

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Actividad Biológica de Extractos De *Argemone mexicana* sobre El Moho Gris de la Fresa *Botrytis cinerea* Pers.

Por:

**LEYVER DAMIÁN RUIZ CARPIO**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Saltillo, Coahuila, México

Mayo de 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Actividad Biológica de Extractos de *Argemone mexicana* sobre El Moho Gris de la  
Fresa *Botrytis cinerea* Pers.

Por:

**LEYVER DAMIÁN RUIZ CARPIO**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Aprobada por el Comité de Asesoría:



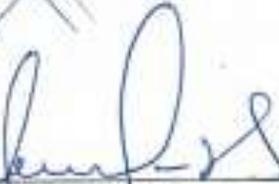
Dr. Epifanio Castro del Ángel  
Asesor Principal



Dr. Agustín Hernández Juárez  
Coasesor



Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda  
Coasesor



Dr. Jerónimo Landeros Flores  
Coordinador Interino de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Mayo de 2023



### **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 (auto plagio); 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, graficas, 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



---

**LEYVER DAMIÁN RUZ CARPIO**

Firma y Nombre

## AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por haberme otorgado una familia maravillosa, quienes han creído en mí siempre y por haberme guiado en el transcurso de mi carrera, cuidarme y siempre estar conmigo en todo momento y por poner en mi vida a tan maravillosas personas.

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por brindarme un lugar dentro de ella y formar parte de un segundo hogar para mí.

Al **Dr. Epifanio Castro del Ángel** a quien admiro, respeto y agradezco por todo el apoyo brindado en el trayecto de este camino y por todo el tiempo dedicado para poder realizar y culminar con mi trabajo de tesis.

A la **Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda** por el tiempo dedicado en la revisión de tesis y por lo que siempre estaré eternamente agradecido.

Al **Dr. Agustín Hernández Juárez** por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo y por lo cual le estaré eternamente agradecido.

A **María Cristina Sánchez Flores (Cristi)** por apoyarme cuando necesitaba de una ayuda que sin titubear lo hizo, además de brindarme su amistad y estar siempre al pendiente.

A mis amigos **Aldo, Jose Luis, Aidé, Alejandra, Edil, Saúl, Aldahir** por el apoyo que me brindaron, los consejos que me dieron y por todas las vivencias que una vez compartimos, gracias a todos ellos por compartirme una parte de sus vida y formar parte de la mía.

## DEDICATORIAS

### **A mis padres:**

**Miguel Ángel Ruiz Santis y Cecilia Carpio Bautista**, a quienes les dedico esta tesis con todo el corazón, pues sin su ayuda no hubiese logrado llegar hasta este punto de mi vida, les agradezco infinitamente por sus consejos, paciencia, confianza y estar para mí incondicionalmente durante todos estos años, todo lo que hoy soy es gracias a ellos.

### **A mis hermanos:**

**Griselda, Brenda, Dariana, Froilán y Gustavo** y demás familia en general por el apoyo que siempre me brindaron día a día en el transcurso de cada año de mi carrera, demostrando que siempre estuvieron al pendiente de mí, gracias por ser parte fundamental de este logro.

### **A mi novio:**

**Diego**, gracias por haber sido mi apoyo incondicional en este largo proceso, gracias por creer en mí, por escucharme, por ayudarme y por estar a mi lado en los momentos de incertidumbre y de cansancio. Tú has sido mi mejor amigo, mi amor y mi compañero inseparable, gracias por tu amor incondicional, por tus palabras de aliento y por ser más allá de mi motivación.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS .....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS .....	VIII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.- Objetivos.....	2
1.2.- Objetivos específicos.....	2
1.3.-Hipótesis .....	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1.- Cultivo de fresa.....	3
2.2.- Morfología de la fresa .....	3
2.3.- Clasificación Taxonómica. ....	4
2.4.- Importancia económica.....	4
2.5.- Condiciones óptimas del cultivo.....	4
2.6.- Requerimientos climáticos. ....	5
2.7.- Factores que limitan la producción de fresa. ....	5
2.7.1.- Bacterias .....	5
2.7.2.- Virus .....	6
2.7.3.- Nematodos .....	7
2.7.4.- Hongos fitopatógenos del cultivo de Fresa.....	7
2.8.- Moho gris de la fresa ( <i>Botrytis cinerea</i> ) .....	10
2.8.1.- Signos y Síntomas.....	10
2.8.2.- Etiología .....	10
2.8.3.- Clasificación taxonómica .....	11
2.8.4.- Agente causal.....	11
2.8.5.- Ciclo de Infección .....	11
2.8.6.- Diseminación.....	12
2.8.7.- Manejos para el control del patógeno.....	12
2.9.- Extractos Vegetales .....	14
2.10.- Metabolitos secundarios con actividad antifúngica .....	14
2.11.- Especies vegetales reportadas con actividad antifúngica.....	15
2.12.- Argemone mexicana.....	15

2.12.1.- Descripción morfológica .....	15
2.12.2.- Actividad biológica.....	15
2.12.3.- Clasificación taxonómica .....	16
2.12.4.- Metabolitos secundarios.....	17
2.12.5.- Compuestos fitoquímicos .....	17
2.13.- Métodos para conservar la vida de anaquel de las fresas.....	17
2.14.- Biopelículas .....	18
2.14.1.- <i>Aloe vera</i> .....	18
2.14.2.- <i>Thymus vulgaris</i> .....	18
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	20
3.1.- Ubicación del experimento .....	20
3.2.- Establecimiento del experimento <i>in vitro</i> .....	20
3.3.- Obtención del hongo <i>Botrytis cinerea</i> .....	20
3.4.- Purificación del hongo .....	20
3.5.- Cultivo Monospórico .....	20
3.4.- Preparación de Extractos Botánicos crudos.....	21
3.5.- Identificación de los metabolitos secundarios presentes en los extractos etanólicos y metanólicos.....	21
3.6.- Evaluación de Extractos crudos etanólicos, metanólicos y acuosos de <i>Argemone mexicana</i> contra <i>Botrytis cinerea</i> . .....	22
3.7.- Evaluación de extractos crudos acuosos de <i>Argemone mexicana</i> contra <i>Botrytis cinerea</i> .....	22
3.8.- Evaluación in vivo del extracto acuoso para el biocontrol de <i>B. cinerea</i> ....	23
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	25
4.1.- Identificación morfológica de <i>Botrytis cinerea</i> .....	25
4.2.- Identificación de metabolitos secundarios presentes en los extractos etanólicos y matanólicos de <i>Argemone mexicana</i> . .....	26
4.3.- Efecto antifúngico del extracto metanólico de <i>A. mexicana</i> en el desarrollo de <i>B. cinerea</i> .....	29
4.4.- Efecto antifúngico de extracto Etanólico de <i>A. mexicana</i> en el desarrollo de <i>B. cinerea</i> .....	31
4.5.- Efecto antifúngico de extracto acuoso de <i>A. mexicana</i> en el desarrollo de <i>B. cinerea</i> .....	33

4.6.- Crecimiento micelial del patogeno contra los extractos de etanol y metanol de <i>A. mexicana</i> .....	35
4.7.- Evaluación <i>in vivo</i> de la incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> sobre frutos de fresa recubiertos de una biopelícula de <i>Aloe vera</i> más extracto acuoso crudo de <i>A. mexicana</i> .....	36
4.7.1.- Evaluación de la severidad de <i>B. cinerea</i> sobre frutos de fresa recubiertos con una biopelícula de <i>Aloe vera</i> más extracto acuoso crudo de <i>A. mexicana</i> .....	36
5.- CONCLUSIONES .....	38
6.- LITERATURA CITADA.....	39

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Compuestos identificados en el extracto etanólicos de <i>A. mexicana</i> .....	27
Cuadro 2 Compuestos identificados en extracto metanólico de <i>A. mexicana</i> .....	28
Cuadro 3 Análisis de varianza de la inhibición del crecimiento micelial de <i>Botrytis cinerea</i> por el extracto metanólico de <i>Argemone mexicana</i> .....	47
Cuadro 4 Análisis de varianza de la inhibición del crecimiento micelial de <i>Botrytis cinerea</i> por el extracto etanólico de <i>Argemone mexicana</i> .....	47
Cuadro 5 Análisis de varianza de la inhibición del crecimiento micelial de <i>Botrytis cinerea</i> por el extracto acuoso de <i>Argemone mexicana</i> .....	48
Cuadro 6 Resultados del análisis de varianza del extracto metanólico de <i>Argemone mexicana</i> .....	48
Cuadro 7 Resultados del análisis de varianza del extracto etanólico de <i>Argemone mexicana</i> .....	49
Cuadro 8 Resultados del análisis de varianza del extracto acuoso de <i>Argemone mexicana</i> .....	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 Identificación morfológica del fitopatógeno <i>B. cinerea</i> .....	25
Fig. 2 Cromatograma de compuestos identificados en extracto etanólico de <i>A. mexicana</i> .....	26
Fig. 3 Cromatograma de compuestos identificados en extracto metanólico de <i>A. mexicana</i> .....	28
Fig. 4 Porcentaje de inhibición <i>in vitro</i> del extracto metanólico de <i>A. mexicana</i> contra <i>B. cinerea</i> .....	30
Fig. 5 Efecto del extracto metanólico de <i>A. mexicana</i> sobre el crecimiento micelial de <i>B. cinerea</i> .....	31
Fig. 6 Porcentaje de inhibición <i>in vitro</i> del extracto etanólico de <i>A. mexicana</i> contra <i>B. cinerea</i> .....	32
Fig. 7 Efecto del extracto etanólico de <i>A. mexicana</i> sobre el crecimiento micelial de <i>B. cinerea</i> .....	32
Fig. 8 Porcentaje de inhibición <i>in vitro</i> del extracto acuoso de <i>A. mexicana</i> contra <i>B. cinerea</i> .....	33
Fig. 9 Efecto del extracto acuoso de <i>A. mexicana</i> sobre el crecimiento micelial de <i>B. cinerea</i> .....	34
Fig. 10 Crecimiento micelial del patógeno ante los extractos de metanol y etanol.....	35
Fig. 11 Bioensayo sobre la incidencia de <i>B. cinerea</i> en frutos de fresa recubiertos con <i>A. vera</i> más extracto acuoso crudo de <i>A. mexicana</i> .....	36
Fig. 12 Porcentaje de efectividad del extracto acuoso de <i>A. mexicana</i> sobre la severidad de <i>B. cinerea</i> en frutos de fresa. ....	37

## RESUMEN

La fresa *Fragaria* L. es un cultivo altamente relevante a nivel mundial, además de ser un cultivo con alto valor económico, nutricional y medicinal, es susceptible al ataque de patógenos, el agente causal de la enfermedad de Moho gris, es una de las enfermedades más destructivas del cultivo. Hoy en día se han requerido de nuevas alternativas de control amigables con el medio ambiente para controlar enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, estas alternativas incluyen extractos de origen vegetal, puesto que dichas plantas tienen la capacidad de sintetizar metabolitos y otros compuestos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto inhibitorio *in vitro* e *in vivo* de extractos crudos de *Argemone mexicana*; concentrados de agua, etanol y metanol por lo que se utilizó la técnica de difusión en placa para evaluar la inhibición de los extractos, registrando el crecimiento micelial cada 24 horas, hasta que el testigo llenó por completo la placa Petri, los resultados de inhibición fueron sometidos a un análisis de varianza y la separación de las medias se realizó con el método de Duncan al 0.05 de significancia. Se utilizó el programa SAS versión 9.0 para los análisis. El efecto inhibitorio más favorable fue el extracto acuoso de *A. mexicana* aun a concentraciones bajas, el efecto del extracto mantuvo una respuesta inhibitoria 40 días después de haber abierto la caja Petri, exponiéndola a organismos contaminantes del ambiente.

Palabras clave: Extractos vegetales, Inhibición, *B. cinerea*, *A. mexicana*

## 1. INTRODUCCIÓN

En México, la fresa es un cultivo altamente relevante que no solo va en aumento en producción y tecnología, si no que el impacto económico es notable puesto que dicha cadena de producción requiere de mano de obra, esta cadena de producción disminuye la migración por parte de jornaleros debido a la generación de nuevos empleos mejorando así la calidad de vida, dentro de los estados productores más relevantes se encuentran Michoacán, Baja California y en tercer lugar el estado de Guanajuato (Gutiérrez *et al.*, 2016).

Por otra parte, además de ser un cultivo con alto valor económico, nutricional y medicinal, es susceptible al ataque de patógenos, puesto que el mayor reto durante el desarrollo del cultivo y en pos cosecha es el manejo de las enfermedades que en su mayoría son de origen fungoso, por lo que se destacan los géneros de suelo: *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Verticillium*, el moho gris conocido también como *Botrytis*, cuyo agente causal es el hongo *Botrytis cinerea*; algunas algas como los Oomycetes: *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora fragariae*, *Pythium* seguidas por algunos problemas bacterianos, nematodos y muy pocos ocasionados por virus (CANO, 2013).

El fitopatógeno *Botrytis cinerea*, el agente causal de la enfermedad de Moho gris, es una de las enfermedades más destructivas del cultivo de fresa que ataca tanto en el crecimiento vegetativo como en poscosecha. La presencia de moho gris es la razón más común de rechazo de la fruta lo que genera pérdidas económicas significativas (Cano *et al.*, 2022).

El control biológico en respuesta a las necesidades del mercado nacional y de los productores agrícolas, ha demostrado ser una opción viable para la disminución del uso de agroquímicos para combatir problemas fitosanitarios (Matute *et al.*, 2019).

Hoy en día se han requerido de nuevas alternativas de control amigables con el medio ambiente para controlar enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, estas alternativas incluyen extractos de origen vegetal, puesto que dichas plantas tienen la capacidad de sintetizar metabolitos y otros compuestos; tal es el caso de algunas malezas como *Argemone mexicana* cuyos biofungicidas elaborados a base de estos extractos contiene metabolitos secundarios como: alcaloides, terpenoides, flavonoides y compuestos fenólicos que han demostrado una actividad biológica contra hongos que afectan diferentes cultivos (Hernández *et al.*, 2022).

