

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO



ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS VEGETALES PARA EL CONTROL
DE *FUSARIUM SOLANI*, *RHIZOCTONIA SOLANI* Y *PHYTOPHTHORA CAPSICI* EN
CULTIVO DE CHILE

Tesis

Que presenta DIANA COTA UNGSON

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

Saltillo, Coahuila

Junio, 2021

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS VEGETALES PARA EL CONTROL
DE *FUSARIUM SOLANI*, *RHIZOCTONIA SOLANI* Y *PHYTOPHTHORA CAPSICI* EN
CULTIVO DE CHILE

Tesis

Elaborada por DIANA COTA UNGSON como requisito parcial para obtener el grado de
Maestro En Ciencias en Parasitología Agrícola con la supervisión y aprobación del
Comité de Asesoría.



Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo
Asesor Principal



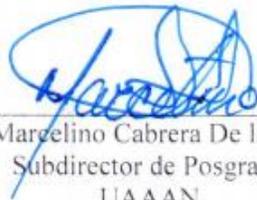
Dr. Alberto Flores Olivas
Asesor



M.C. Marco Antonio Tucuch Pérez
Asesor



Dr. Roberto Arredondo Valdés
Asesor Externo



Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente
Subdirector de Posgrado
UAAAN

AGRADACIMIENTOS

A Dios por darme la vida, fuerza, sabiduría y perseverancia para lograr mis objetivos, por no dejarme sola y caminar conmigo a cada paso que doy, tomarme de su mano a lo largo de mi vida.

A la universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por darme la oportunidad de seguir creciendo y logrando metas en mi carrera profesional y acogerme como alumno de su institución.

A mi esposo Jasiel Noé Juárez., por apoyarme en todos mis proyectos de vida y estar a mi lado siempre para darme tiempo, paciencia y tolerancia, y nunca dejarme sola. A mi comité de asesoría los doctores; Fco. Daniel Hernández Castillo, Alberto Flores Olivas, Roberto Arredondo Valdés y Marco Tucuch Pérez, por su apoyo y tiempo dedicado.

A mi mamá Paula Ungson Montes De Oca y mis hermanos Noe Cota Ungson, Fco. Javier Cota Ungson y Donaldo Cota Ungson por todo el apoyo recibido a lo largo de mis estudios, por sus consejos y buenos deseos.

A mi amiga Ivon Alejandra por amistad y apoyo moral.

A CONACYT por el apoyo brindado a lo largo del proyecto de investigación y la formación profesional.

DEDICATORIA

A mi esposo Jasiel Noé, Te Amo. Y especialmente, a mi madre que siempre me dio palabras de aliento para emprender o continuar mis sueños y proyectos.

A mis hermanos, Noé, Francisco Javier y Jesús Donaldo

A mis pequeñas sobrinas, Emily y Paola

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE CUADROS.....	x
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS GENERAL.....	2
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	2
HIPÓTESIS.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Cultivo de Chile.....	3
Importancia del cultivo de chile en el mundo y en México.....	3
Clasificación taxonómica del chile.....	3
Limitantes de producción de chile.....	3
Marchitez por <i>Fusarium oxysporum</i>	4
Clasificación de <i>F. oxysporum</i>	4
Sintomatología de <i>F. oxysporum</i>	5
Marchitez por <i>Rhizoctonia solani</i>	5
Clasificación de <i>R. solani</i>	5
Sintomatología de <i>R. solani</i>	6
Marchitez de <i>Phytophthora capsici</i>	6
Clasificación de <i>P. capsici</i>	6
Sintomatología de <i>P. capsici</i>	7

Medidas de Control de Enfermedades en el Cultivo del Chile.....	7
Control químico.....	7
Control biológico.....	7
Extractos vegetales como fungicidas.....	8
<i>Lippia graveolens</i>	8
Clasificación de <i>L. graveolens</i>	9
Hábitat y distribución en México.....	9
Descripción botánica.....	9
<i>Agave lechuguilla</i>	10
Clasificación taxonómica.....	10
Clasificación de <i>A. lechuguilla</i>	10
Hábitat y distribución en México.....	10
Descripción botánica.....	10
<i>Viscum álbum</i>	11
Clasificación de <i>V. álbum</i>	11
Hábitat y distribución en México.....	11
Descripción botánica.....	11
MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
Obtención de material vegetal para elaboración de extractos.....	12
Tratamiento del material vegetal.....	12
Preparación de los extractos vegetales.....	12
Caracterización de fitoquímicos presentes en los extractos vegetales mediante Cromatografía de líquidos de fase inversa (HPLC masas).....	12

