficacia fue con los extractos crudos (gráfica 9). En el 2004, Cimanga reportó una pronunciada actividad antibacteriana frente a *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium fortuitum*, *Streptococcus faecalis* y *Streptococcus pyogenes*, cantidad mínima inhibitoria, cantidad mínima bactericida y cantidad mínima fungicida (MIC, MBC y MFC < 65 µg/mL), por parte de extractos etanólicos de *Mitracarpus scaber* Zucc. (Rubiaceae), el MBC y MFC se establecieron como la concentración mínima que no permitía que ninguna colonia de microorganismos creciera en el medio después de la incubación.

Al comparar los resultados de los extractos etanólicos crudos contra los concentrados se obtuvo mayor eficacia por parte de los extractos crudos con un 70.1% de inhibición del patógeno. Al respecto, Okoye (2016) informó un análisis donde el extracto etanólico de *H. patens* demostró propiedades antibacterianas contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas mirabilis*, *S. aureus* y actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger*. Kanchana *et al.* (2020); encontraron que el extracto de etanol de *H. patens* mostró una zona de inhibición máxima de 9.8 mm contra *S. aureus*. En otro contexto Zainab *et al.* (2013) estudio extractos de *Pajanelia longifolia* (Rubiaceae) a base de etanol, los cuales mostraron inhibición de *Bacillus subtilis* y *Vibrio parahaemolyticus* a concentración de 500 µg/mL del extracto.



Gráfica 9. Comparación de los extractos concentrados vs crudos de *H. patens*.  
C= Concentrado y Cr= crudo. Las barras superiores, son las barras del error

## 5.- CONCLUSIONES

Los extractos vegetales de *Hamelia patens* reducen el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* en diferentes niveles de inhibición, destacando las concentraciones iguales o mayores a 500 mg del extracto por litro de agua, con resultados superiores al 70% de inhibición.

La temperatura degrada los compuestos fitoquímicos de los extractos, ya que a temperaturas mayores a 82°C los extractos perdieron efectividad, encontrándose resultados menores sobre el crecimiento del fitopatógeno.

Los valores menores en inhibición se obtuvieron a partir de extractos crudos de la planta en estudio, esto deja una oportunidad accesible de manejo, ya que no se necesita de equipo especializado para la extracción de los compuestos fitoquímicos, lo que generaría un menor costo para la producción del extracto.

Los extractos acuosos arrojaron resultados superiores de inhibición sobre los extractos alcohólicos, lo que permite sean usados dentro de un programa de manejo integrado de enfermedades, por lo que sólo se necesitaría de la planta deshidratada y de agua.

Por lo anterior se recomienda el uso de extractos vegetales, a los cuales se ha probado su efecto de control contra enfermedades, para de tal manera reducir el uso y efecto de fungicidas químicos.

## 6.- LITERATURA CITADA

- Abdoulaye, A. H., Foda, M. F., & Kotta-Loizou, L. (2019). Viruses infecting the plant pathogenic fungus *Rhizoctonia solani*. *Viruses*, 11(12), 1113.
- Abubacker, M. N., Sathya, C., & Prabakaran, R. (2013). *In vitro* antifungal potentials of *Hamelia patens* Jacq. (Rubiaceae) aqueous extracts of leaves, flowers and fruits. *Biosci. Biotechnol. Res. Asia*, 10, 699-704.
- Adirano-Anaya, M. D. L., Mejía-Ortiz, J., Ovando-Medina, I., Albores-Flores, V., & Salvador-Figueroa, M. (2018). Efecto de extractos alcohólicos de ajo (*Allium sativum*) y clavo (*Syzygium aromaticum*) en el desarrollo de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *Revista mexicana de fitopatología*, 36(3), 379-393.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology* (5th Edition). Elsevier.
- Aguilar-Alonso, P., Navarro-Cruz, A. R., Sánchez-Flores, A. B., Ávila-Sosa, R., & de la Cruz Meneses-Sánchez, M. (2013). Efecto antifúngico de extractos de plantas originarias del estado de Puebla sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. *CienciaUAT*, 06-11.
- Ahmad, A., Pandurangan, A., Singh, N., & Ananad, P. (2012). A mini review on chemistry and biology of *Hamelia patens* (Rubiaceae). *Pharmacognosy Journal*, 4(29), 1-4.
- 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.

- Al-Fadhal, F. A., Al-Abedy, A. N., Alkhafije, D. A. (2019). Isolation and molecular identification of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani* isolated from cucumber (*Cucumis sativus* L.) and their control feasibility by *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 29(47):1- 11. <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0145-5>.
- Alberca, T. E., & Dilas, C. R. H. (2021). *Efecto antimicótico del aceite esencial de Zingiber officinale (kión) frente a Cándida albicans ATCC in vitro* (Doctoral dissertation, Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt).
- Alzate, D. A., Mier, G. I., Afanador, L., Durango, D. L., & García, C. M. (2009). Evaluación de la fitotoxicidad y la actividad antifúngica contra *Colletotrichum acutatum* de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*), limoncillo (*Cymbopogon citratus*), y sus componentes mayoritarios. *Vitae*, 16(1), 116-125.
- Anguiz, J. R. & Martin, C. (1990). Caracterización y Patogenicidad de *Rhizoctonia solani* Kühn., que afecta a la papa en tres zonas ecológicas del Perú. *Fitopatología* 25(1), 16-22.
- Araque Barrera, E. J., Arias Moreno, D. M., Bohórquez Quintero, M. D. L. Á., Ojeda Pérez, Z. Z., & Pacheco Díaz, J. E. (2021). Descripción Botánica y Taxonómica de la papa.
- Atlas, (2021). Atlas Big. España. Obtenido de: Producción mundial de papa por país - AtlasBig.com
- Ávalos García, A. & Pérez-Urria, Carril, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. 2(3): 119-145.
- Banville, G. J. (1989). Yield losses and damage to potato plants caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn. *American Potato Journal*, 66(12), 821-834.