### **1.1.- Objetivos**

Estudiar el biocontrol *in vitro* e *in vivo* de compuestos fitoquímicos de *Argemone mexicana* sobre crecimiento y desarrollo de *Botrytis cinerea*.

### **1.2.- Objetivos específicos**

1. Aislar e identificar morfológicamente al agente causal del moho gris de la fresa.
2. Evaluar la inhibición *in vitro* de compuestos fitoquímicos tóxicos de *Argemone mexicana* mediante la técnica de difusión en placa, para determinar el efecto de control sobre *Botrytis cinerea*.
3. Efectividad biológica de los compuestos fitoquímicos en frutos de fresa.

### **1.3.-Hipótesis**

Se espera que los extractos etanólicos y metanólicos concentrados de *Argemone mexicana* tengan efecto en el control *in vitro* e *in vivo* del moho gris de la fresa.

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1.- Cultivo de fresa**

La fresa (*Fragaria* spp.) se cultiva en diferentes regiones del mundo, preferentemente en climas tropicales, subtropicales e incluso en áreas templadas, dicho cultivo además de su interés comercial, es muy importante debido a la alta demanda de trabajadores que se requieren para su producción, desde su procesamiento en campo hasta la cosecha y por consiguiente en la industria (Cano, 2013). Debido a su alto contenido de flavonoides, la fresa es consumida a nivel mundial, además de contar con propiedades nutricionales y el aporte de algunas vitaminas y antioxidantes (Capelo y Roche, 2016).

### **2.2.- Morfología de la fresa**

La fresa se considera una planta de tipo perenne, aunque a veces se describe como herbácea. Se caracteriza por ser una planta leñosa debido a la producción de xilema secundario en tallo y raíz, la planta está conformada por un tallo central denominado corona del cual se forman las hojas, raíces, estolones e inflorescencias. De las yemas axilares de las hojas se forman coronas laterales cuando los días son cortos y las temperaturas bajas, y estolones cuando los días son largos y las temperaturas son altas (Kirschbaum, 2022). Los estolones o tallos rastreros tienen la capacidad de emitir raíces a partir del segundo nudo. Un estolón puede formar de cuatro a seis plantas y de cada corona pueden salir 10 a 12 estolones. Las hojas son trifoliadas y los folíolos son ovales, aserrados, pubescentes, grisáceos en el envés y con muchos estomas para poder realizar una intensa transpiración (Salinas, 2016).

La planta está estructurada por un sistema radicular fasciculado constituido principalmente por raíces, las cuales hacen el papel de soporte y las raicillas que tiene la función de absorber los nutrientes y almacenar sustancias de reserva (Acuña y Fischer, 2020).

### **2.3.- Clasificación Taxonómica.**

Integrated Taxonomic Information System (ITIS, 2023).

Reino: Plantae.

Subreino: Viridiplantae.

Superdivisión: Embriofita.

División: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida.

Orden: Rosales.

Familia: Rosáceas.

Género: *Fragaria*

### **2.4.- Importancia económica**

La fresa se encuentra entre los frutos más importantes y consumidos a nivel mundial, ya que se puede ingerir de manera natural o en una amplia gama de productos procesados (Anami *et al.*, 2020).

México registró en el 2021 una superficie cultivada de fresa de 10,214.67 hectáreas obteniendo una producción de 443 mil 552.81 toneladas métricas, con un valor de la producción superior a los 9, 793,379.75 millones de pesos, y un rendimiento promedio de 43.42 toneladas por hectárea (SIAP, 2021).

### **2.5.- Condiciones óptimas del cultivo.**

La fresa obtiene un desarrollo óptimo en suelos ligeramente ácidos, sueltos, aireados y bien drenados, ya que las raíces se expanden y al ser un suelo muy pesado limita en cierta parte el crecimiento radicular. Se cultiva en zonas que van desde los 1200 hasta los 2500 m.s.n.m. y se manifiesta que las raíces se desarrollan

mejor con temperaturas mayores a 12°C en el suelo, cuando la temperatura en el suelo es inferior, inhibe la aparición de raíces absorbentes (Proaño, 2022).

## **2.6.- Requerimientos climáticos.**

Correa y Alarcón (2015) señalan que la fresa cuenta con la capacidad de adaptación a diversos tipos de climas. La temperatura óptima para su fructificación se encuentra entre los 15-20°C media anual, temperaturas por debajo de 12°C y superiores a 22°C, durante la polinización. Es resistente a heladas pudiendo soportar en sus órganos vegetativos temperaturas de -20°C; sin embargo, los órganos florales mueren fácilmente con temperaturas inferiores a 0°C.

## **2.7.- Factores que limitan la producción de fresa.**

La producción de este cultivo se realiza principalmente de dos formas, la primera, a campo abierto, lo cual involucra complicaciones como el ataque de plagas como ácaros, trips y larvas de lepidópteros; algunas enfermedades ocasionadas por diversos patógenos como *Botrytis cinérea*, Mildiú polvoso y vellosa, antracnosis y mancha foliar. En cuanto a limitaciones abióticas se encuentran, la exposición a condiciones climáticas adversas, heladas y los vientos fuertes; la segunda enfocada a sistemas de producción bajo condiciones protegidas, el cultivo de fresa se caracteriza por un alto costo de estructuras y baja relación beneficio-costos (Rubio *et al.*, 2014).

### **2.7.1.- Bacterias**

#### **2.7.1.1.- Mancha angular de la hoja (*Xanthomonas fragariae*)**

Los primeros síntomas de la infección se presentan como pequeñas manchas angulares, en algunas ocasiones por el haz de las hojas se aprecian pequeñas manchas angulares irregulares que a menudo secretan una lama viscosa de bacterias y exudados bacterianos. Una vez desarrollada la enfermedad las lesiones se juntan y aparecen manchas con una coloración café rojizas necróticas (Hinojosa, 2017).

Cuando las condiciones ambientales son las adecuadas favorecen la exudación y propagación de *X. fragariae* y se producen infecciones sistémicas. Esta bacteria no puede vivir libremente en el suelo, sin embargo, puede invernar en material infectado pudiendo sobrevivir hasta 1 año. Las condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad son días frescos de 20°C y noches frías de 2-4°C (Rivera, 2016).

## 2.7.2.- Virus

### 2.7.2.1.- Palidosis de la fresa

También conocido como decaimiento relacionado con la palidosis de la fresa o enfermedad de la palidosis, causado por un complejo de virus transmitidos por moscas blancas, trips, áfidos, polen, nematodos y otras fuentes desconocidas. El declive del virus solo se produce cuando uno de los virus transmitidos por la mosca blanca está presente en la planta junto con uno de los virus transmitidos de otras fuentes (Dara, 2015).

Los virus asociados a esta enfermedad son: *Beet pseudo yellows virus* (BPYV), y *Strawberry pallidosis-associated virus* (SPaV), ambos miembros del género *Crinivirus*. Algunos de los síntomas de declive son: clorosis, epinastia, retraso en el crecimiento (Ferriol, 2012).

### 2.7.2.2.- Virus del moteado de la fresa (SMoV)

Probablemente el virus más común en el cultivo de fresa, el SMoV se encuentra presente en todas las zonas en las que sus vectores, *Aphis gossypii* (pulgón del algodón) y especies de *Chaetosiphon*. Este virus puede generar pérdidas de hasta un 30% en cultivares de fresa y presenta síntomas que van desde un moteado leve a una epinastia severa (Tzanetakis y Martín, 2013).

### 2.7.2.3.- Virus de la arruga de la fresa (SCV)

Es uno de los virus más frecuentes que afectan al cultivo de la fresa a nivel mundial y es responsable de importantes reducciones en el rendimiento y calidad de la fruta,

los síntomas que presenta son plantas enanas atrofiadas con hojas distorsionadas (Perotto *et al.*, 2014).

### 2.7.3.- Nematodos

Existe una amplia diversidad de nematodos fitoparásitos que afectan al cultivo de fresa, los de mayor importancia económica como parásitos de las raíces se encuentran *Meloidogyne* spp. y *Pratylenchus* spp. (Watson y Desaeger, 2019).

#### 2.7.3.1.- Nematodos formadores de agallas, *Meloidogyne*

Siendo el género de mayor importancia a nivel mundial, causa daños severos a las raíces y genera pérdidas en el rendimiento del cultivo. Los síntomas causados por este género son la disminución del desarrollo radical, aéreo y productivo de la plana. Los síntomas pueden ser enmascarados por otros factores bióticos o abióticos, lo cual permite a nematodo pasar desapercibido y establecerse en la planta hasta ocasionar pérdidas económicas (Brenes, 2021).

#### 2.7.3.2.- Nematodos lesionadores, *Pratylenchus*

Las especies de *Pratylenchus* se encuentran entre los grupos más importantes de nematodos parásitos a nivel mundial debido a su amplia distribución y alta gama de cultivos hospederos (Brenes-Campos *et al.*, 2021). El nematodo durante su alimentación, forma canales huecos en el interior del sistema radical, por lo cual pone a la planta en un estado de vulnerabilidad al ataque de patógenos como hongos y bacterias, además de reducir la producción de raíces laterales (Brenes, 2021).

### 2.7.4.- Hongos fitopatógenos del cultivo de Fresa

De las enfermedades más comunes en el cultivo de fresa, se encuentran las causadas por diversos patógenos: pudrición roja de la raíz *Phytophthora fragariae*, marchitez por *Verticillium*, marchitez y amarillamiento por *Fusarium*, las de follaje

como viruela: *Mycosphaerella fragariae*, manchas de las hojas: *Diplocarpon* sp. Mildiu polvoso: *Sphaerotheca macularis* y por ultimo las de flor y fruto como moho gris: *Botrytis cinerea* y antracnosis: *Colletotrichum* sp. (Vega et al., 2019).

#### 2.7.4.1.- Pudrición roja de la raíz (*Phytophthora fragariae*)

Los principales órganos afectados generalmente son hojas, flores y frutos, lo que provoca manchas, clorosis, marchitez y necrosis en hojas o muerte de la planta. Además de provocar enanismo en las plantas, *Phytophthora fragariae* daña la mayoría de las raíces afectando la absorción de agua y nutrientes obteniendo así una necrosis. A medida que mueren los bordes de las hojas, se pierden flores y frutos, la planta deja de soltar sus tallos y finalmente se seca por completo y muere (López, 2021).

La propagación del patógeno se da a través de esporas de flagelos llamadas zoosporas, el exceso de lluvia, el mal drenaje, los altos niveles de agua subterránea entre otros factores aumentan la reproducción de zoosporas. El inoculo puede provenir de plantas enfermas, suelos contaminados e incluso adherirse a herramientas agrícolas (López, 2021).

#### 2.7.4.2.- Marchitez (*Verticillium* sp.)

El patógeno produce la muerte de todas aquellas hojas externas que adquieren una coloración café, para distinguir el agente causal se deben realizar cortes longitudinales en la raíz (Carrillo, 2018).

Los microesclerocios son capaces de vivir hasta 15 años sin tener contacto con un hospedero, pueden ser diseminados por el viento o el agua donde sirven como inóculo. Al igual que ellos, el patógeno puede esparcirse por semilla contaminada, esquejes, trasplantes, plantas de vivero o raíces desnudas de árboles infectados. Además, el micelio y microesclerocios pueden ser transportados por operaciones normales de labranza y una vez que establece contacto con el hospedante, el hongo infecta nuevamente el sistema radical (Reyes, 2015).

#### 2.7.4.3.- Antracnosis (*Colletotrichum* sp.)

Una característica peculiar es la presencia de lesiones en los peciolo y estolones con una tonalidad café oscuro o negra, lenticular y hundida, Las lesiones aparecen como manchas hundidas y redondeadas, de color café en los frutos verdes y color negro en frutos rojos, dependiendo de la severidad de la infección la planta puede presentar achaparramiento, marchitez y hasta muerte de esta (Guerrero, 2018).

Bajo condiciones de humedad se forman masas de conidios con una tonalidad rosa-salmón o anaranjado en el centro de las lesiones. El fruto afectado se seca y se momifica (Trelles y Díaz, 2017)

El hongo puede permanecer en el suelo, así como en restos de hojas, frutos momificados y algunas malezas, a partir de esas fuentes de inóculo y tomando en cuenta las condiciones ambientales que favorecen a la enfermedad como alta temperatura y humedad, inician las infecciones en las hojas, frutos y estolones. A partir de esas infecciones, las esporas del hongo pueden alcanzar la corona de las plantas, en condiciones de alta humedad relativa con un óptimo de 26-28 °C y temperaturas mayores de 21°C, el hongo se desarrolla y esporula, mismas que pueden ser dispersadas por la lluvia y el viento, pero también pueden ser dispersadas por la mano de obra y herramientas de trabajo (Rodríguez, 2020).

## 2.8.- Moho gris de la fresa (*Botrytis cinerea*)

Las enfermedades causadas por *Botrytis* aparecen principalmente en forma de tizones de inflorescencias y pudriciones del fruto, pero también como canchales o pudriciones de tallo, anegamiento de plántulas, manchas foliares y como pudriciones del tubérculo, un bulbo y raíces. Bajo condiciones húmedas, el hongo produce una capa fructífera conspicua de moho gris sobre los tejidos afectados, una característica de las enfermedades por *Botrytis* (Agrios, 2005).

### 2.8.1.- Signos y Síntomas.

Dentro de la morfología de la fresa, las flores y los frutos son más susceptibles al ataque de este hongo, siendo en la mayoría de los casos lesiones de color café. La flor, una vez invadida por el hongo, la infección avanza rápidamente a los pedicelos. Posterior a ello aparecen otras estructuras debajo del cáliz como los conidióforos en forma de tallos diminutos con racimos de esporas en las puntas. Finalmente, los frutos se cubren de un polvillo color gris y se momifican (Llanos, 2017).