Obtención e identificación de las cepas de hongos y algas fitopatógenas.....	13
Obtención de las cepas de <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Rhizoctonia solani</i>	13
Obtención de la cepa de <i>Phytophthora capsici</i>	14
Actividad Antifúngica de los Extractos de Plantas <i>in vitro</i>	14
Actividad antifúngica de los extractos vegetales sobre <i>F. oxysporum</i> por el método de microdilución en placa.....	14
Actividad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de <i>R. solani</i> y <i>P. capsici</i> por el método de medio envenenado.....	15
Diseño estadístico.....	16
Efectividad biológica de extractos de plantas <i>in vivo</i> bajo condiciones de ambiente protegido.....	16
Establecimiento del experimento bajo condiciones de ambiente protegido.....	16
Material vegetativo.....	16
Sustrato.....	16
Aplicación de los tratamientos.....	16
Riego y fertilización.....	17
Control de plagas y enfermedades.....	17
Preparación y cuantificación del inóculo.....	17
Inoculación y trasplante.....	18
Variables evaluadas.....	19
Severidad en follaje.....	19
Severidad en raíz.....	19
Altura de planta (cm).....	20
Longitud de raíz (cm).....	20

Diámetro de tallo (mm).....	20
Clorofila en hojas (unidades spad).....	20
Diseño experimental.....	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
Características de fitoquímicos presentes en los extractos vegetales, caracterizados mediante Cromatografía de líquidos de fase inversa (HPLC).	22
Caracterización morfológica.....	23
Identificación de <i>Fusarium oxysporum</i>	23
Identificación de <i>Rhizoctonia solani</i>	24
Identificación de <i>Phytophthora capsici</i>	25
Actividad antifúngica de los extractos vegetales sobre <i>F. oxysporum</i> por el método microdilución en placa.....	25
Actividad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de <i>R. solani</i> por el método de medio envenenado.....	27
Actividad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de <i>P. capsici</i> por el método de medio envenenado.....	30
Efectividad biológica de extractos de plantas <i>in vivo</i> sobre <i>F. oxysporum</i> , <i>R. solani</i> y <i>P. capsici</i> en el desarrollo del cultivo de chile jalapeño bajo condiciones de ambiente protegido.....	32
Incidencia de la enfermedad.....	32
Severidad.....	33
Índice de clorofila.....	35
Altura de planta.....	36
Diámetro de tallo.....	36

CONCLUSIONES.....	37
LITERATURA CITADA.....	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Características macroscópicas y microscópicas de <i>F. oxysporum</i> . A) Colonia algodonosa color purpura. B) Conidióforos y clamidosporas. C) Macroconidias y microconidios.....	24
Fig. 2. Características macroscópicas y microscópicas de <i>R. solani</i> . A) Colonia marrón. B) Esclerocios marrones. C) Hifas multinucleadas.....	24
Fig. 3. Características macroscópicas y microscópicas de <i>P. capsici</i> . A) Forma crisantemo en PDA. B) Esporangio bipapilado. C) Esporangio unipapilado. D) Liberación de zoosporas. E) Oospora plerótica con anteridio parágino. F) Micelio toruloso.....	25
Fig. 4. Porcentaje de inhibición de polifenoles obtenidos por extractos etanólicos de diferentes fuentes vegetales sobre <i>F. oxysporum</i> por el método de microdilución en placa.....	26
Fig. 5. Porcentaje de inhibición de polifenoles de diferentes fuentes vegetales contra <i>R. solani</i> por el método de medio envenenado.....	28
Fig. 6. Actividad antifúngica de los extractos etanólicos sobre <i>Rhizoctonia solani</i> por el método de medio envenenado. A) <i>A. lechuguilla</i> , B) <i>L. graveolens</i> hoja, C) <i>V. album</i> y D) <i>L. graveolens</i> tallo.....	29
Fig. 7. Testigos; A) Cultivo PDA y B) Testigo químico Vigold.....	29
Fig. 8. Porcentaje de inhibición de polifenoles de diferentes fuentes vegetales contra <i>P. capsici</i> por el método de medio envenenado.....	30