- Baños, S. B., Necha, L. L. B., Hernández, A. N., & Sánchez, D. G. (2008). Polvos, extractos y fracciones de hojas de *Cestrum nocturnum* L. y su actividad antifúngica en dos aislamientos de *Fusarium* spp. *Revista UDO Agrícola*, 8(1), 42-51.
- Barnett, H. L. y Hunter, B. B. (1998). Géneros ilustrados de hongos imperfectos. 4ª Edición, APS Press, St. Paul, 218.
- Barrera-Necha, L. L., & Bautista-Baños, S. (2008). Actividad Antifúngica de Polvos, Extractos y Fracciones de *Cestrum nocturnum* L. Sobre el Crecimiento Micelial de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. *Revista Mexicana De Fitopatología*, 26(1), 27-31.
- Bazaid, S. A., & ElMougy, N. S. (2010). Evaluación de la actividad biorreguladora de los jugos de hojas de plantas superiores en Al-Taif, Arabia Saudita contra *Fusarium solani*, *Phytophthora* spp. y *Rhizoctonia solani*. *Archivos de Fitopatología y Protección Fitosanitaria*, 43(11), 1064-1071.
- Begg, G. S., Cook, S. M., Dye, R., Ferrante, M., Franck, P., Lavigne, C., ... & Birch, A. N. E. (2007). A functional overview of conservation biological control. *Crop Prot*, (97) 145-158.
- Betancourth, C., Sañudo, B., Flores, C., Castro, B., Arteaga, F., Lagos Mora, L. E., & Salazar, C. (2020). Vulneración del cultivo de la papa ante problemas sanitarios emergentes en Nariño. 6-9.
- Bobbe, G., Zhang, Z., Kopp, R., Garzotto, M., Shannon, J., Takata, Y. Phytol y sus metabolitos ácidos fitánico y pristánico para el riesgo de cáncer: evidencia actual y direcciones futuras. *Eur J Cáncer Prev.* (2020) Mar; 29(2):191-200.
- Caballero, C. A., Villacorta, L. M., & Vásquez, C. P. (2016). Efecto del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y su combinación sobre la acción antifúngica en *Aspergillus flavus* en agar

chicha de maíz (*Zea mays* L.), variedad morado. *Pueblo Continente*, 22(1), 123-132.

Calachua Oyoquipa, O. F. (2019). Efecto antibacteriano *in vitro* de extractos de *Ruta graveolens* en *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Escuela profesional de Biología. Obtenido de: <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/10433>.

Cano-Cabrera. J. C., Alvarado-Espinosa, J., Ilina, A., Aguilar-González, C. N., & Martínez-Hernández, J. L. (2009). Efecto de extractos acuosos de *Larrea tridentata*, *A. lecheguilla* Y cáscara de nuez (*Carya illinoensis*) contra microorganismos fúngicos. In *Congreso Nacional De Biotecnología Y Bioingeniería*.

Carling, D, E. (1996). Agrupación en *Rhizoctonia solani* por reacción de anastomosis hifal. En: Sneh, B.; Jabaji-Hare, S.; Neate, S. y Dijst, G. eds. *Rhizoctonia* especies. Taxonomía, Biología Molecular, Ecología, Patología y Control de Enfermedades, Kluwer Academic, Dordrecht, Países Bajos, 37-47.

Carling, D. E., R. H. Leiner y P. C. Westphale. (1989). Symptoms, signs and yield reduction associated with *Rhizoctonia* disease of potato induced by tuber borne inoculum of *Rhizoctonia solani* AG-3. *American Potato Journal* 66(11), 693-697.

Caro, S. B., Ortiz, M. A., Novoa, E. P., Sincelejo, Y. C., Romero, D. V., & Cordero, A. P. (2020). Evaluación de la eficiencia antifúngica de bioproductos obtenidos de orégano de monte (*Lippia alba*) sobre *Fusarium equiseti* causante de la pudrición del ñame. @ *Limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 17(2), 58-71.

Castillo-Reyes, F., Hernández-Castillo, F. D., Gallegos-Morales, G., Flores-Olivas, A., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2015). Efectividad *in vitro* de

- Bacillus y polifenoles de plantas nativas de México sobre *Rhizoctonia solani*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(3), 549-562.
- Caro, Castro. J., Mateo Tuesta, C., Cisneros Moscol, J., Galindo Cabello, N., & León Quispe, J. (2019). Aislamiento y selección de actinomicetos rizosféricos con actividad antagonista a fitopatógenos de la papa (*Solanum tuberosum* spp. andigena). *Ecología Aplicada*, 18(2), 101-109.
- Castro, C. (1989). Ecología de *Rhizoctonia solani* y desarrollo de la enfermedad en relación con los grupos de anastomosis. En *La Conferencia de Planificación sobre Enfermedades Fúngicas de la Papa, Lima (Perú), 21-25 Sep. 1987*. CIP.
- Cavaliere, C., Rea, P., Lynch, M. E., & Blumenthal, M. (2009). Herbal supplement sales experience slight increase in 2008. *HerbalGram*. Pág. 58-61.
- Cimanga, R. K., Kambu, K., Tona, L., De Bruyne, T., Sandra, A., Totte, J., & Vlietinck, A. J. (2004). Actividades antibacterianas y antifúngicas de algunos extractos y fracciones de *Mitracarpus scaber* Zucc. (Rubiaceae). *Revista de remedios naturales*, 4(1), 17-25.
- CIP. 1983. International Potato Center. Annual Report. Lima Perú. 148.
- CONABIO. (2020). *Hamelia patens*. Malezas de México.
- Cordell, G. A. (2000). Biodiversity and drug discovery a symbiotic relationship. *Phytochemistry*, 55(6) 463-480.
- Correia, D. B., Correia, D. B., Verçosa, C. J., Figueroa, M. E. V., de Oliveira, J. P. C., dos Santos, A. F., ... & de Lima, C. L. B. (2022). Óleos essenciais de especies Lamiaceae com potencial atividade Anti-fúngica: uma revisão. *Investigación, Sociedad y Desarrollo*, 11(2), e15111225392-e15111225392.

- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
- Cristóbal-Alejo, J., Navarrete-Mapen Z., Herrera-Parra, E., Mis-Mutt, M., Tun-Suárez, J. & Ruiz-Sánchez, E. (2013). Hifomicetos asociados a plantas tropicales del estado de Yucatán, México: identificación genérica y evaluación de fungicidas para su control. *Revista de Protección Vegetal*, 28(2), 138-144.
- Cruz, D. M. O. (2000). Uso de sustancias naturais de origen vegetal com actividade biológico na proteccao das cultural agrícolas. *Agronomía Lusitana*. 48 (Suplemento 2) 1-44.
- Cyclamen. (2011). Obtenido de Cyclamen.com: <https://www.cyclamen.com/es/profesional/enfermedades/8/22>
- Das, S., Shah, F. A., Butler, R. C., Fallon, R. E., Stewart, A., Raikar, S., & Pitman, A. R. (2014). Genetic variability and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* associated with black scurf of potato in New Zealand. *Plant Pathology*, 63(3), 651–666.
- Díaz, C. M. U., & Lara, A. E. Y. (2021). Efecto antifúngico in vitro del zumo de *Allium sativum* L. (ajo) Y *Allium cepa* (cebolla) sobre *Candida albicans*".
- Díaz-Díaz, A., Hernández-Castillo, F. D., Belmares-Cerda, R. E., Gallegos-Morales, G., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar-González, C. N. (2013). Efecto de extractos de *Larrea tridentata* y *Flourensia cernua* en el desarrollo de plantas de tomate inoculadas con *Phytophthora capsici*. *Agraria*, 10, 49-58.
- Duke, J. A. (2009). *Medicinal Plants of Latin America* (No. 615.321 D8851m Ej. 1 022786). CRC Press.
- Enríquez Díaz, M. S., Gómez Zapata, G., & Guerrero Manrique, M. A. D. C. (2018). Efecto antifúngico in vitro de los extractos hidroetanólicos de *Prosopis pallida*