### 2.8.2.- Etiología

El patógeno *Botrytis* sp. produce abundante micelio gris y varios conidióforos largos y ramificados, cuyas células apicales redondeadas producen racimos de conidios ovoides que se asemejan a un racimo de uvas. El hongo a menudo produce esclerocios irregulares, planos, duros y de color negro. Algunas especies de *Botrytis* producen a veces una fase perfecta de *Sclerotinia*, en la que las ascosporas se forman en un apotecio (Agrios, 2005). Los conidios son lisos, hialinos o grises, con forma de huevo, con una longitud media de 10  $\mu\text{m}$  y una anchura media de 5  $\mu\text{m}$  (Romanazzi y Feliziani, 2014).

Su fase sexual o teleomorfo es el ascomiceto *Botryotinia fuckeliana* mientras que su fase asexual es *B. cinerea* (Bartolo, 2017).

Es por ello que la mayoría de los taxónomos recomienda que el nombre científico dado sea el estado sexual preferentemente; por tanto, sería *Botryotinia fuckeliana*. Sin embargo, es el binomio latino *Botrytis cinerea* el empleado, debido a que se

encuentra ampliamente reconocido por micólogos y fitopatólogos, ya que es el estado imperfecto más extendido en la naturaleza (Llanos, 2017).

### 2.8.3.- Clasificación taxonómica

Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2023).

Reino: Fungi.

Filo: Ascomycota

Clase: Leotiomycetes.

Orden: Helotiales.

Familia: Sclerotiniaceae.

Género: *Botrytis*.

Especie: *cinerea*.

### 2.8.4.- Agente causal

De los numerosos patógenos que atacan el cultivo de fresa, *B. cinerea* es el principal agente causal de la enfermedad en la fresa conocido como moho gris, principalmente se reproduce por medio de esporas asexuales o conidios, *B. cinerea* se encuentra extendida en todo el estado y debido a su desarrollo tanto en campo como en almacén, genera pérdidas significativas posicionándose así como uno de los patógenos más difíciles de controlar (Koike y Bolda, 2016).

### 2.8.5.- Ciclo de Infección

El desarrollo de la podredumbre gris causada por *B. cinerea* tiene dos formas de manifestación de la enfermedad. La primera siendo una infección latente o asintomática, con presencia del hongo dentro del fruto denominada *Botrytis* endógena, que resulta de la germinación de los conidios que han caído sobre los estigmas florales y su posterior desarrollo micelial. La segunda vía de infección es la externa, a partir de conidios o micelio que se ha depositado sobre la superficie de

los frutos maduros o por contacto de frutos sanos con frutos infectados y otras partes enfermas de las plantas (Ochoa, 2016). *Botrytis cinerea* puede presentarse en cualquier momento del ciclo del cultivo, preferentemente bajo condiciones de una alta humedad relativa 95% y temperatura entre 17-25 °C (Fernández *et al.*, 2017).

En etapas tempranas, el hongo *Botrytis cinerea* despliega ARNs y proteínas efectoras para suprimir la muerte prematura de la célula huésped y las respuestas inmunitarias, lo que permite que el hongo se establezca dentro del huésped y acumule biomasa antes de la fase necrotrófica (Veloso y Van Kan, 2018).

#### 2.8.6.- Diseminación

La infección se origina por los conidios, formados a partir de micelio o esclerocios ubicados en cualquier parte del cultivo, material muerto o tejidos vivos infectados de la planta (Téllez, 2022).

La enfermedad se presenta generalmente en frutos maduros cuando no se realizan las cosechas oportunas por el agricultor, ya que el fruto es más susceptible cuando se tiene mucha humedad en la etapa de maduración y es por ello por lo que la enfermedad se propaga rápidamente generando micelio en la totalidad de la fruta a cosechar (Vega *et al.*, 2019). El hongo libera fácilmente sus conidios cuando el clima es húmedo y luego estos son diseminados por el viento (Agrios, 2005).

#### 2.8.7.- Manejos para el control del patógeno

##### 2.8.7.1.- Prácticas agronómicas y hortícolas

Los manejos adecuados de las infecciones en la producción de fresas, se basan en prácticas agronómicas y hortícolas como la eliminación de material vegetal senescente para evitar la acumulación de inóculo, evitar que la fruta toque el suelo para evitar infecciones de *B. cinerea*, ya que la mayor parte del inóculo se encuentra en el suelo y la humedad de este promueve la germinación de conidios, además de

seleccionar el sistema de riego correcto ya que pueden disminuir la presencia de moho gris (Petrasch *et al.*, 2019).

#### 2.8.7.2.- Control químico

Las infecciones de *B. cinerea* generalmente ocurren antes de la cosecha de la etapa de campo y permanecen latentes hasta el almacenamiento. El control tradicional por moho gris es la aplicación de fungicidas sintéticos en el campo durante el crecimiento del cultivo. Para reducir la enfermedad se recomiendan aplicaciones preventivas (Feliziani *et al.*, 2013). Para las fresas los fungicidas se aplican alrededor de la floración y se repite hasta la cosecha, algunos fungicidas se clasifican: por función de los microtúbulos, la osmorregulación, la biosíntesis de metionina (Romanazzi y Feliziani, 2014).

El uso frecuente de fungicidas químicos para controlar el patógeno es cada vez más cuestionado en la producción de fresa, debido a la creciente aparición de resistencia de *B. cinerea*. Además, presenta riesgos potenciales para el medio ambiente y la salud humana (Caproni *et al.*, 2021).

#### 2.8.7.3.- Control biológico

Desde un sentido amplio, el control biológico involucra todas aquellas prácticas que tienden a disminuir la incidencia de enfermedades incluyendo el control químico, en un sentido más restringido se le atribuye al control biológico como el uso de microorganismos antagonistas que interfieren en la supervivencia de patógenos o en el desarrollo de actividades determinantes de la enfermedad (Mondino, 2017).

#### 2.8.7.4.- Alternativas a los fungicidas

Los compuestos naturales o GRAS (Sustancias generalmente reconocidas como seguras) son sustancias que no son nocivas para el medio ambiente y la salud humana, por tal motivo son utilizadas por propiedades antimicrobianas o por inducir

las defensas de la planta. Se ha reportado que los extractos de plantas y aceites esenciales, controlan las enfermedades poscosecha, tanto *in vitro* y *en vivo*, para prolongar la vida en almacenamiento y la calidad de los productos (Romanazzi y Feliziani, 2014)

## **2.9.- Extractos Vegetales**

Los extractos vegetales hoy en día constituyen un papel muy importante desde un punto agroecológico, por el beneficio que ofrecen al medio ambiente cuando se utilizan como alternativa de control para tratar enfermedades infecciosas en plantas causadas por organismos fitopatógenos (Jiménez y Mosquera, 2014).

## **2.10.- Metabolitos secundarios con actividad antifúngica**

Debido a que los organismos fungosos-fitopatógenos han generado resistencia ante los fungicidas sintéticos y a la contaminación que estos presentan en el ambiente, hace necesario el desarrollo de nuevos métodos de control. Hoy en día los aceites esenciales han demostrado tener actividad contra diversos hongos fitopatógenos. Gracias a investigaciones realizadas en décadas recientes, demostraron que la principal razón de esta actividad antifúngica se debe a compuestos terpénicos de los aceites esenciales, como los sesquiterpenos y sesquiterpenlactonas (Martínez, 2018).

La actividad antifúngica se obtiene destruyendo la célula fúngica del patógeno, los terpenos son compuestos antimicrobianos activos de las plantas. Se especula que el mecanismo de acción de esta clase de compuestos involucra la ruptura de la membrana y la destrucción de las mitocondrias fúngicas. Además de la inhibición del transporte de electrones e inhibición de la ATPasa en la mitocondria (Lagrouh *et al.*, 2017)

## **2.11.- Especies vegetales reportadas con actividad antifúngica**

La actividad biológica de un extracto varía en función a su preparación, donde se pueden obtener extractos acuosos, etanólicos, aceites esenciales o algún otro solvente para obtener diferentes compuestos. Algunos reportes encontrados en diferentes bases de datos de distintas especies de plantas como: *Pistacia lentiscus* L., *Flourenzia cemua*, *Inula britannica*, *Satureja hortensis*, entre otros, reportadas con actividad inhibitoria sobre diferentes fitopatógenos, particularmente de los géneros *Botrytis*, *Rhizoctonia*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Septoria*, *Alternaría*, *Phytophthora*, *Pyricularia* (Mesa et al., 2019).

## **2.12.- Argemone mexicana**

La flor mexicana es una de las más diversas del mundo comúnmente nombrada como cardo santo, amapola montés, amapolilla o chicalote (Laines, 2019). Es una planta de crecimiento espontaneo y silvestre, incluso como hierba invasora de los terrenos de cultivo. Es importante en la apicultura como productora de polen, su propagación y crecimiento están relacionados generalmente a la época de lluvias (Montes, 2017).

### **2.12.1.- Descripción morfológica**

*Argemone mexicana* es una planta exótica originaria de Sudamérica comúnmente encontradas en campos y bordes de las carreteras. Esta planta es una hierba anual erguida y espinosa alcanzando aproximadamente 1 m de altura, las flores alcanzan de 4 a 5 cm de diámetro, siendo amarillas y sin olor. La cápsula es espinosa, ovada y de 3 cm de longitud y las semillas son esféricas, brillantes, negras y picudas (Brahmachari et al., 2013).

### **2.12.2.- Actividad biológica**

La especie *A. mexicana*, ha sido estudiada por su uso en medicina y por su actividad farmacológica contra la malaria, la diabetes, el cáncer, anti-VIH, entre otros. El extracto metanólico y acuoso (frio y caliente) de las hojas y semillas posee actividad contra dos cepas gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*) y dos

cepas gram negativas (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*), se encontró que el alcaloide N-dimetiloxysanguinaria es el que tiene actividad contra *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa* (Diaz, 2016).

Esta planta se caracteriza por la presencia de alcaloides como la protopina y la berberina, diversos estudios han demostrado que la berberina al igual que otros bencilisoquinólicos (ABIs) como la sanguinaria y plamitina presenta actividad bacteriostática, bactericida, fungicida, antiviral, antiprotozoaria e insecticida, dichas propiedades se deben a su capacidad de inhibir el metabolismo de diferentes tipos de microorganismos así como la formación de endotoxinas y la adherencia que permite la colonización de la piel y las mucosas (Gamboa, 2015).

Por otro parte, en la medicina popular es utilizado como antiinflamatorio y posee propiedades antibióticas, también utilizada para problemas oculares, pulmonares, digestivos, dérmicos. Se ha utilizado como antidiarreico, analgésico, cicatrizante y anticonvulsivo. Sus compuestos como la sanguinaria y la berberina han mostrado actividad contra células cancerosas de cáncer de mama, vejiga, colon y piel (Elizondo, 2020).

### 2.12.3.- Clasificación taxonómica

Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2023).

Reino: Plantae.

Filo: Tracheophyta.

Clase: Magnoliopsida.

Orden: Ranunculales.

Familia: Papaveraceae.

Género: *Argemone*

Especie: *mexicana* L.

#### 2.12.4.- Metabolitos secundarios

Curay (2022), mediante pruebas químicas realizadas al látex de *A. mexicana* mostro la presencia de varias familias de metabolitos secundarios, siendo los alcaloides los más dominantes, seguido de los fenoles y taninos, y los triterpenos y esteroides en menor proporción.

Por otra parte, *A. mexicana* contiene compuestos como: alcaloides, terpenoides, flavonoides, fenoles entre otros, dichos compuestos presentan actividad biológica contra diversos hongos fitopatógenos (Hernández *et al.*, 2022).

#### 2.12.5.- Compuestos fitoquímicos

Los alcaloides presentes en *A. mexicana*, pertenecen al grupo de los ABIs, los alcaloides mayoritarios son la berberina (protoberberina), la cual se encuentra distribuida en los tejidos y en semillas en estado inmaduro, y la sanguinaria (benzofenatridina), la cual tiene presencia en la raíz y en semillas maduras; además se pueden encontrar otros alcaloides como la reticulina, metilcoclaurina, criptopina, queleritrina, dihidrosanguinaria, protopina, alocriptopina y alcaloides minoritarios como quelantifolina, dihidroqueleritrina, norqueleritrina, coptisina, norsanguinaria, por mencionar algunos (Laines, 2019).

### **2.13.- Métodos para conservar la vida de anaquel de las fresas.**

Las fresas presentan una vida de anaquel muy corta que oscila de 4-7 días, para prolongar la vida útil de las fresas se emplean métodos tradicionales como es la refrigeración, ya que alarga la vida de la fresa y conserva sus características comerciales; además de inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos de los frutos. Aunque con el método de refrigeración también se presentan riesgos de contaminación porque se usa un sistema de aire. Esto demuestra que el sistema de refrigeración no es suficiente para reducir la presencia de microorganismo patógenos; la combinación con otras técnicas de conservación podría aumentar la vida útil de las fresas e inhibir la aparición de patógenos tal como el uso de películas comestibles (Elías *et al.*, 2020)

## 2.14.- Biopelículas

Las biopelículas funcionan como barreras selectivas para la transferencia de gases, humedad y nutrientes, ayudan a disminuir el deterioro de los alimentos causados por factores ambientales, además ayudan a evitar la oxidación y pérdida de compuestos químicos de los mismos. Las biopelículas están compuestas por la combinación de polisacáridos, proteínas, lípidos y polímeros (Piña *et al.*, 2021).

Las películas comestibles se definen como una capa delgada de material comestible que ofrece una barrera selectiva a la migración de humedad, oxígeno, dióxido de carbono, aromas, etc.; al mismo tiempo sirven como agentes acarreadores de otros ingredientes como antioxidantes, saborizantes, antimicrobianos y colorantes para mejorar el potencial de conservación (Martínez *et al.*, 2013).

Los aceites esenciales han sido empleados para la elaboración de biopelículas como agentes potencializadores de los efectos bactericidas y antimicóticos, como conservantes de alimentos para el control del crecimiento de hongos y bacterias en frutas y hortalizas (Gómez, 2022).

### 2.14.1.- *Aloe vera*

*Aloe barbadensis Miller*, comúnmente conocido como *Aloe vera*, es una de las 420 especies perteneciente a la familia de las liliáceas siendo la más potente y la más popular; solo unas pocas especies de *Aloe* tienen importancia económica. Al *A. vera* se le atribuyen diferentes cualidades como su acción desinfectante, antiviral, antibacteriana, antiinflamatoria. Por otra parte, ayuda en los desórdenes intestinales como antihemorroidal cicatrizante y laxante (Gómez, 2022).

*Aloe vera* ha sido reportada en el área de recubrimiento de frutas y vegetales y para el mantenimiento de la calidad poscosecha para diferentes cultivos como uvas y cerezas, además se ha utilizado el *A. vera* para el recubrimiento de zanahorias, mismos que retardaron la degradación del alimento (Ventosa *et al.*, 2017).

### 2.14.2.- *Thymus vulgaris* L

Comúnmente conocido como tomillo, es un subarbusto de la familia *Lamiaceae*, perenne y aromática rica en aceite esencial cuyo principal componente es el timol.

Como aceite esencial está presente en actividades químicas como bactericidas, insecticida o como antiséptico. Ha sido empleado en biopelículas capaces de repeler bacterias como *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Lactobacillus lactis*, además se registra una disminución en la permeabilidad gracias a su propiedad hidrófoba (Salazar, 2021).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1.- Ubicación del experimento**

La presente investigación se llevó a cabo en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en la Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista Saltillo Coahuila, en el Departamento de Parasitología dentro del Laboratorio de Fitopatología.

#### **3.2.- Establecimiento del experimento *in vitro***

#### **3.3.- Obtención del hongo *Botrytis cinerea***

El hongo empleado para este experimento fue obtenido en un invernadero establecido en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Una vez obtenida la muestra, se llevó al laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología y posteriormente se realizó la siembra directa del patógeno, el cual consistió en tomar parte del material infectado con ayuda de un asa bacteriológica y colocarlo en medio de cultivo previamente preparado con PDA (Agar Dextrosa y Papa) y se mantuvo en incubación a 26 °C hasta su uso.

#### **3.4.- Purificación del hongo**

Con la ayuda de un sacabocados previamente esterilizado se marcaron fragmentos del margen de las colonias del hongo en estudio. Posteriormente, con la ayuda de una aguja de disección se tomaron muestras de micelio con medio de cultivo y se transfirió a nuevas cajas Petri con medio PDA para su desarrollo.

#### **3.5.- Cultivo Monospórico**

Por medio de los tubos de ensaye (con agua estéril) se colocaron 2 explantes de medio con crecimiento activo del patógeno, posteriormente fueron llevados al vórtex para la liberación de conidios, se tomaron 1000 µL con la micropipeta y se colocaron en el siguiente tubo, hasta una dilución de 10<sup>5</sup>. En medio Agar bacteriológico se sembraron 150 µL de cada dilución y se esparcieron con una varilla de vidrio. Las

siembras se mantuvieron en incubación a 26°C y a las 48 horas se extrajo un solo conidio germinado y se transfirió a nuevo medio PDA llevándolo a incubación a 26 °C.

### **3.4.- Preparación de Extractos Botánicos crudos.**

Se realizó la colecta de *A. mexicana* en los terrenos de cultivo de la UAAAN. Posteriormente se fraccionaron hojas con la ayuda de un cuchillo, consiguiendo a eso se dejó secar por unos días para después llevarlos a la licuadora y pulverizarlos finamente.

Se pesaron 70 gr del pulverizado de hoja y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 1000 mL cubierto con papel estraza y papel aluminio en la parte superior, posteriormente se le agregaron 700 mL del solvente (etanol, metanol y agua destilada estéril) preparados por separado, se dejaron en fermentación en una parrilla agitadora durante 7 días. Después de la fermentación se prosiguió a filtrar el extracto con ayuda de un embudo Büchner y papel filtro Whatman no. 2, una vez obtenido el filtrado se colocó en el refrigerador para conservarlos.

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

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 *A. mexicana* 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 minuto, 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).

### **3.6.- Evaluación de Extractos crudos etanólicos, metanólicos y acuosos de *Argemone mexicana* contra *Botrytis cinerea*.**

El efecto inhibitorio se evaluó mediante la técnica de difusión en placa. Se utilizaron extractos crudos a base de agua, etanol y metanol. Se utilizaron cajas Petri con el patógeno en desarrollo, colocando explantes con crecimiento micelial en nuevo cultivo PDA mezclado con el extracto. Las nuevas cajas con el patógeno se mantuvieron en incubación a una temperatura de 26°C hasta que el testigo se llenara por completo, posteriormente con la ayuda de una regla se tomó el crecimiento radial del hongo cada 24 horas hasta que la placa testigo lleno por completo. Dichos datos fueron convertidos a porcentaje de inhibición usando como referencia el hongo testigo bajo la formula, reportada por (Galván *et al.*, 2014).

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(\text{crecimiento micelial del hongo testigo} - \text{crecimiento micelial del tratamiento})}{\text{crecimiento micelial del hongo testigo}} \times 100$$

El experimento se distribuyó en un diseño completamente al azar. Se evaluaron seis tratamientos (1000, 2500, 5000, 10000, 20000 y 50000 ppm) con tres repeticiones por cada tratamiento.

Los resultados de inhibición se procesaron por un análisis de varianza y prueba de separación de medias por Duncan al 0.05 de significancia. Se utilizó el programa SAS versión 9.0 para los análisis.

### **3.7.- Evaluación de extractos crudos acuosos de *Argemone mexicana* contra *Botrytis cinerea***

De los datos obtenidos en el apartado anterior, los resultados promisorios fueron con el extracto en agua. Se evaluó nuevamente contra el patógeno y se ajustaron nuevas concentraciones evaluando ocho tratamientos 25, 125, 250, 425, 750, 1400, 2200 y 3700 ppm con tres repeticiones por cada tratamiento. La técnica utilizada fue por difusión en placa. Repitiendo la metodología del apartado anterior

Se determinó el porcentaje de inhibición utilizando la expresión matemática reportada por Galván *et al.* (2014).

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(\text{crecimiento micelial del hongo testigo} - \text{crecimiento micelial del tratamiento})}{\text{crecimiento micelial del hongo testigo}} \times 100$$

Los resultados de inhibición fueron sometidos a un análisis de varianza y la separación de las medias se realizó con el método de Duncan al 0.05 de significancia. Se utilizó el programa SAS versión 9.0 para los análisis.

### **3.8.- Evaluación *in vivo* del extracto acuoso para el biocontrol de *B. cinerea***

Se utilizaron frutos de fresa libre de patógenos y calidad uniforme, previamente lavados con agua y jabón neutro y desinfectados con hipoclorito de sodio al 1%, haciendo uso del triple lavado para retirar residuos excedentes durante un promedio de un minuto entre cada lavado y se dejó secar a temperatura ambiente. Para la preparación del extracto acuoso de *A. mexicana* se ajustaron concentraciones a 25, 125, 250, 425, 750, 1400, 2200 y 3700 ppm.

Con la ayuda de un pincel se aplicó una capa fina de *A. vera*, recubriendo cada uno de los frutos para posteriormente aplicar el extracto de *A. mexicana* mediante aspersión, cubriendo por completo el área del fruto. Una vez que los frutos no presentaban humedad, se procedió a aplicar una segunda capa *Aloe* y una segunda aspersión del extracto. Se dejó secar y después se inóculo el fitopatógeno mediante aspersión con una concentración de  $1.650 \times 10^6$  en cada uno de los frutos adicionados a los tratamientos respecto al experimento.

El experimento se estableció mediante un diseño completamente al azar bajo cámara bioclimática a 27°C, fotoperiodo (12:12) y 100% de humedad relativa. Se utilizaron cuatro frutos de fresa por cada repetición del tratamiento. El experimento contó con cuatro testigos (Inoculado con el patógeno) y cuatro testigos (sin inocular). Transcurridas 24 horas, se comenzó la evaluación determinando el número de fresas colonizadas, manteniéndolo en observación durante 3 días después de la inoculación.

Las variables que se evaluaron fueron la incidencia y severidad de la enfermedad. La incidencia fue evaluada mediante el porcentaje de frutos con signos del patógeno. La severidad se determinó utilizando el software Fiji-ImageJ, los valores se obtuvieron en cm<sup>2</sup>, mismos que se utilizaron para determinar la efectividad de los extractos mediante la fórmula de Abbott (1925).

$$\%E = \frac{IT - It}{IT} \times 100$$

Donde:

%E: porcentaje de efectividad.

IT: infección en el testigo.

It= infección en el tratamiento.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1.- Identificación morfológica de *Botrytis cinerea*

La cepa del hongo fitopatógeno en estudio se identificó mediante sus características morfológicas. A los 4 días después de realizar la siembra, el micelio presentó un color gris característico desarrollándose por todo el medio de cultivo. Luego de colonizar toda la caja, el patógeno formó esclerocios negros e irregulares. Visto al microscopio el micelio presentó conidióforos erectos, septados, hialinos y ramificados donde se desarrollaban los conidios agrupados en forma de racimo; características reportadas por Barnett y Hunter (1998).

Por otra parte Aktaruzzaaman *et al.* (2017) reportan que después de 7 días, las colonias fúngicas cambian de un color blanco a gris oscuro con abundantes conidias unicelulares, de forma elipsoide u ovoide, de color marrón oscuro. Así mismo Uysal-Morca *et al.* (2021) mencionan que todos los aislamientos de *B.cinerea* producen esclerocios color negro, y colonias que presentan micelio aéreo de un color gris oscuro.

En la figura 1 se observa el crecimiento del fitopatógeno *B. cinerea* a diferentes etapas a) Crecimiento inicial del Macroconidio. b) macroconidio joven. c) Macroconidio maduro.

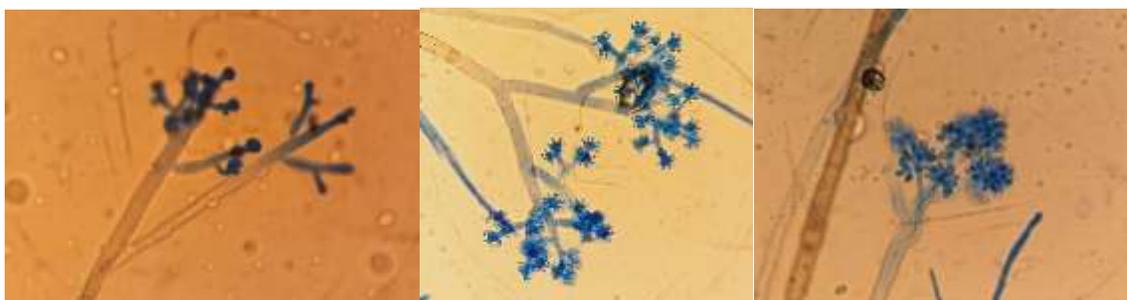


Fig. 1 Identificación morfológica del fitopatógeno *B. cinerea*

#### 4.2.- Identificación de metabolitos secundarios presentes en los extractos etanólicos y metanólicos de *Argemone mexicana*.

Estudios de cromatografía realizadas por Curay (2022), demuestran la presencia de 30 tipos de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de *A. mexicana*, de los cuales 7,9-di-tert-butil-1-oxaspiro[4.5]deca-6,9-dieno-2,8-diona y Alocriptopina presentan propiedades antifúngicas y antibacterianas, mientras que en el presente experimento se identificaron 14 compuestos en el extracto etanólico de *A. mexicana* de los cuales se encontraron mayoritariamente 9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z, Z,Z)-, como se demuestra en el cromatograma de la Fig.2, los cuales han demostrado poseer propiedades antifúngicas. Se identificaron 12 compuestos en el extracto metanólico de *A. mexicana* en donde además de encontrar el compuesto 9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z, Z,Z)-, se encontró el fitol como se demuestra en el cromatograma de la Fig.3 que ha sido reportado con propiedades antimicrobianas, lo que indica que en la actividad fungicida mostrada, el compuesto podría actuar como inhibidor del crecimiento micelial (Hernández, 2014).

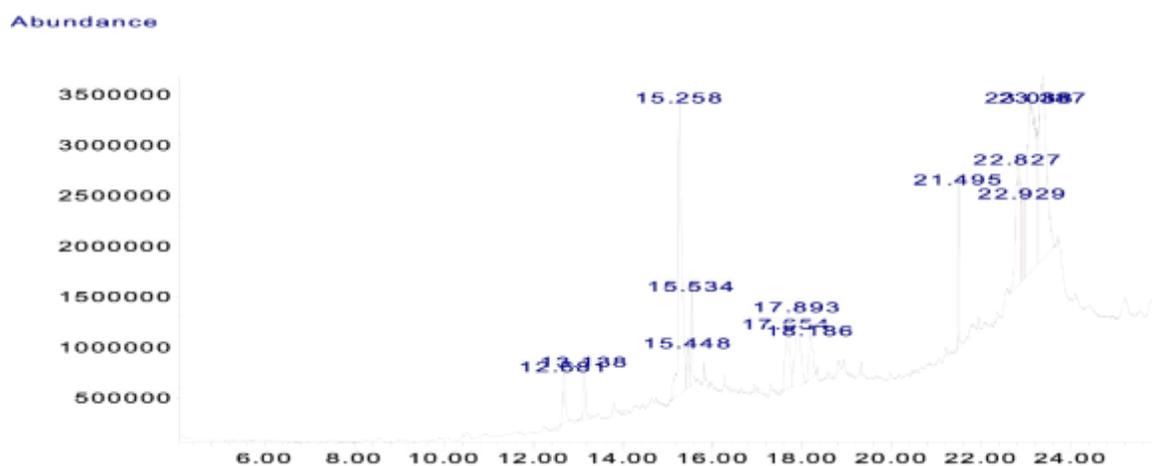


Fig. 2 Cromatograma de compuestos identificados en extracto etanólico de *A. mexicana*