(algarrobo), *Plantago major* (llantén), *Ruta graveolens* (ruda) sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

Escalona, Y., Rodríguez, D., & Hernández, A. (2011). *Rhizoctonia solani* Kühn aislado de papa (*Solanum tuberosum* L.): En los estados Táchira, Mérida, Trujillo y Lara. I. Caracterización cultural. *Bioagro*, 23(3), 161-168.

FAO. (2016). Producción agrícola. Hortalizas. Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

Flores, C. G. L. (2017). Elaboración de un biopesticida a partir de nano-emulsiones en base acuosa con aceite de jengibre (*Zingiber officinale*) para el control de podredumbre gris (*Botrytis cinerea*).

Flores, R. A. J. (2017). Efecto antimicrobiano in vitro del extracto hidroalcohólico del rizoma de *Curcuma longa* (Guisador), sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.

Fontanills, Y. R., Ávila, A. L. V., Campos, C. C., Trujillo, M. M., del Castillo, M. S., & Hernández, Y. P. (2018). Composición fitoquímica y actividad antibacteriana de extractos de hoja de *Hamelia patens* Jacq. *Biotecnología Vegetal*, 18(1).

Frank, J. A. (1981). Rhizoctonia canker (black scurf). *WJ Hooker. Compendium of Potato Diseases. American Phytopathological Society. St. Paul, MN, EE. UU.*

García, M. C., Acosta Ramos, M., Vázquez-Martínez, O., Pérez-Sato, M., García-Munguía, A., García-Munguía, O., & García Munguía, A. (2017). Morphological, molecular and pathogenic diagnostic of fungi in lawn's root and neck in México. *Phyton*, 86, 258.

García, E. (1973). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen. UNAM, Instituto de Geografía. México, D.F. 36-52.

- García, R., García, A., & Garnica, C. (2000). Estudio de *Rhizoctonia solani* y evaluación de alternativas de control en el estado de Mérida. En: Memorias del XIX Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa. Ciudad de la Habana, Cuba. 28.
- García, R., García, A., & Garnica, C. (2002). Distribución, incidencia y alternativas de control de *Rhizoctonia solani* en el cultivo papa en el Estado Mérida, Venezuela. *Revista Latinoamericana de la papa*, 13(1), 24-41.
- Gavilla, A. A., Romero, L. M., & Moya, X. R. (2020). Potencial antifúngico de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. *Agricultura Tropical*, 5(2), 39-45.
- Ghaneian, M. T., Ehrampoush, M. H., Jebali, A., Hekmatimoghaddam, S., Mahmoudi, M. (2015). Antimicrobial activity, toxicity and stability of phytol as a novel surface disinfectant. *Environmental Health Engineering and Management Journal*, 2(1), 13-16.
- Gómez, B. A., Rucinski J. C., Balick. M. J., & Tipton, C. (2003). Double incision wound healing bioassay using *Hamelia patens* from El Salvador. *Journal of Ethnopharmacology* 88(2-3), 169-173.
- González, E. T. (2009). Plagas y enfermedades de la papa. Recuperado el 22 de 3 de 2015, de [http://www.agrocabildo.org/publica/Publicaciones/papa\\_112\\_Plagenfpapa1.pdf](http://www.agrocabildo.org/publica/Publicaciones/papa_112_Plagenfpapa1.pdf).
- Guerra, B. J. L. (2019). Caracterización de mecanismos biocontroladores de *Trichoderma* spp. y evaluación del efecto protector en aliso (*Alnus acuminata* Kunth) en vivero.
- Guerrero-Rodríguez, E., Solís-Gaona, S., Hernández-Castillo, F. D., Flores-Olivas, A., Sandoval-López, V., & Jasso-Cantú, D. (2007). Actividad Biológica in vitro de Extractos de *Flourensia cernua* DC en Patógenos de Postcosecha:

*Alternaria alternata* (Fr.: Fr.) Keissl., *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz y Sacc, y *Penicillium digitatum* (Pers.: Fr.) Sacc. *Revista mexicana de Fitopatología*, 25(1), 48-53.

Gurav, N. P., Singh, S., Basavaraj, K., Mehta, N., y Madane, A. J. (2018). Characterization of Cultural and Morphological Variability in *Rhizoctonia solani* Isolates Associated with Black Scurf of Potato. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 7(7), 2438-2445.

Harding, D. P., & Raizada, M. N. (2015). Controlling weeds with fungi, bacteria and viruses: a review. *Frontiers in Plant Science*. 6(659): 1-14.

Harris, P. (1978). El cultivo de la papa. La base científica para la mejora. Londres, 730.

Hernández-Castillo, F. D., Lira-Saldivar, R. H., Cruz-Chávez, L., Gallegos-Morales, G., Galindo-Cepeda, M. E., Padrón-Corral, E., & Hernández-Suárez, M. (2008). Potencial antifúngico de cepas de *Bacillus* spp y extracto de *Larrea tridentata* contra *Rhizoctonia solani* en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.). *Phyton (Buenos Aires)*, (77), 241-252.

Hooker, (1990), Compendium of potato diseases. *American Phytopathological Society*. St, Paul, Minnesota, U, S, A. 125.

Huanca, Camargo. J. Y., Jaimes, Zacarías. P. F., & José, Á. P. (2018). Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de la *Mentha spicata* (hierba buena) contra cultivos de *Cándida albicans*.

INIFAP. (2020). Distribución de la producción de papa a nivel nacional. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.

INIFAP. (2019). Problemática del cultivo de papa. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.