Cuadro 1 Compuestos identificados en el extracto etanólico de *A. mexicana*

R.T	Área %	Library/ID	Ref#	CAS#
12.767	8.69	n-Hexadecanoic acid	102726	000057-10-3
13.152	1.24	Hexadecanoic acid, ethyl ester	124589	000628-97-7
15.331	22.63	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z, Z,Z)-	119801	000463-40-
15.408	11.03	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z, Z,Z)-	119801	000463-40-1
15.460	3.06	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	119801	000463-40-1
15.554	5.25	9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)-	141488	001191-41-9
17.961	0.72	Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	182867	000103-23-1
21.759	0.54	Benzo[h]quinoline, 2,4-dimethyl-	64841	000605-67-4
22.230	3.68	Cyclohexane, 1,1'-(2-ethyl-1,3-propanediyl)bis-	87245	054833-34-0
23.035	1.48	(+)-Canadine	164694	000522-97-4
23.266	15.90	[1,3]Benzodioxolo[5,6-e][2]benzazepine, 14(6H)-one, 5,7,8,15-tetrahydro-3,4-dimethoxy-6-methyl-	182195	000485-91-6
23.883	17.59	Decane, 5,6-bis(2,2-dimethylpropylidene)-, (Z,Z)-	119893	073002-85-4
24.058	1.02	2,4-Cyclohexadien-1-one, 3,5-bis(11-dimethylethyl)-4-hydroxy-	76340	054965-43-4
24.165	2.76	Thiophene, 2-[(trimethylsilyl)ethyl]nyl-	45100	040231-03-6

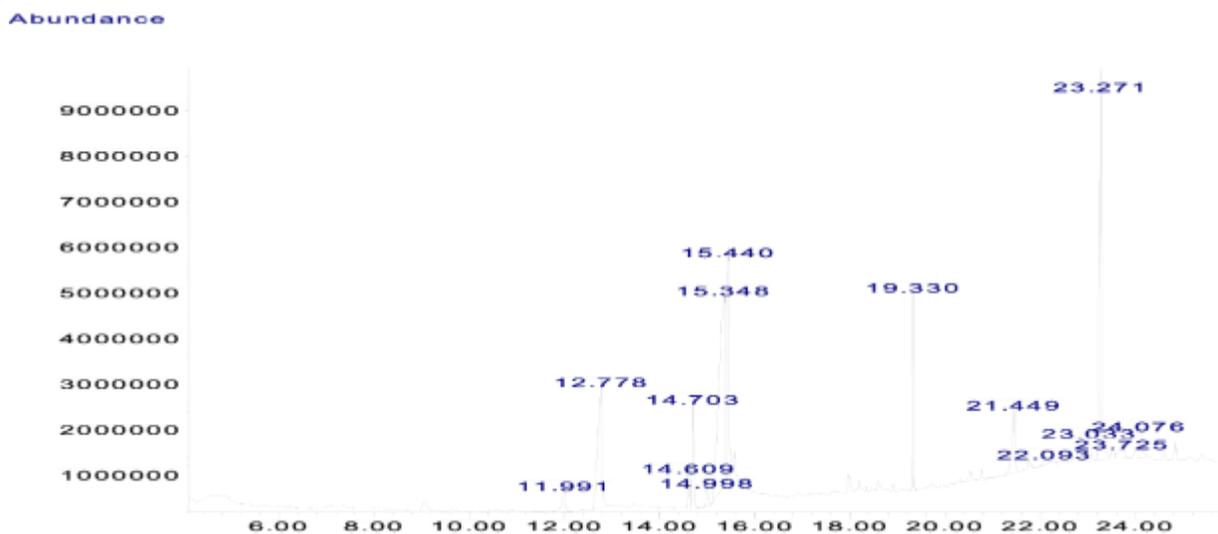


Fig. 3 Cromatograma de compuestos identificados en extracto metanólico de *A. mexicana*

Cuadro 2 Compuestos identificados en extracto metanólico de *A. mexicana*

R.T	Área %	Library/ID	Ref#	CAS#
11.991	1.88	Hexadecanoic acid, methyl ester	113690	000112-39-0
12.779	12.35	n-Hexadecanoic acid	102726	000057-10-3
14.608	1.65	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	132273	000112-63-0
14.702	4.08	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	130794	000301-00-8
14.997	1.15	Phytol	133807	000150-86-7
15.348	27.07	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z, Z,Z)-	119801	000463-40-1
15.438	14.02	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	119801	000463-40-1
21.450	4.37	Erinine, 21-deoxo-23-hydroxy-, (23.alpha.)-		
22.092	0.75	2,4-Cyclohexadien-1-one, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-	76340	054965-43-4
23.034	1.77	(+)-Canadine	164694	000522-97-4
23.270	19.45	[1,3]Benzodioxolo[5,6-e][2]benzazecin-14(6H)-one, 5,7,8,15-tetrahydro-3,4-dimethoxy-6-methyl-	182195	000485-91-6
23.724	1.82	2,4-Cyclohexadien-1-one, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-	76340	054965-43-4

#### **4.3.- Efecto antifúngico del extracto metanólico de *A. mexicana* en el desarrollo de *B. cinerea***

En la figura 4 se observa que el extracto metanólico de *A. mexicana* inhibió hasta un 100% el crecimiento del patógeno con una concentración de 50,000 ppm. Expuesto a una concentración de 1,000 a 2,500 ppm el porcentaje de inhibición fue casi nulo, sin embargo, las concentraciones que van de 5,000 a 20,000 ppm la inhibición del extracto se reflejó hasta un 30% ( $<.0001$ ). Así mismo estudios realizados por Elizondo-Luevano *et al.* (2020) demostraron que el extracto crudo metanólico de *A. mexicana* logró una inhibición total de trozofitos de *T. vaginalis* bajo una concentración de 1,000 y 500 ppm, la inhibición de ambos extractos fueron superiores al 97%. Otro estudio realizado por Andleeb *et al.* (2020) demostraron que el extracto metanólico extraído de *A. mexicana* tiene potencial actividad antibacteriana y antifúngica, dicha actividad fue alrededor del 80% en cepas de *S. aerus* y *B. subtilis*, la actividad antifúngica se observó más del 50% en cepas de *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus niger*, utilizando una dosis de 80  $\mu$ L de solución. Por otra parte un estudio realizado por More y Kharat (2016) documentan que los extractos metanólicos preparados a base de hojas y tallos de *A. mexicana* contienen una fuerte actividad antifúngica contra hongos filamentosos : *Mucor indicus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* y *Penicillium notatum*, dicho experimento demostró una mejor inhibición del extracto metanólico a base de tallo de *A. mexicana*.

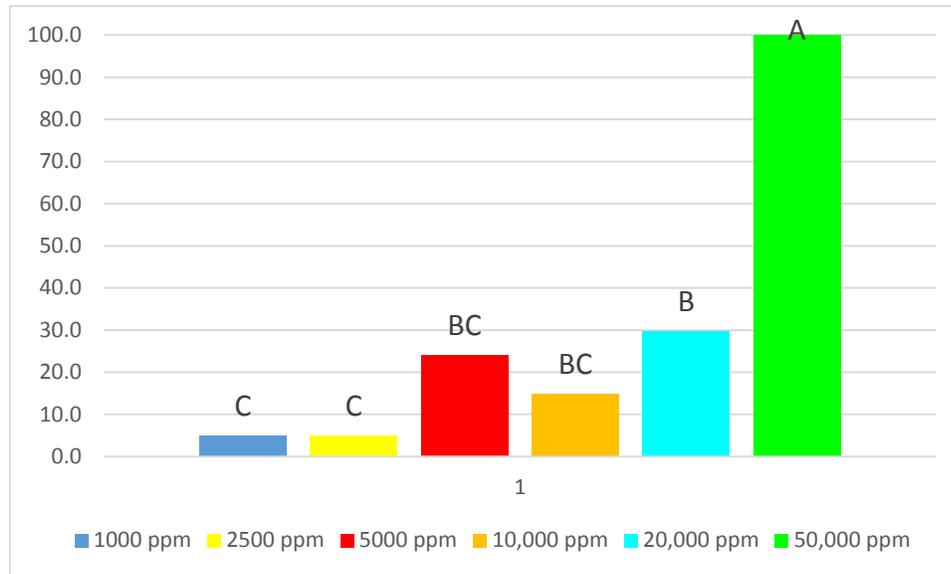


Fig. 4 Porcentaje de inhibición *in vitro* del extracto metanólico de *A. mexicana* contra *B. cinerea*.

En la Fig. 5 se puede observar el efecto inhibitorio del extracto metanólico de *A. mexicana* en comparación con el testigo, pudiendo deducir que a mayor concentración del extracto se obtiene una inhibición de hasta el 100%. Caso contrario a las concentraciones más bajas cuyo porcentaje de inhibición fue por debajo del 50%. Resultados similares fueron obtenidos por García-Mateos *et al.* (2021) en el que se evaluaron extractos metanólicos de *A. ochroleuca* contra cepas de *C. gloeosporioides*, mostrando mayor control en el crecimiento micelial en comparación con extractos hexánicos.

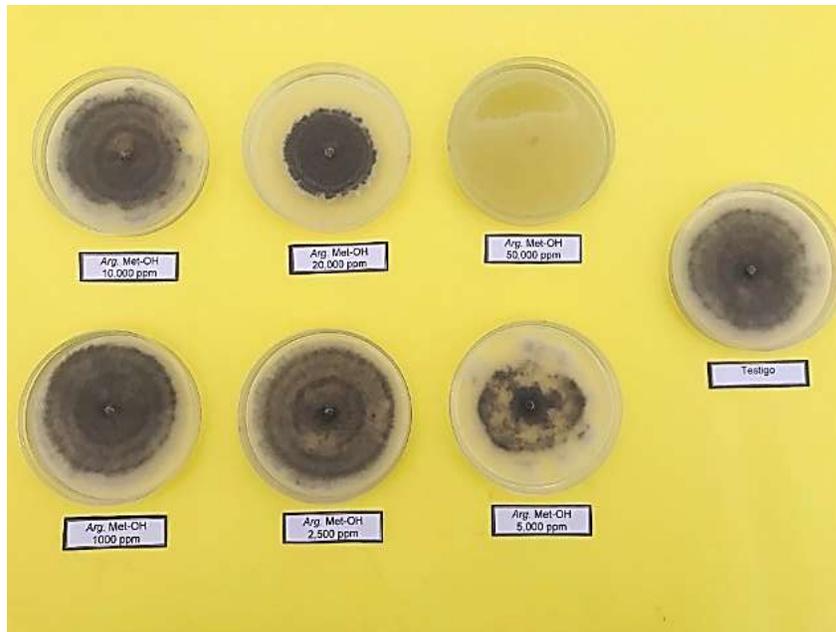


Fig. 5 Efecto del extracto metanólico de *A. mexicana* sobre el crecimiento micelial de *B. cinerea*.

#### 4.4.- Efecto antifúngico de extracto Etanólico de *A. mexicana* en el desarrollo de *B. cinerea*

En la figura 6 se observa que el extracto etanólico a partir de las concentraciones de 10,000 a 50,000 ppm, el porcentaje de inhibición fue de 50 a 100%, caso contrario a los tratamientos de 1000 a 5,000 ppm, la inhibición está por debajo del 50% llegando a ser casi nula ( $P < .0001$ ). Estudios realizados por Kumari *et al.* (2022) han demostrado que el extracto etanólico a base de hojas, proporciona una mayor actividad inhibitoria en cepas bacterianas, caso contrario al extracto metanólico a base de hojas, mismos que si demostraron una actividad antifúngica contra cepas de *Candida albicans* y *Macrophomina phaseolina*. Así mismo, estudios similares realizados por Ordinola y Vera (2022), demostraron el efecto inhibitorio de extractos etanólicos a base de hojas de *A. subfusiformis*, en el que se usaron concentraciones de 1,000000, 800000, 600000, 400000 y 200000 ppm, los cuales presentaron efecto inhibitorio sobre *S. aureus*.

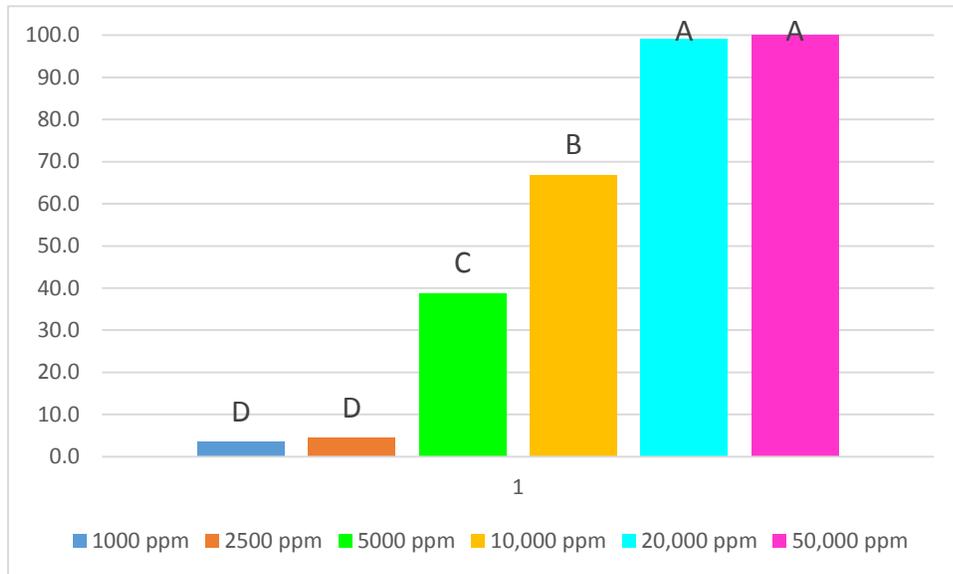


Fig. 6 Porcentaje de inhibición *in vitro* del extracto etanólico de *A. mexicana* contra *B. cinerea*.

En la Fig. 7 se puede observar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *A. mexicana* con las diferentes concentraciones en comparación al testigo. A partir de concentraciones altas, existe un alto porcentaje de inhibición lo cual resulta prometedor para los objetivos de este experimento. Estudios realizados por Fernandez-Calienes *et al.* (2016) demostraron de igual forma la actividad anti-*Plasmodium* a base de extractos etanólicos de *A. mexicana*.