- INECOL (2021). Coralillo *Hamelia patens*. Instituto de Ecología, A. C. Obtenido de: <http://inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-1/redes-tematicas/37-planta-del-mes/924-hamelia-patens>.
- Islam, M.T., Ali, Eunü.S., Uddin, S.J., Shaw, S., Islam, M.A., Ahmed, M.I., Chandra Shill, M., Karmakar, U.K., Yarla, N.S., Khan, I.N., Billah, M.M., Pieczynska, M.D., Zengin, G., Malainer, C., Nicoletti, F., Gulei, D., Berindan-Neagoe, I., Apostolov, A., Banach, M., Yeung, A.W.K., El-Demerdash, A., Xiao, J., Dey, P., Yele, S., Józwik, A., Strzałkowska, N., Marchewka, J., Rengasamy, K.R.R., Horbańczuk, Jarosł., Kamal, M.A., Mubarak, M.S., Mishra, S.K., Shilpi, J.A., Atanasov, A.G., Phytol: A review of biomedical activities, *Food and Chemical Toxicology* (2018), doi: 10.1016/j.fct.2018.08.032.
- Jaramillo, Aguilar. E., Barrezueta-Unda, S., Luna Romero, E., & Castillo Herrera, S. (2017). Efecto biofungicida del gel de *Aloe vera* sobre *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal de la Sigatoka negra en Musa (AAA). *Scientia Agropecuaria*, 8(3), 273-278.
- Jiménez, E. V., & Mosquera, O. M. (2014). Actividad antifúngica *in vitro* de tres extractos de plantas frente a *Botrytis cinerea* (Moho gris). *Salud & Sociedad Uptc*, 1(2).
- Johnson, S. B., y Leach, S. S. (2020). Datos sobre la papa: Enfermedades por *Rhizoctonia* en papas. Cooperativa de la Universidad de Maine. Extensión, 2-7.
- Joya-Dávila, J. G., Ramírez-González, S. I., López-Báez, O., & Alvarado-Gaona, Á. E. (2015). Efecto antifúngico de hidrodestilados de *Zingiber officinale* Roscoe sobre *Moniliophthora roreri* (Cif&Par). *Ciencia y Agricultura*, 12(2), 21-29.
- Juárez-Segovia, K. G., Díaz-Darcía, E. J., Méndez-López, M. D., Pina-Canseco, M. S., Pérez-Santiago, A. D., & Sánchez-Medina, M. A. (2019). Efecto de



extractos crudos de ajo (*Allium sativum*) sobre el desarrollo in vitro de *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus niger*. *Polibotánica*, (47), 99-111.

Kanchana, V., Kumar, G. V. & Shalini, R. V. (2020). Análisis fitoquímico preliminar y estudio antibacteriano del extracto crudo de tallos de *Hamelia patens*.

Kara, A. & Arici, S.E. (2019). Determination of Gamma Rays Efficiency against *Rhizoctonia solani* in Potatoes. *Open Chem*, 17(1), 254-259.

Khandelwal, S., Sharma, P., Singh, T., & Vijayvergia, R. (2012). Anthelmintic and antimicrobial activity of *Hamelia patens* Jacq. (Rubiaceae). *International Journal of Natural Products Research*, 1(3), 54-56.

Lawson, L. (2018). Pudrición de la raíz por *Rhizoctonia*: Los síntomas y cómo controlarlos. *Obtenido de: <https://www.pthorticulture.com/es/centrodeformacion/pudricion-de-la-raiz-por-rhizoctonia-los-sintomas-y-comocontrolarlos>*.

Lima, T., Souza, L., Tavares-Pessoa, L., Santos-Silva, A., Cavalcante, R. S., Araújo-Júnior, R. F., Cornélio, A. M., Fernandes-Pedrosa, M. F., Chaves, G. M., & Silva-Júnior, A. (2020). Phytol-Loaded Solid Lipid Nanoparticles as a Novel Anticandidal Nanobiotechnological Approach. *Pharmaceutics*, 12(9), 871. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12090871>.

Lizcano, G. M. C. (2007). Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de tomillo (*Thymus vulgaris*) contra *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* y *Sclerotinia sclerotiorum*.

Lizcano-Ramón, A. J., Torres-Cárcamo, M. E., & Vergara-González, J. L. (2008). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Lycianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos. *Pérez-Arbelaezia*, (19), 163-187.

- López-Rivera, R. J., Espinosa-Andrews, H., García-Márquez, E., & Herrera-Rodríguez, S. E. (2018). Efecto antifúngico de emulsiones a base de aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia graveolens*), contra *Candida albicans*. *Salud Jalisco*, 5(1), 42-45.
- Lozada, B. S., Herrera, L. V., Perea, J. A., Stashenko, E., & Escobar, P. (2012). Efecto in vitro de aceites esenciales de tres especies de *Lippia* sobre *Moniliophthora roreri* (Cif. y Par.) Evans *et al.*, agente causante de la moniliasis del cacao (*Theobroma cacao* L.). *Acta agronómica*, 61(2), 102-110.
- Luyo, H. M. E. (2020). Efecto sinérgico antifúngico de la combinación de fluconazol y aceite esencial de *Syzygium aromaticum* sobre *Candida albicans*, *in vitro*.
- Maldoni, B. (1991). Alkaloids: isolation and purification. *Journal of Chemical Education*, 68(8), 700-703.
- Mantecón, J. D. (2015). Fungicidas aplicados al suelo como estrategia de manejo integrado de enfermedades en papa, bajo escenarios de elevada infestación inicial y residual. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 19(1), 29-39.
- Martin, C., & Torres, H. (1989). Control de Rhizoctonia y otras enfermedades transmitidas por el suelo de TPS [verdadera semilla de papa]. En *La Conferencia de Planificación sobre Enfermedades Fúngicas de la Papa, Lima (Perú), 21-25 Sep. 1987*. CIP. 192-205.
- Martínez, B., Barrios, G., & Rovesti, L. Santos. (2007). Manejo Integrado de Plagas. Tarragona, España: Editorial Grup Bou. *Recuperado de Manejo Integrado de Plagas*, 119-221.
- Mendoza, Z.C. y C.B. Pinto, (1983). Principios de fitopatología y enfermedades causadas por hongos. *Universidad Autónoma de Chapingo*. 286-288.