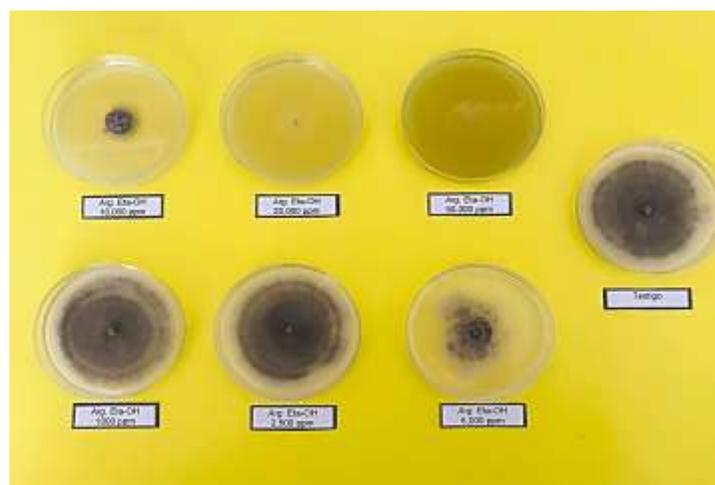


Fig. 7 Efecto del extracto etanólico de *A. mexicana* sobre el crecimiento micelial de *B. cinerea*.

#### 4.5.- Efecto antifúngico de extracto acuoso de *A. mexicana* en el desarrollo de *B. cinerea*

En la figura 8 se observa que el extracto acuoso de *A. mexicana* bajo las concentraciones de 25 a 3,700 ppm el porcentaje de inhibición es del 100%, demostrando resultados favorables aún a concentraciones mínimas. Estudios realizados por Curay (2022) demuestran que a un volumen de 10  $\mu$ L se observa una mayor actividad antifúngica del extracto acuoso del látex contra el hongo *B. cinerea* en medio de cultivo Sabouraud. Otro estudio realizado por Hernández *et al.* (2020) evaluaron la actividad antifúngica del extracto acuoso de *A. mexicana* a tres concentraciones que van de 500, 1000 y 2000 ppm, contra *Sclerotinia sclerotiorum*, por lo cual se determinó que la concentración de 2000 ppm presentó el mayor porcentaje de inhibición de (27.24  $\pm$  0.01%), resultados muy diferentes a los de esta investigación en la cual se encontraron valores de hasta un 100% en las concentraciones de 25 ppm. Estudios recientes realizados por Gómez *et al.* (2023) demostraron que los extractos acuosos de *A. mexicana* tienen un alto potencial biológico sobre *Rhizoctonia solani*, mostrando una inhibición del crecimiento micelial por arriba del 70% a concentraciones de 25 ppm.

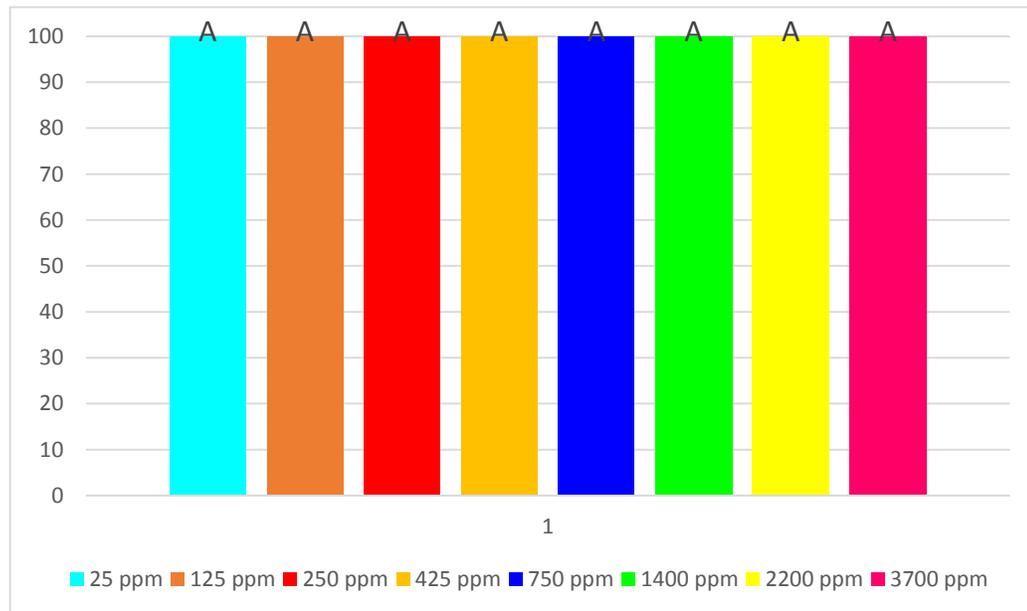


Fig. 8 Porcentaje de inhibición *in vitro* del extracto acuoso de *A. mexicana* contra *B. cinerea*.

En la Fig. 9 se observa el crecimiento micelial del patógeno antes y después de ajustar las concentraciones, en el que se utilizó el mismo extracto acuoso a un año de fermentación. Priya y Bhaskara (2012) reportan actividad antimicrobiana de extractos acuosos crudos de hojas y semillas de *A. mexicana* contra contra bacterias patógenas multirresistentes (*S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*).

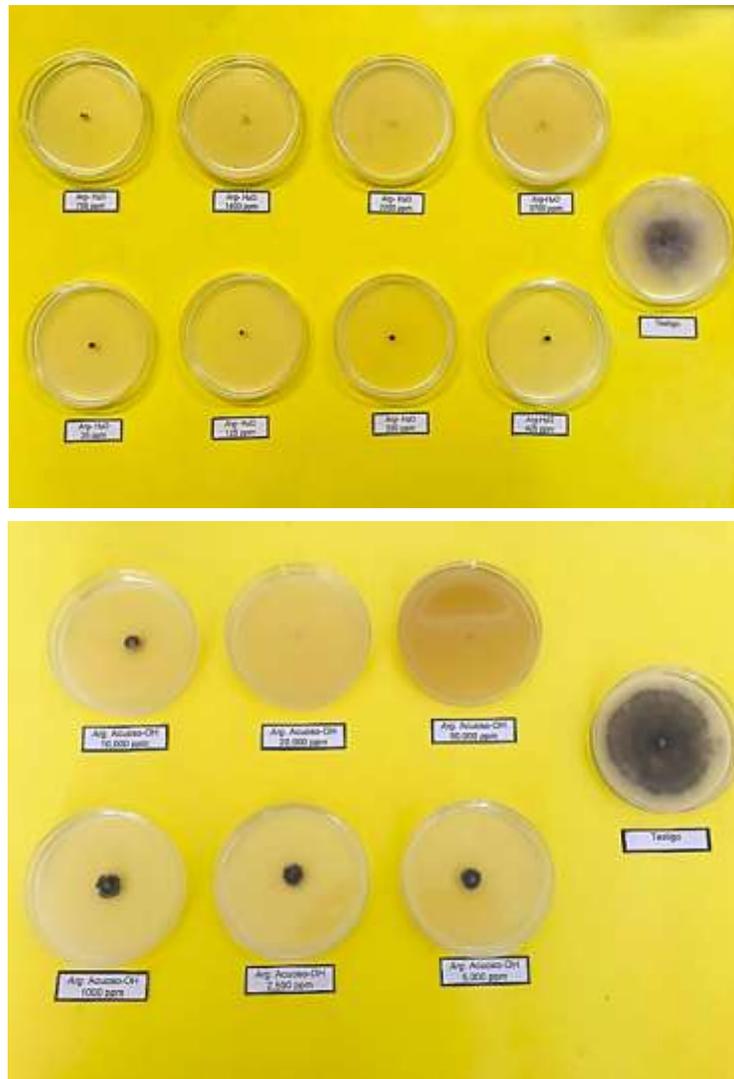


Fig. 9 Efecto del extracto acuoso de *A. mexicana* sobre el crecimiento micelial de *B. cinerea*.

#### 4.6.- Crecimiento micelial del patógeno contra los extractos de etanol y metanol de *A. mexicana*.

En la Fig. 10 se observa el crecimiento micelial del patógeno en estudio, en comparación con los tratamientos correspondientes a extractos de metanol y etanol, siendo las concentraciones que van de 1000 a 10000 ppm las que demostraron un crecimiento sobre o similar al testigo pudiendo deducir que funcionaron como un estimulador de crecimiento, mismos resultados para las concentraciones de 1000 y 2500 ppm en el concentrado de etanol, el crecimiento fue por arriba del testigo. Sin embargo, las concentraciones más altas presentaron efecto fungicida desde el inicio y hasta el final del experimento. En un experimento realizado por Yusoff *et al.* (2020) demostraron que los extractos crudos de *V. amygdalina* poseía actividad antifúngica potente, exhibiendo un efecto fungiestático sobre el crecimiento de *B. cinerea*, con una inhibición del 74,85 % y 75, % respectivamente.

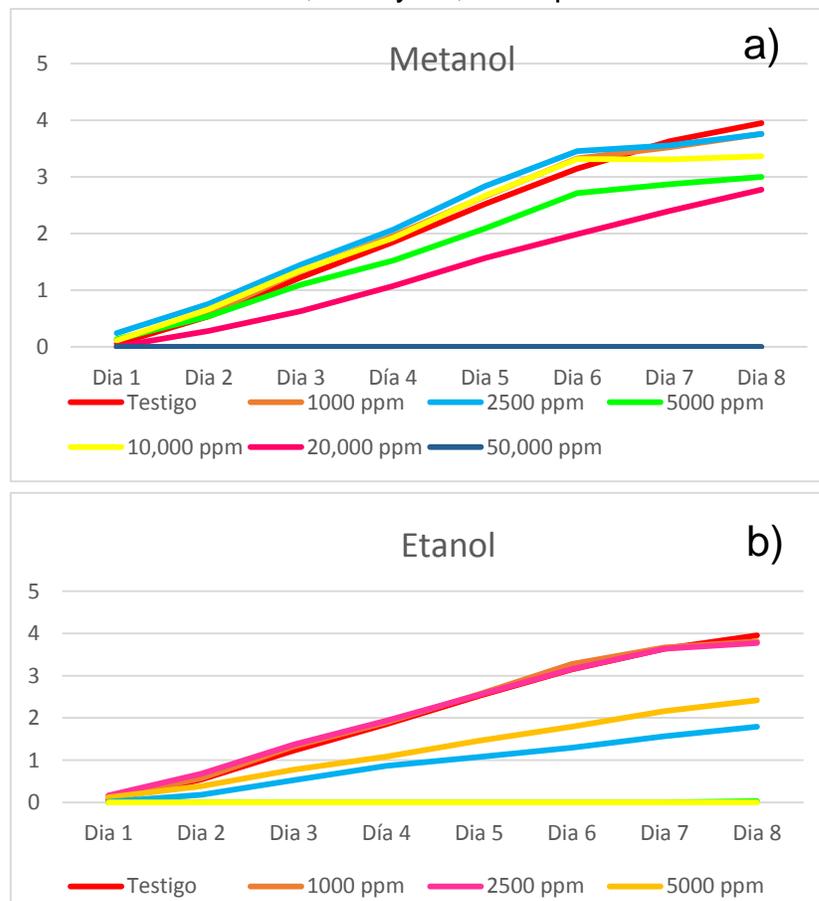


Fig. 10 Crecimiento micelial del patógeno ante los extractos de metanol y etanol

#### 4.7.- Evaluación *in vivo* de la incidencia de *Botrytis cinerea* sobre frutos de fresa recubiertos de una biopelícula de *Aloe vera* más extracto acuoso crudo de *A. mexicana*

Mediante el bioensayo *in vivo* se determinó la incidencia del fitopatógeno en frutos de fresa, utilizando extracto crudo acuoso de *A. mexicana* del cual se obtuvieron como resultado un 25% la presencia del patógeno en concentraciones de 125, 425 y 750 ppm, seguido de los tratamientos que van de 25 y 3700 ppm donde se presentó un 50%, por último los concentrados de 250, 1400 y 2200 ppm indican una presencia del 75%. Todas las concentraciones evaluadas mantuvieron una incidencia por debajo del testigo inoculado. Así mismo el testigo absoluto no presentó signos del fitopatógeno.

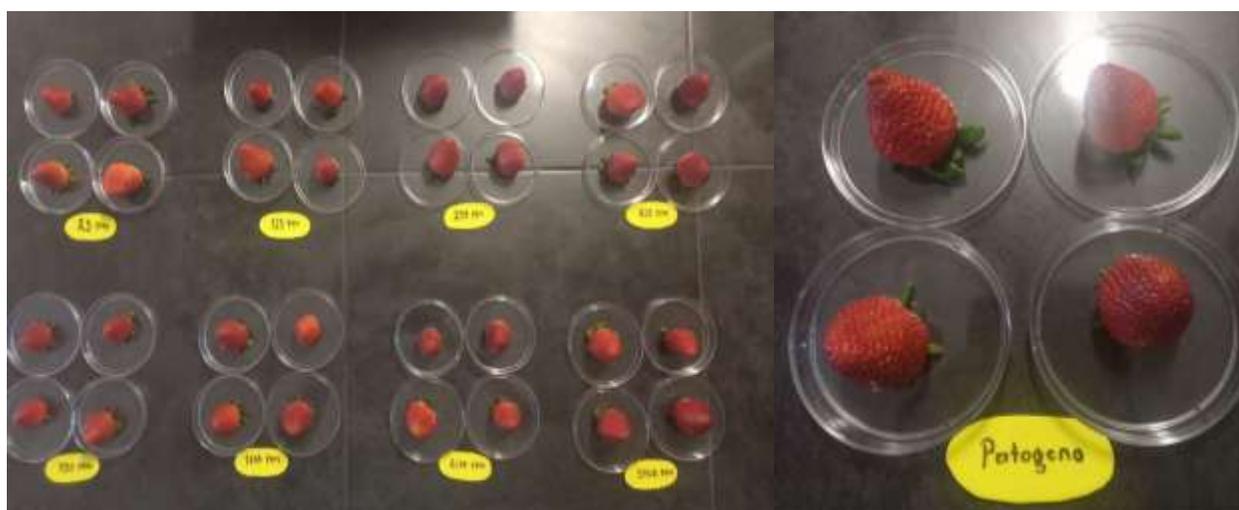


Fig. 11 Bioensayo sobre la incidencia de *B. cinerea* en frutos de fresa recubiertos con *A. vera* más extracto acuoso crudo de *A. mexicana*

##### 4.7.1.- Evaluación de la severidad de *B. cinerea* sobre frutos de fresa recubiertos con una biopelícula de *Aloe vera* más extracto acuoso crudo de *A. mexicana*.