- Mesa-Vanegas, A. M.; Zapata-Uribe, S.; Arana, L.M.; Zapata, C.I.; Monsalve, Z., & Rojano, B. (2015). Antioxidant activity of different polarity extracts from *Ageratum conyzoides* L. *Boletín latinoamericano del caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 14(1): 1-10.
- 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. *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 45(1), 23-30.
- Moreno-Limón, S., González-Solís, L. N., Salcedo-Martínez, S. M., Cárdenas-Ávila, M. L., & Perales-Ramírez, A. (2011). Efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* L.) sobre la inhibición in vitro de *Aspergillus flavus* y *Penicillium* sp. *Polibotánica*, (32), 193-205.
- Moreno-Limón, S., Salcedo-Martínez, S. M., Cárdenas-Ávila, M. L., Hernández-Piñero, J. L., & Núñez-González, M. A. (2012). Efecto antifúngico de capsaicina y extractos de chile piquín (*Capsicum annum* L. var *aviculare*) sobre el crecimiento in vitro de *Aspergillus flavus*. *Polibotánica*, (34), 191-204.
- Murbach Teles Andrade, B.F., Nunes Barbosa, L., da Silva Probst, I., & Fernandes Júnior, A., (2014). Antimicrobial activity of essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 26(1), 34-40.
- Muzhinji, N. Woodhall J. W., Truter, M., Van der Waals J. E. (2018) Variation in Fungicide Sensitivity Among *Rhizoctonia* Isolates Recovered from Potatoes in South Africa. *Plant Disease* 102(8), 1520-1526.
- Necha, L. L. B., & Barrera, L. J. G. (2008). Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp aislado de papaya (*Carica papaya*). *Revista científica UDO agrícola*, 8(1), 33-41.
- Nene, Y. L. & Thapilyal, P.N. (2000). Fungicides in Plant Disease Control (5 ed.), Oxford and IBH Publishing Company, Nueva Delhi. 691.

- O'Brien, P. A. (2017). Biological control of plant diseases. *Australasian Plant Pathology*, 46(4), 293-304.
- Okoye, E. L. (2016). Actividad antimicrobiana de los extractos crudos de *Hamelia patens* en algunas muestras clínicas seleccionadas. *Disponible en SSRN 3448907*.
- Ondarza Beneitez, M. A. (2017). Biopesticidas: Tipos y aplicaciones en el control de plagas agrícolas. *Agroproductividad*, 10(3), 31-367.
- Otiniano, R. (2017). Manual del cultivo de papa para pequeños productores en la sierra de Perú.
- Pardo, A. K., Arenas, J. J., Gómez, M., Lora, F. M., & Gómez, J. E. (2011). Determinación de la actividad antifúngica de extractos de Lantana camara frente a *Candida* spp. *Infection*, 15(4), 235-242.
- Parmeter, J.C.; R. T. Sherwood & W.D. Platt. (1969). Anastomosis groups among isolates of *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology*, 59, 1270-1278.
- Pedraza Villamil, M. G. (2017). Evaluación de la actividad antifúngica de *Cestrum nocturnum* l. Sobre la levadura *Candida albicans*.
- Peñuelas-Rubio, O., Arellano-Gil, M., Vargas-Arispuro, I. D. C., Lares-Villa, F., Cantú-Soto, E. U., Hernández-Rodríguez, S. E., & Mungarro-Ibarra, C. (2015). Bioactividad in vitro de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata*) sobre la inhibición de hongos poscosecha: *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus niger*, *Penicillium polonicum* y *Rhizopus oryzae*. *Polibotánica*, (40), 183-198.
- Pérez, C. A., Chamorro, A. L., & Vitola, R. D. (2017). Caracterización química y evaluación de la actividad antifúngica del aceite esencial foliar de *Lippia alba* contra *Colletotrichum gloeosporioides*. *Revista peruana de biología*, 24(2), 211-216.

- Pérez-Cordero, A., Chamorro-Anaya, L., & Mercado-Gómez, J. D. (2021). Inhibición de *Colletotrichum gloeosporioides* en cultivos de ñaño en el Caribe colombiano usando aceites esenciales de *Curcuma longa* y *Zingiber officinale*. *Ciencia en Desarrollo*, 12(1), 1-12.
- Quintana, O. E. A., Plascencia, J. M., González, A. G. A., & Cortez, R. M. O. (2010). Inhibición del crecimiento de *Penicillium chrysogenum* por presencia de aceites de *Cinnamomum zeylanicum*, *Allium cepa* y *Cymbopogon citratus*. *Revista mexicana de micología*, 32, 59-62.
- Ramírez, A. C. F. (2017). Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos vegetales obtenidos a partir de hojas de brásicas.
- Revilla, M. R., Vuelta, L. D. R., & Guerrero, B. D. (2020). Efecto in vitro de extractos vegetales y *Trichoderma harzianum* en el control de *Fusarium oxysporum* aislado de vivero de café (*Coffea arabica*). *Ciencia en su PC*, 1(2), 48-65.
- Ríos, M. Y., & Aguilar-Guadarrama, A. (2006). Alcaloides indólicos, terpenos, esteroides y flavonoides de las hojas de *Hamelia patens* Jacquin (Rubiaceae). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 11(1), 0-0.
- 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.
- Rodríguez-Maturino, A., Troncoso-Rojas, R., Sánchez-Estrada, A., González-Mendoza, D., Ruiz-Sánchez, E., Zamora-Bustillos, R., & Aviles-Marin, M. (2015). Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum var. glabriusculum*) en *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*. *Revista Argentina de microbiología*, 47(1), 72-77.
- Rojas Llanos, G. R. (2019). Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Mentha piperita* "menta" sobre cepas de *Streptococcus mutans* atcc 25175.

- Rojas, J. J., García, A. M., López, A. (2005). Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. *Boletín latinoamericano del caribe de las plantas medicinales y aromáticas*, 4(2): 28-35.
- Rojas, S., & de los Ángeles, M. (2018). Uso de extractos vegetales de plantas amazónicas para el diseño de programas de manejo integrado de plagas (MIP) en Ecuador (Doctoral dissertation, Universidad de Sevilla).
- Romero, L., Espinoza, M., & Moya, X. (2011). Evaluación del efecto de extractos vegetales como alternativa de manejo a la sigatoka negra en el cultivar Gran Enano (AAA). *Centro Agrícola*, 38(2), 77-84.
- Rosales Cuentas, M. M. (2019). Efecto antifúngico in vitro e in vivo del extracto etanólico de *Aloe vera* (L.) Burm. f. sobre *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.
- Sáenz, P. L. H., Vásquez, T., & Cecilia, A. (2021). Efecto antifúngico *in vitro* de extracto etanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. Universidad privada Antenor Orrego Trujillo (2019).
- Sharapin, N. (2000). Fundamentos tecnológicos fitoterapéuticos. Primera edición. Cooperación Iberoamericana, *Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Colombia*. 18 - 29.
- SIAP, (2020). Producción de papa a nivel nacional. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
- Singh, D. (2014). Advance in Plant Biopesticides. *Springer*. 401.
- Sneh, B, L., Burpee, L. C., & Ogoshi, A. C. (1991). Identificación de especies de *Rhizoctonia*. (No. 581 Sn26i Ej. 1 004809). APS Press.

- Solihah, I., Mardiyanto, M., Fertilita, S., Herlina, H., & Charmila, O. (2018). The Standardization of Ethanolic Extract of Tahongai Leaves (*Kleinhovia hospita* L.). *Science and Technology Indonesia*, 3(1), 14–18.
- Soria, S., Alonso, R., & Bettucci, L. (2012). Endophytic Bacteria from *Pinus taeda* L. as Biocontrol Agents of *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 72(2), 281-284.
- Spooner, D. M., & W. L. A. Hetterscheid. (2005). Origins, evolution, and group classification of cultivated potatoes. pp. 285-307. En: Motley, T.J., N. Zerega y H. Cross (eds.). *Darwins harvest: new approaches to the origins, evolution and conservation of crops*. Columbia University Press, New York, NY.
- Stevens, W. D., C. Ulloa U., A. Pool y O. M. Montiel (eds), (2001). *Flora de Nicaragua*. Vol. 85, tomo I, II y III. Missouri Botanical Garden Press. St. Louis Missouri. Villaseñor R., J. L y F. J. Espinosa G., 199. Catálogo de Malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. México D.F.
- Suárez, V. J., Munguía, A. R., Berúmen, C. M. P., & Sánchez, B. A. (2012). Separación cromatográfica del extracto de *Hamelia patens*. *Tlatemoani: revista académica de investigación*, (11), 11.
- Sundin, G. W., Castiblanco, L. F., Yuan, X., Zeng, Q. & Yang, C. H. (2016). Bacterial disease management: challenges, experience, innovation and future prospects. *Molecular Plant Pathology*. 17(9): 1506-1518.
- Surana A. R., Kumbhare M. R., & Wagh, R. D. (2016) Estimation of total phenolic and total flavonoid content and assessment of *in vitro* antioxidant activity of extracts of *Hamelia patens* Jacq stems. *Research Journal of Phytochemistry*, 10(2), 67-74.

- Surana, A., & Wagh, R. (2015). Phytopharmacological review of *Hamelia patens*. *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars*, 4(2), 290-295.
- Taylor, L. (2005). El poder curativo de las hierbas de la selva tropical.
- Taylor, P., Arsenak, M., Abad, M. J., Fernández, Á., Milano, B., Gonto, R., & Michelangeli, F. (2013). Cribado de extractos de plantas medicinales venezolanas para la actividad citostática y citotóxica contra líneas celulares tumorales. *Investigación en fitoterapia*, 27(4), 530-539.
- Tena, A. R., Enríquez, G. R., Pérez, L. L., Martínez, Z. E., & Aguilar, E. E. Q. (2015). Lucha entre microbios: una herramienta para el control de enfermedades de plantas. *Revista Digital Universitaria UNAM*, 16(11), 2-15.
- Terrones, G. (2013). Efecto antifúngico del extracto etanólico de frutos secos de *Capsicum annuum var. annuum* "pimentón" sobre el crecimiento de *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum* y *Aspergillus niger*. *Sagasteguiana*, 1(2), 31-40.
- Torres, H. (2002). *Manual de las enfermedades más importantes de la Papa en el Perú*. Centro Internacional de la Papa. 19-21.
- Touré, A., Bahi, C., Bagre, I., N'guessan, J. D., Djama, A. J., & Coulibaly, A. (2010). In vitro antifungal activity of the soap formulation of the hexane leaf extract of *Morinda morindoides* (morinda; rubiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 9(3).
- Tucuch-Pérez, M. A., Arredondo-Valdés, R., & Hernández-Castillo, F. D. (2020). Actividad antifúngica de compuestos fitoquímicos de extractos de plantas del semidesierto mexicano contra *Fusarium oxysporum* del tomate por el método de micro dilución en placa Antifungal activity of phytochemical compounds of extracts from Mexican semi-desert plants against *Fusarium oxysporum* from tomato by microdilution. *Nova Scientia*, 12(25), NA-NA.



- Valdés Oyervides, F. J. (2012). Efecto de estrés inducido con NaCl, Cu<sup>2+</sup> y Fe<sup>2+</sup> en biomasa, timol, carvacrol y prolina en orégano mexicano (*Lippia graveolens HBK*) (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- Valenzuela, N. L., Ángel, N., Ortiz, T., Rosas, A., Santos, M. O., & García, C. F. O. (2013). Potencial antifúngico de extractos de cuatro especies vegetales sobre el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* en papaya (*Carica papaya*) en poscosecha. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4(1), 047-062.
- Viera-Arroyo, W. F., Tello-Torres, C. M., Martínez-Salinas, A. A., Navia-Santillán, D. F., Medina-Rivera, L. A., Delgado-Párraga, A. G., ... & Jackson, T. (2020). Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2), 128-149.
- Warton, P., Kirk, W., Berry, D. & Snapp, S. 2007. Enfermedades de la papa: Cancro del tallo por *Rhizoctonia* y costra negra de la papa. *Boletín de Extensión de Michigan*, E-2994.
- Xiong, L., Shen, Y. Q., Jiang, L. N., Zhu, X. L., Yang, W. C., Huang, W., & Yang, G. F. (2015). Succinato deshidrogenasa: un objetivo ideal para el descubrimiento de fungicidas. *Descubrimiento y síntesis de productos fitosanitarios*, 175-194.
- Zainab, A., Bhat, R., Acharya, S., Yende, A., PS, P., & Padyana, S. (2013). Estudios sobre las actividades antioxidantes y antimicrobianas de *Pajanelia longifolia* (Willd.) Schumann. *Revista de Investigación de la Obesidad*. DOI, 10 (2013.756484).
- Zambrano Achig, P. E. (2017). Efecto *in vitro* del extracto de aloe vera sobre *Candida albicans*. *Universidad de las Américas* (Ecuador).

Zárate, M. D. G. M., Ramos, M. P., González, J. F. C., Juárez, V. M. M., & Rodríguez, I. A. (2016). Efecto del ajo (*Allium sativum*) sobre el crecimiento de algunas especies de hongos. *Tlatemoani: revista académica de investigación*, 7(22), 120-136.

Zengin, G., Malainer, C., Nicoletti, F., Gulei, D., Berindan-Neagoe, I., Apostolov, A., Banach, M., Yeung, A. W. K., El-Demerdash, A., Xiao, J., Dey, P., Yele, S., Jóźwik, A., Strzałkowska, N., Marchewka, J., Rengasamy, K. R. R., Horbańczuk, Jarosł., Kamal, M. A., Mubarak, M. S., Mishra, S. K., Shilpi, J. A., Atanasov, A. G. (2018). Phytol: A review of biomedical activities, *Food and Chemical Toxicology*, doi: 10.1016/j.fct.2018.08.032.