Los resultados obtenidos mediante el presente bioensayo, presentaron una alta severidad del 76.9% en los frutos inoculados con el patógeno *B. cinerea*, el extracto *A. vera* + H<sub>2</sub>O-Arg(25 ppm) presentó una efectividad del 44.5%, *A. vera* + H<sub>2</sub>O-

Arg(125 ppm) mostró una efectividad del 82.8%, *A. vera* + H<sub>2</sub>O-Arg(250 ppm) reveló una efectividad del 24.3%, *A. vera* + H<sub>2</sub>O-Arg(425 ppm) indicó una efectividad del 81.3%, *A. vera* + H<sub>2</sub>O-Arg(750 ppm) expresó una efectividad del 74.7%, *A. vera* + H<sub>2</sub>O-Arg(1400 ppm) manifestó una efectividad del 14.7%, *A. vera* + H<sub>2</sub>O-Arg(2200 ppm) mostró una efectividad del 12.9%, mientras que *A. vera* + H<sub>2</sub>O-Arg(3700 ppm) indicó una efectividad del 43.9%.

Estudios realizados por Paucar y Ramirez (2021) demostraron que la película obtenida de los polisacáridos del *Nostoc sphaerecum* Vaucher ex Bornet y Flahault (cushuro) conservo los frutos de *Fragaria vesca* L. debido a las propiedades que se le otorga, al formar una barrera protectora que mejora el intercambio gaseoso del fruto y una adecuada humedad lo cual permite extender la vida útil de los frutos.

Otros estudios encontraron que los aceites esenciales de romero incorporados a biopelículas, poseen actividad antimicrobiana como la inhibición de hongos y bacterias contra las *Enterobacterias* y *Staphylococcus aureus*, además de funcionar como antioxidante. Actúa como indicador de los alimentos y la vida útil, usado como antimicrobiano (Sánchez y Valdez, 2019).

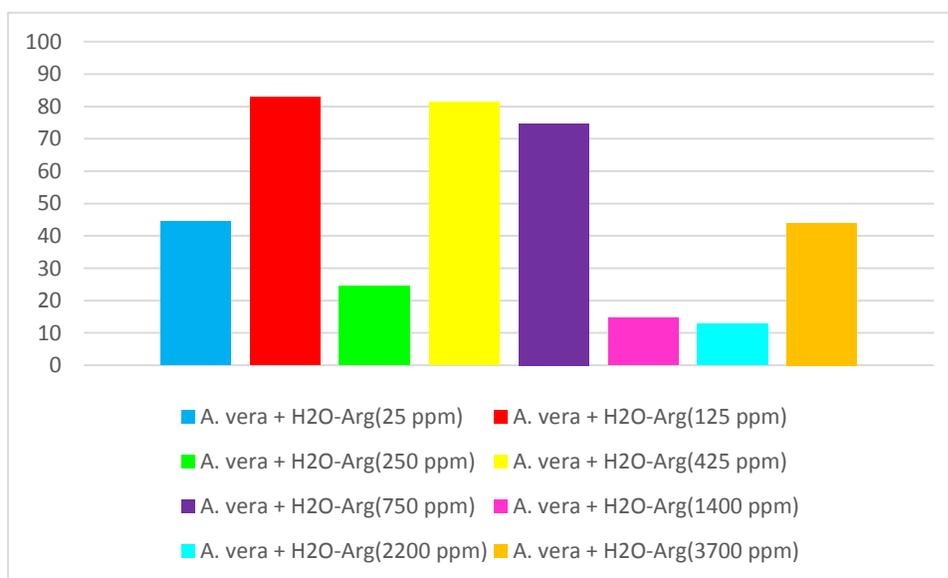


Fig. 12 Porcentaje de efectividad del extracto acuoso de *A. mexicana* sobre la severidad de *B. cinerea* en frutos de fresa.

## 5.- CONCLUSIONES

El extracto acuoso de *Argemone mexicana* bajo condiciones *in vitro* demostró tener un alto potencial inhibitorio contra el crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* aun a concentraciones bajas, estando por encima de los extractos con base en metanol y etanol en los que el porcentaje de inhibición fue favorable solo a concentraciones mayores a 20,000 ppm.

El efecto inhibitorio más favorable fue el extracto acuoso de *A. mexicana*, el extracto mantuvo su efecto inhibitorio 40 días después de haber abierto la caja Petri, exponiéndola a organismos contaminantes del ambiente.

Es recomendable el uso de extractos vegetales a base de agua ya que se ha demostrado el potencial inhibitorio sobre el patógeno en estudio, además de su fácil preparación, se mantiene al alcance del productor, reduciendo así el uso de productos químicos dañinos a la salud humana y el medio ambiente.

El uso de *Aloe vera* es una alternativa prometedora para el uso de biopelículas, ya que el experimento realizado demostró junto con el extracto una baja incidencia de la enfermedad en los frutos de fresa.

El patógeno *Botrytis cinerea* causante de la enfermedad del moho gris de la fresa, se logró identificar morfológicamente.

## 6.- LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S 1925. A method for computing the effectiveness of the insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18:257-267.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology* (5<sup>th</sup> Edition). Elsevier Academic Press. 948 p.
- Aktaruzzaman, M., Afroz, T., Hong, S. J., & Kim, B. S. (2017). Identification of *Botrytis cinerea*, the cause of post-harvest gray mold on Broccoli in Korea. *Research in Plant Disease*, 23(4), 372-378.
- ALEJANDRO, M., & CANO, T. (2013). Estrategias biológicas para el manejo de enfermedades en el cultivo de fresa (*Fragaria* spp.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 7(2), 263-276.
- Anami, JM, Steffens, CA, Moreira, MA, Fernandes, RC, Mosquera, DJC, & Amarante, CVTD (2020). Almacenamiento en atmósfera modificada activa para preservar la calidad de la cosecha de fresas 'San Andreas' en dos etapas de maduración. *Revista Brasileira de Fruticultura* , 42 .
- Andleeb, S., Alsalme, A., Al-Zaqri, N., Warad, I., Alkahtani, J. y Bukhari, SM (2020). Propiedades antibacterianas y antifúngicas *in vitro* del extracto solvente orgánico de *Argemone mexicana* L. *Journal of King Saud University-Science* , 32 (3), 2053-2058.
- BARTOLO MENDOZA, I. S. A. I. A. S. (2019). CONTROL DE *Botrytis cinerea* Pers.(Telomorfo: *Botryotinia fuckeliana* De Bary) EN ROSA CON EXTRACTOS DE VID SILVESTRE.
- Barnett, HL; Hunter, BB. 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4ed. The American Phytopathological Society. 218 p
- Brahmachari, G., Gorai, D., & Roy, R. (2013). *Argemone mexicana*: chemical and pharmacological aspects. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23, 559-567.
- Brenes Campos, J. R. (2021). Caracterización molecular de las especies de *Pratylenchus* y *Meloidogyne* asociadas al cultivo de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.), en la Región Central de Costa Rica.
- Brenes-Campos, R., Núñez-Rodríguez, L. A., Flores-Chaves, L., & Humphreys-Pereira, D. A. (2021). New record of the Amaryllis Lesion Nematode, *Pratylenchus hippeastri*, associated with strawberry in the Central Region of Costa Rica. *Nematropica*, 51(2), 131-136.

- Cano, M. A., Cuervo, J. L., & Darghan, A. E. (2022). Influencia de consorcios microbianos en la incidencia del moho gris (*Botrytis cinerea*) en fresa (variedad Monterey). *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 25(2).
- Capelo, G., & Roche, J. (2010). Evaluación de 10 fungicidas en el control de *Botrytis cinerea* Pers. Fr. en el cultivo de fresa (*Fragaria virginiana* var. *Diamante*) a nivel de laboratorio.
- Caproni, C. M., Rodrigues, F. A., Rezende, R. A. L. S., Pomella, A. W. V., & Pasqual, M. (2021). Application of biological products in strawberry cultivars to control *Botrytis cinerea*. *Research, Society and Development*, 10(5), e8710514655-e8710514655.
- Carrillo Albarracín, O. S. (2018). Evaluación de las enfermedades radiculares más importantes en el cultivo de fresa y de algunos productos agrobiológicos como alternativas para su control en el municipio de Pamplona, Norte de Santander.
- Correa, A., & Alarcón, L. (2015). Cultivo de Frutilla. Santiago de Chile : ONUDI.
- Curay Yaulema, C. S. (2022). *Composición Química y actividad antifúngica del Látex de Argemone Mexicana (Cardo Santo)* (Master's thesis).
- Dara, S. K. (2015). Virus decline of strawberry in California and the role of insect vectors and associated viruses. *Plant Health Progress*, 16(4), 211-215.
- Diaz Martinez, H. L. (2016). Actividad antiinflamatoria y antioxidante del extracto hidroalcohólico del látex de *Argemone mexicana* ("Cardo santo").
- Elías, A. L. (2020). Evaluación de biopelículas comestibles con *Bacillus subtilis* para la conservación de la fresa.
- Elizondo Luévano, J. H. (2020). *Evaluación, identificación y caracterización de fracciones con actividad antiparasitaria de Argemone mexicana (L) y Kalanchoe daigremontiana (Hamet & H. Perrier)* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- Elizondo-Luevano JH, Verde-Star J, González-Horta A, Castro-Ríos R, Hernández-García ME, Chávez-Montes A. In Vitro Effect of Methanolic Extract of *Argemone mexicana* against *Trichomonas vaginalis*. *Korean J Parasitol*. 2020

Apr;58(2):135-145. doi: 10.3347/kjp.2020.58.2.135. Epub 2020 Apr 30.  
PMID: 32418382; PMCID: PMC7231827.

Feliziani, E., Santini, M., Landi, L., & Romanazzi, G. (2013). Pre-and postharvest treatment with alternatives to synthetic fungicides to control postharvest decay of sweet cherry. *Postharvest Biology and Technology*, 78, 133-138.

Fernández-Ortuño, D., Pérez-García, A., Tores, J. A., & de Vicente, A. (2017). Resistencia a múltiples fungicidas en *Botrytis cinerea* en fresa. *Agric. Vergel*, 327-330.

Ferriol Marchena, X. (2012). Principales enfermedades virales de la fresa (*Fragaria x ananassa Duchesne*). Síntomas más característicos y control. *CITRIFRUT*.

Fresa transgénica: importancia, beneficios y avances científicos en México. (2016).  
Disponble en:  
[http://reaxion.utleon.edu.mx/Art\\_Fresa\\_transgenica\\_importancia\\_beneficios\\_y\\_avances\\_cientificos\\_en\\_Mexico.html](http://reaxion.utleon.edu.mx/Art_Fresa_transgenica_importancia_beneficios_y_avances_cientificos_en_Mexico.html)

Galván, J. V., Díaz, C. A. G., & Fernández, R. G. (2014). Efecto de los extractos acuosos de hojas de plantas de gobernadora (*Larreas tridentata*), hojasesn (*Flourensia cernua*) y encino (*Quercus pungens*), sobre el crecimiento micelial in vitro de hongos fitopatógenos. *Acta Universitaria*, 24(5), 13-19.

Gamboa, J. G. S. (2015). *Establecimiento de cultivos in vitro de Argemone mexicana L. para el estudio de la biosíntesis de alcaloides bencilisoquinolínicos* (Doctoral dissertation, Centro de Investigación Científica de Yucatán).

GBIF (Global Biodiversity Information Facility) consultado el: 09/03/23, disponible en: <https://www.gbif.org/es/>

García-Mateos, M. R., Acosta-Ramos, M., Rodríguez-Pérez, E., Vásquez-Sánchez, J., & Hernández-Ramos, L. (2021). Extractos vegetales para el control de *Colletotrichum gloeosporioides in vitro*, en periodo de floración y poscosecha del fruto de *Carica papaya*. *Polibotanica*, (51), 213-228.

Gómez-Hernández, F., Castro-del Ángel, E., Hernández-Juárez, A., Galindo-Cepeda, M.E., Sánchez-Vega, M. (2023). Extractos Botánicos para el Control de la Costra Negra de la Papa *Rhizoctonia solani* en Papa *Solanum tuberosum* L. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Repositorio institucional.

- Gómez Salas, M. (2022). Desarrollo de recubrimientos a base de fibroína con adición de *Aloe vera* y aceite esencial de tomillo para protección de bananos tipo exportación
- Guerrero Urbano, H. V. (2018). *Determinación de las plagas y enfermedades que atacan al cultivo de Fresa (Fragaria sp.), en la comunidad de Chilcapamba, cantón Cotacachi, provincia de Imbabura* (Bachelor's thesis, El Angel: UTB, 2018).
- Hernández Ceja, A. (2014). Ensayo biodirigido in vitro de extractos vegetales contra hongos patógenos de Arándano (*Vaccinium* sp.).
- HIDALGO, J. I. L., & Flota, F. A. V. (2019). *Análisis de la síntesis de alcaloides en fruto y semilla de Argemone mexicana L* (Doctoral dissertation, Centro de Investigación Científica de Yucatán).
- Hinojosa Peña, F. (2017). *Eficacia de antibióticos en el control del tizón bacteriano (Xanthomonas spp) en dos variedades de fresa (Fragaria x ananassa, D). En la zona de San Rafael, Cantón Otavalo, Provincia Imbabura* (Bachelor's thesis, El Ángel: 2017).
- ITIS (Integrated Taxonomic Information System) consultado el: 09/03/23, disponible en: [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=24624#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=24624#null)
- 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).
- Kirschbaum, D. S. (2022). *Características botánicas, fisiología y tipos de variedades de fresas*. SPE3 (España).
- Koike, S., & Bolda, M. (2016). El moho gris o pudrición de fresa. *United States: California Strawberry Comission*.
- Kumari, S., Sindhu, M., Goel, N., Panghal, M., Singh, S. y Rani, I. (2022). Efecto de Técnicas de Extracción y Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de *Argemone mexicana* L. Extractos de Hojas y Raíces en Diferentes Disolventes. *Revista de Investigación e Informes Científicos*, 28 (6), 37-43.
- Lagrouh, F., Dakka, N., & Bakri, Y. (2017). The antifungal activity of Moroccan plants and the mechanism of action of secondary metabolites from plants. *Journal de mycologie medicale*, 27(3), 303-311.