## ANEXOS



Figura 1. Corte del esclerocio



Figura 2. Lavado



Figura 3. Secado

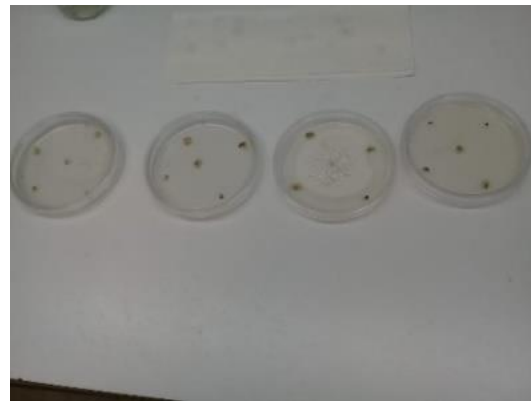


Figura 4. Siembra

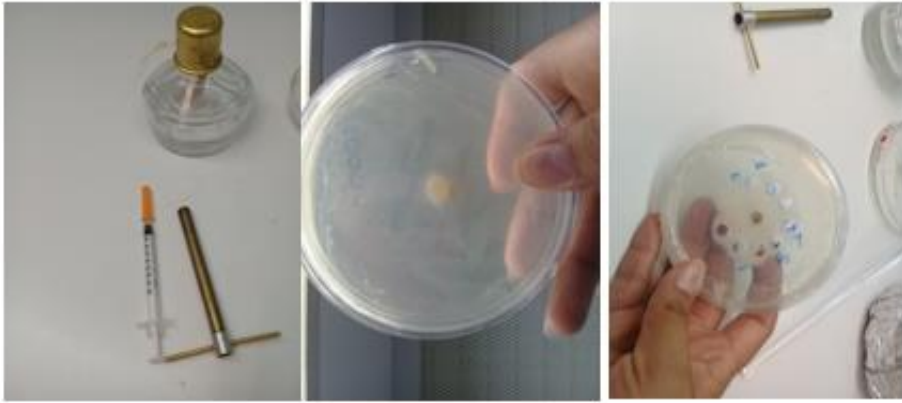


Figura 5. Purificación del hongo



Figura 6. Identificación

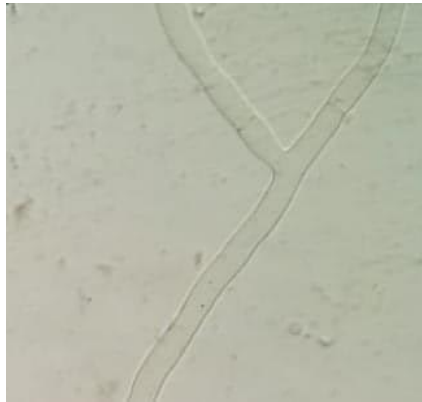


Figura 7. *R. solani*



Figura 8. Pulverización

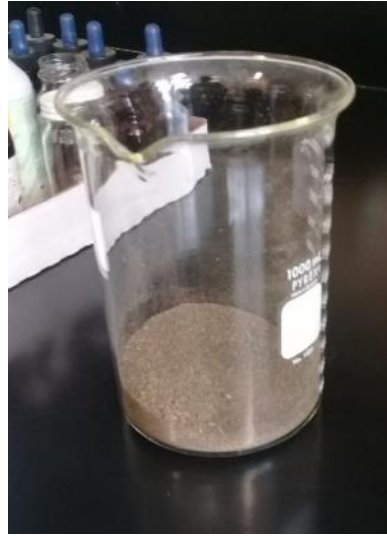


Figura 9. Depósito de *H. patens*

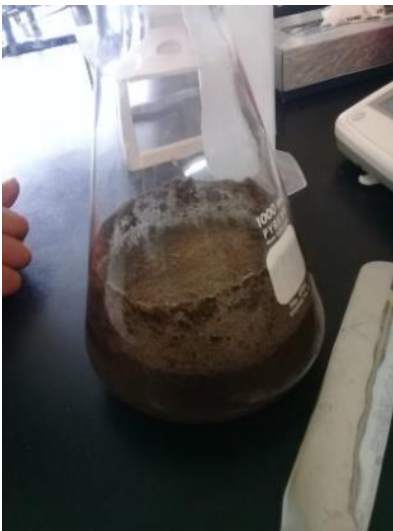


Figura 10. Mezcla



Figura 11. Agitación



Figura 12. Filtrado



Figura 13. Centrifugado

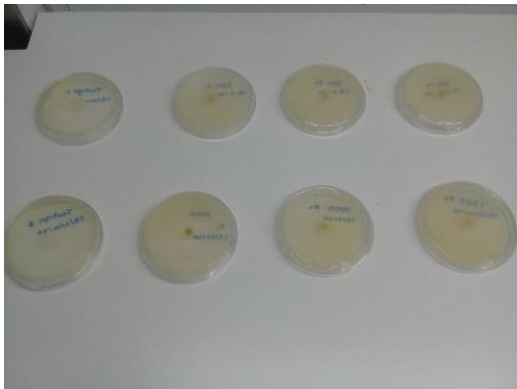


Figura 14. Establecimiento

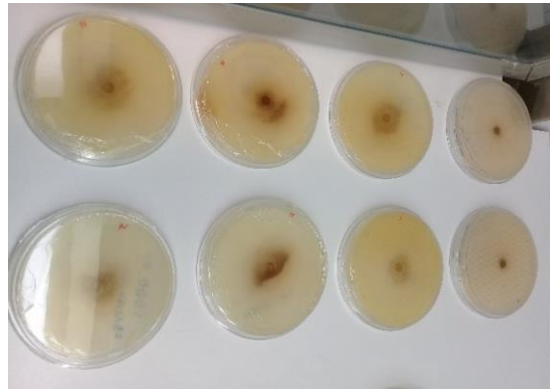


Figura 15. Periodo de crecimiento



Figura 16. Desinfección

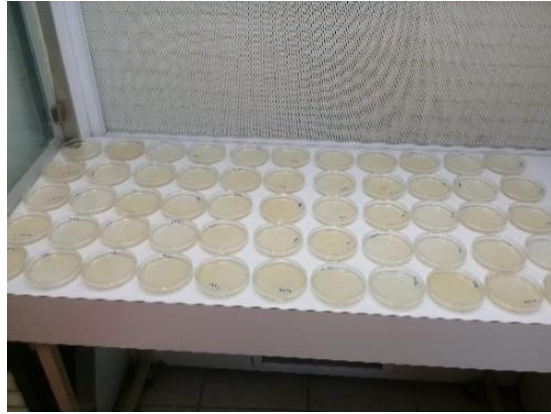


Figura 17. Establecimiento de tratamientos



Figura 18. Incubación

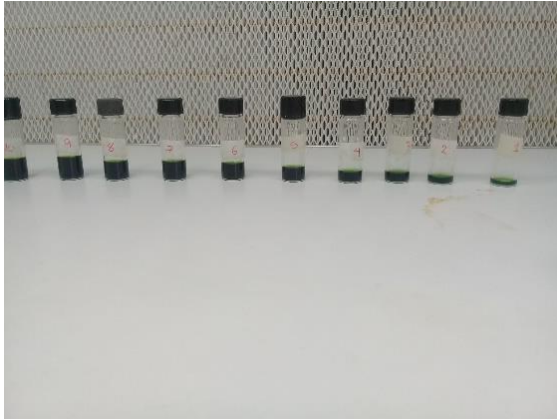


Figura 19. Preparación de concentraciones (extractos crudos)

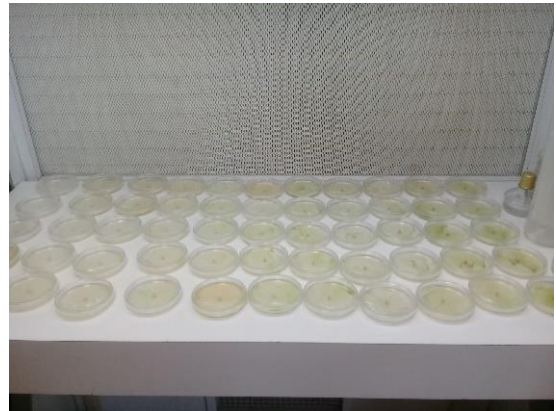


Figura 20. Establecimiento del experimento

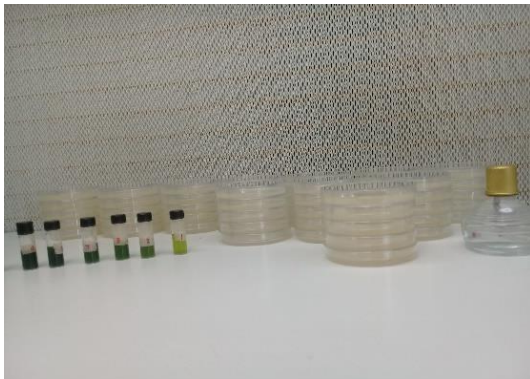


Figura 21. Preparación de concentraciones (extractos concentrados)



Figura 22. Incubación



## ANÁLISIS

Tabla 8. Resultados del análisis de varianza de la inhibición del extracto acuoso de *H. patens* contra *R. solani* de la papa.

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F -Valor	Pr > F
Tratamiento	9	329.2552	36.5839111	1.52	0.1758
Error	40	965.54	24.1385		
Total	49	1294.7952			
Correcto					

**Coefficiente de variación: 6.09**  
**R-cuadrada= 0.25**

Tabla 9. Resultados del análisis de varianza de la inhibición del extracto crudo etanólico de *H. patens* contra *R. solani* de la papa.

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F -Valor	Pr > F
Tratamiento	9	26698.7848	2966.53164	60.12	0.0001
Error	40	1973.60400	49.34010		
Total	49	28672			
Correcto					

**Coefficiente de variación: 10.01576**  
**R-cuadrada= 0.931167**

Tabla 10. Resultados del análisis de varianza de la inhibición del extracto crudo metanólico de *H. patens* contra *R. solani* de la papa.

<b>Fuente</b>	<b>DF</b>	<b>Anova SS</b>	<b>Cuadrado de la media</b>	<b>F -Valor</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Tratamiento</b>	9	46617.2008	5179.68898	40.59	0.0001
<b>Error</b>	40	5104.75200	127.61880		
<b>Total</b>	49	51721.9528			
<b>Correcto</b>					

**Coefficiente de variación: 16.88920**  
**R-cuadrada= 0.901304**

Tabla 11. Resultados del análisis de varianza de la inhibición del extracto etanólico concentrado a 90°C de *H. patens* contra *R. solani* de la papa.

<b>Fuente</b>	<b>DF</b>	<b>Anova SS</b>	<b>Cuadrado de la media</b>	<b>F -Valor</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Tratamiento</b>	9	11242.3498	1249.14998	10.38	0.0001
<b>Error</b>	40	4812.08000	120.30200		
<b>Total</b>	49	16054.4298			
<b>Correcto</b>					

**Coefficiente de variación: 27.21779**  
**R-cuadrada= 0.700265**

Tabla 12. Resultados del análisis de varianza de la inhibición del extracto etanólico concentrado a 86°C de *H. patens* contra *R. solani* de la papa.

<b>Fuente</b>	<b>DF</b>	<b>Anova SS</b>	<b>Cuadrado de la media</b>	<b>F -Valor</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Tratamiento</b>	9	9280.11600	1031.12400	15.05	0.0001
<b>Error</b>	40	2740.90400	68.52260		
<b>Total</b>	49	12021.02000			
<b>Correcto</b>					

**Coefficiente de variación: 26.89356**  
**R-cuadrada= 0.771991**

Tabla 13. Resultados del análisis de varianza de la inhibición del extracto etanólico concentrado a 82°C de *H. patens* contra *R. solani* de la papa.

<b>Fuente</b>	<b>DF</b>	<b>Anova SS</b>	<b>Cuadrado de la media</b>	<b>F -Valor</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Tratamiento</b>	9	7806.79700	867.42189	14.57	0.0001
<b>Error</b>	40	2381.14800	59.52870		
<b>Total</b>	49	10187.9450			
<b>Correcto</b>					

**Coefficiente de variación: 17.26445**  
**R-cuadrada= 0.766278**

Tabla 14. Resultados del análisis de varianza de la inhibición del extracto etanólico concentrado a 78°C de *H. patens* contra *R. solani* de la papa.

<b>Fuente</b>	<b>DF</b>	<b>Anova SS</b>	<b>Cuadrado de la media</b>	<b>F -Valor</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Tratamiento</b>	9	7806.79700	867.42189	14.57	0.0001
<b>Error</b>	40	2381.14800	59.52870		
<b>Total</b>	49	10187.9450			
<b>Correcto</b>					

**Coefficiente de variación: 17.26445**  
**R-cuadrada= 0.766278**

Tabla 15. Resultados del análisis de varianza de la inhibición del extracto metanólico concentrado a 82°C de *H. patens* contra *R. solani* de la papa.

<b>Fuente</b>	<b>DF</b>	<b>Anova SS</b>	<b>Cuadrado de la media</b>	<b>F -Valor</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Tratamiento</b>	5	1681.558667	336.311733	6.67	0.0005
<b>Error</b>	24	1210.088000	50.420333		
<b>Total</b>	29	2891.646667			
<b>Correcto</b>					

**Coefficiente de variación: 12.04875**  
**R-cuadrada= 0.581523**