- Lasprilla, D. M. (2020). Manual de recomendaciones técnicas para su cultivo en el departamento de Cundinamarca. *Bogotá: Corredor Tecnológico Agroindustrial*, 26-31.
- Llanos Melo, A. K. (2017). Control de *Botrytis cinerea* Pers. en fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) cv. Aromas mediante fungicidas biológicos y químicos en Huaral.
- López Jarrín, M. C. (2021). *Diagnóstico morfológico de la pudrición de la corona de la fresa (Fragaria x ananassa Duchesne ex Rozier) en el cantón Quito* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- Martínez López, E. (2018). Extractos vegetales para el manejo de plagas y enfermedades en jitomate (*Solanum lycopersicum*) y fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.).
- Martínez Martínez, L. I., & Ponce Lay, M. (2013). *Uso y evaluación de dos aceites esenciales (canela y clavo de olor) para control de las pudriciones fungosas y determinación de la vida útil mediante películas protectoras comestibles en papaya (carica papaya cv. hawaiana)* (Bachelor's thesis, 2012).
- Matute Calle, P. F. et al., (2019). *Control biológico del moho gris (Botrytis cinerea) en cultivos de fresa (Fragaria vesca L.) mediante hongos filamentosos antagonistas* (Bachelor's thesis).
- Mesa Vanegas, A. M., Marín Pavas, D. A., Ocampo Jiménez, O., Calle Osorno, J. D. J., & Monsalve Fonnegra, Z. I. (2019). Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos.
- Mondlno, P. (2017). Control biológico postcosecha. *Uruguay. Recuperado el Abril de.2017*
- Montes Enciso, M. E. (2017). Efecto genotóxico in vitro del látex de plantas medicinales de uso dérmico *Argemone mexicana* L. "cardo santo" y *Taraxacum officinale* "diente de león". Ayacucho, 2017.
- More, NV y Kharat, AS (2016). Potencial antifúngico y anticancerígeno de la *argemone mexicana* L. *Medicines* , 3 (4), 28.
- Ochoa Zepeda, A. (2016). Efecto de filtrados de *Botrytis cinerea* sobre el control poscosecha de moho gris en fresa.
- Ordinola Becerra, C. M., & Vera Gonzales, M. M. (2022). Efecto inhibitorio in vitro de extractos etanólicos de *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb., *Argemone subfusiformis* Ownbey y *Solanum americanum* Mill. sobre *Staphylococcus*

*aureus* y *Klebsiella pneumoniae* y su toxicidad sobre *Artemia salina* en condiciones de laboratorio.

- Paucar Sarango, D. M., & Ramirez Chuquicahua, B. C. (2021). Elaboración de una película conservante a base de polisacáridos del *Nostoc sphaericum* *Vauch.*(Cushuro) y su aplicación en frutos de la poscosecha de *Fragaria vesca* L.(Fresa).
- Perotto, M. C., Luciani, C., Celli, M. G., Torrico Ramallo, A. K., & Conci, V. C. (2014). First report of Strawberry crinkle virus in Argentina.
- Petrasch, S., Knapp, SJ, Van Kan, JA y Blanco-Ulate, B. (2019). Moho gris de la fresa, una enfermedad devastadora causada por el hongo patógeno necrotrófico ubicuo *Botrytis cinerea*. *Patología vegetal molecular* , 20 (6), 877-892.
- PIÑA, G. F. G. (2021). *Biopelícula a base de almidón de tortilla de maíz utilizada como barrera protectora en frijol (Phaseolus vulgaris)* (Doctoral dissertation, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO).
- Priya, CL y Rao, KVB (2012). Aspectos etanobotánicos y etanofarmacológicos actuales de *Argemone mexicana* Linn: una visión general. *Revista Internacional de Ciencias Farmacéuticas e Investigación* , 3 (7), 2143.
- Proaño Quishpe, S. B. (2022). *Análisis del manejo poscosecha de la fresa fragaria ananassa en los cultivos de la comunidad de Paquiestancia, cantón Cayambe* (Bachelor's thesis).
- Reyes, C. (2015). Marchitez por *verticillium* - *Verticillium dahliae*, obtenido de <https://panorama-agro.com/?p=1760>
- Rivera Zabala, N. (2016). *Variabilidad genética de Xanthomonas fragariae y evaluación de su severidad en genotipos de fresa* (Master's thesis).
- Rodríguez Davila, F. (2020). Desarrollo de un sistema de visión artificial remoto para la detección de antracnosis o mancha foliar en los cultivos de fresa.
- Romanazzi, G., & Feliziani, E. (2014). *Botrytis cinerea* (gray mold). In *Postharvest decay* (pp. 131-146). Academic Press.
- Rubio, S. A., Alfonso, A. M., GRIJALBA, C., & Pérez, M. M. (2014). Determinación de los costos de producción de la fresa cultivada a campo abierto y bajo macrotúnel. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 8(1), 67-69.

- Salazar Palma, A. M. (2021). Caracterización fisicoquímica y microbiológica de films basados en almidón de camote (*Ipomoea batatas*) y aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) y tomillo (*Thymus vulgaris*).
- Salinas Vázquez, F. J. (2016). *Uso de productos sintéticos y de origen natural para el control de ácaros en fresa* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma Chapingo).
- Sánchez Calancha, J. I., & Valdez Dávila, L. S. (2019). Biopelícula activa a base de almidón de mandioca (*Manihot Esculenta*) aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) reforzado con organoarcillas.
- SIAP servicio de información agrícola y pesquera. (2021). Anuario Estadístico de la producción agrícola. Consultado el: 10-02-23. Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Soto, I. H., Maldonado, A. J., Montiel, R. G. C., Álvarez, G. A., & Hernández-Fuentes, A. D. (2022). *Argemone mexicana* contiene metabolitos secundarios que controlan hongos fitopatógenos. *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP*, 8(15), 6-10.
- Téllez, J. A. (2022). *Botrytis* spp.: estado actual del biocontrol.. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/20.500.12010/30992>.
- Trelles, S. Diaz, A. (2017). Manual de buenas prácticas agrícolas y de producción para el cultivo de la fresa (2017). Ministerio de Agricultura y Ganadería, Servicio Fitosanitario del Estado, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. – San José, C.R.: MAG: SFE.
- Tzanetakis, I. E., & Martin, R. R. (2013). Expanding field of strawberry viruses which are important in North America. *International Journal of Fruit Science*, 13(1-2), 184-195.
- Uysal-Morca, A., Kinay-Teksür, P. y Egerci, Y. (2021). Identificación morfológica y filogenética de *Botrytis cinerea* que causa el tizón de la flor y la pudrición de la fruta de las cerezas dulces en la región del Egeo, Turquía. *Revista de enfermedades y protección de plantas* , 128 (4), 1051-1060.
- Vega, H., Castellanos, L., Céspedes, N., & Sequeda, A. (2019). Control alternativo de las enfermedades fúngicas foliares en el cultivo de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch) en el municipio de Pamplona, Norte de Santander: Alternative control of foliar fungal diseases in strawberry crops (*Fragaria x*

*ananassa* Duch), in the municipality of Pamplona, Norte de Santander. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 4(1), 10-21.

Ventosa, M., García, M. A., Díaz, R., & Casariego, A. (2017). Empleo de coberturas de alginato de sodio enriquecidas con *Aloe vera* en el tratamiento poscosecha de tomates. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 23(1).

Veloso, J., & van Kan, J. A. (2018). Many shades of grey in *Botrytis*–host plant interactions. *Trends in plant science*, 23(7), 613-622. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.03.016>

Watson, T. T., & Desaeger, J. A. (2019). Evaluation of non-fumigant chemical and biological nematicides for strawberry production in Florida. *Crop Protection*, 117, 100-107.

Yusoff, S. F., Haron, F. F., Tengku Muda Mohamed, M., Asib, N., Sakimin, S. Z., Abu Kassim, F., & Ismail, S. I. (2020). Antifungal activity and phytochemical screening of *Vernonia amygdalina* extract against *Botrytis cinerea* causing gray mold disease on tomato fruits. *Biology*, 9(9), 286.

## ANEXOS

Cuadro 3 Análisis de varianza de la inhibición del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* por el extracto metanólico de *Argemone mexicana*

Fuente	DF	Cuadrados	la media	F-valor	Pr>F
Tratamiento	5	18814.38667	3762.87733	26.30	<.0001
Modelo	5	18814.38667	3762.87733	26.30	<.0001
Error	12	1717.03333	143.08611		
Total Correcto	17	20531.42000			

Coefficiente de Variación: 39.09105

R-cuadrada: 0.916370

Cuadro 4 Análisis de varianza de la inhibición del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* por el extracto etanólico de *Argemone mexicana*.

Fuente	DF	Cuadrados	la media	F-valor	Pr>F
Tratamiento	5	27875.54444	5575.10889	121.90	<.0001
Modelo	5	27875.54444	5575.10889	121.90	<.0001
Error	12	548.84000	45.73667		
Total Correcto	17	28424.38444			

Coefficiente de Variación: 12.81929

R-cuadrada: 0.980691

Cuadro 5 Análisis de varianza de la inhibición del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* por el extracto acuoso de *Argemone mexicana*

Fuente	DF	Cuadrados	la media	F-valor	Pr>F
Tratamiento	7	0	0	.	.
Modelo	7	0	0	.	.
Error	16	0	0		
Total Correcto	23	0			

Coeficiente de Variación: 0

R-cuadrada: 0.000000

Cuadro 6 Resultados del análisis de varianza del extracto metanólico de *Argemone mexicana*.

Agrupamiento	Media	N	Tratamiento
A	100.00	3	6
B	30.633	3	5
BC	25.033	3	4
BC	15.867	3	3
C	6.033	3	2
C	6.033	3	1

Cuadro 7 Resultados del análisis de varianza del extracto etanólico de *Argemone mexicana*.

Agrupamiento	Media	N	Tratamiento
A	100.00	3	6
A	99.167	3	5
B	67.333	3	4
C	39.600	3	3
D	5.633	3	2
D	4.800	3	1

Cuadro 8 Resultados del análisis de varianza del extracto acuoso de *Argemone mexicana*.

Agrupamiento	Media	N	Tratamiento
A	100.0	3	1
A	100.0	3	2
A	100.0	3	3
A	100.0	3	4
A	100.0	3	5
A	100.0	3	6
A	100.0	3	7
A	100.0	3	8



Fig. 14 Inhibición del extracto acuoso a 40 días de realizado el experimento.

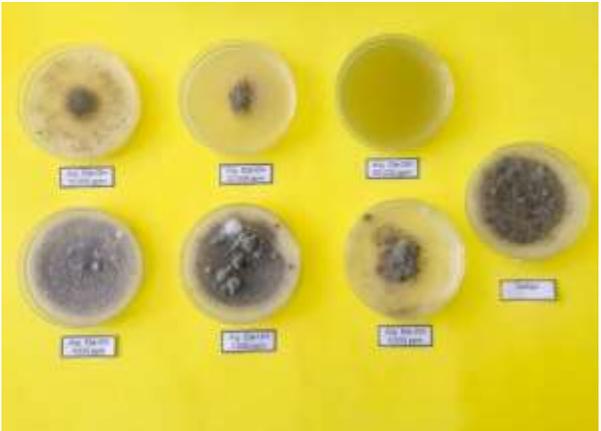


Fig. 15 Inhibición del extracto etanólico a 40 días de realizado el experimento.

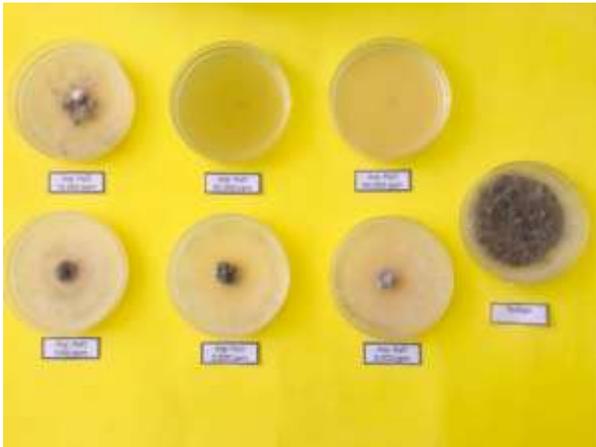


Fig. 16 Inhibición del extracto metanólico a 40 días de realizado el experimento.

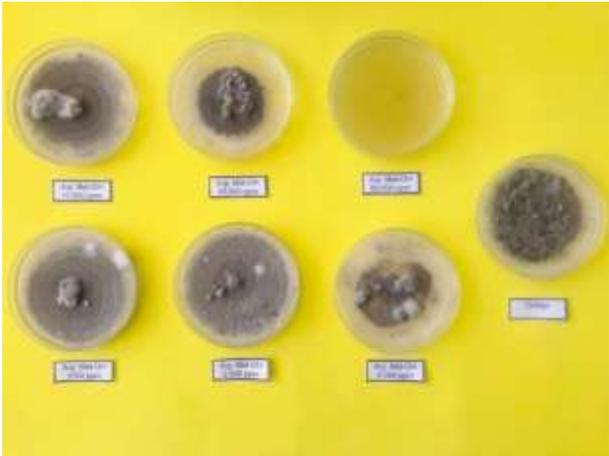


Fig. 17 Inhibición del extracto acuoso bajo las primeras concentraciones a 40 días de realizado el experimento.