Fig. 9. Actividad antifúngica de los extractos etanólicos sobre <i>P. capsici</i> por el método de medio envenenado. A) <i>L. graveolens</i> tallo, B) <i>L. graveolens</i> hoja, C) <i>V. album</i> y D) <i>A. lechuguilla</i>	31
Fig. 10. Testigos; A) Cultivo PDA y B) Testigo químico Vigold.....	31
Fig. 11. Severidad en follaje y raíz. A) Testigo Absoluto, B) Testigo Inoculado, C) Testigo Químico, D) <i>L. graveolens</i> hoja, E) <i>L. graveolens</i> tallo, F) <i>A. lechuguilla</i> , y G) <i>V. álbum</i>	34

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición de la solución nutritiva utilizada para fertirrigación de las plantas de Chile.....	17
Cuadro 2. Severidad para evaluar marchitez (Ayvar, 1998).....	19
Cuadro 3. Severidad para evaluar pudrición de la raíz. Ayvar (1998) modificada por Higuera (2000).....	19
Cuadro 4. Tratamientos empleados para determinar la efectividad biológica de extractos vegetales contra <i>F. oxysporum</i> , <i>R. solani</i> y <i>P. capsici</i> bajo condiciones de ambiente protegido.	21
Cuadro 5. Acomodo del diseño experimental BCA.....	21

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Grupos de polifenoles detectados en los extractos vegetales mediante la tecnología de cromatografía líquida de alta resolución acoplada a la espectrometría de masas (HPLC-MS).....	22
Tabla 2. Concentración inhibitoria al 50 % (CI ₅₀) de polifenoles obtenidos de diversas fuentes vegetales sobre los patógenos del Chile.....	27
Tabla 3. Severidad en follaje y raíz en la efectividad biológica de extractos de plantas <i>in vivo</i> sobre <i>F. oxysporum</i> , <i>R. solani</i> y <i>P. capsici</i> en el desarrollo de Chile Jalapeño bajo condiciones de ambiente protegido.....	34

Tabla 4. Prueba de medias de Tukey para variables agronómicas.....35

RESUMEN

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS VEGETALES PARA EL CONTROL
DE *FUSARIUM SOLANI*, *RHIZOCTONIA SOLANI* Y *PHYTOPHTHORA CAPSICI* EN
CULTIVO DE CHILE

POR

DIANA COTA UNGSON
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DR. FRANCISCO DANIEL HERNANDEZ CASTILLO-ASESOR

SALTILLO, COAHUILA

JUNIO 2021

En el presente trabajo se obtuvieron polifenoles de extractos etanólicos mediante la técnica de rotaevaporación de las especies vegetales: hoja y tallo de orégano (*Lippia graveolens*), *Agave lechuguilla* y *Viscum album*. Se realizó el análisis cualitativo mediante HPLC masas y se determinó el efecto antifúngico *in vitro* de los extractos sobre tres fitopatógenos que conforman el complejo de la marchitez del chile, por el método de microdilución en placa y medio envenenado, determinando el porcentaje de inhibición y la concentración inhibitoria al 50 % (CI₅₀), y se evaluó *in vivo* sobre la incidencia y severidad, así como su influencia en el crecimiento de las plantas de chile jalapeño, utilizando un diseño estadístico de bloques completos al azar (BCA). El porcentaje más alto de inhibición para *F. oxysporum* se obtuvo con el extracto de *A. lechuguilla* al 96 % a 600 ppm, para *P. capsici* *V. album* con el 100 % a 500 ppm. En cambio, para *R. solani*, todos los extractos inhibieron el crecimiento total a partir de 200 ppm *in vitro*. Los ensayos bajo condiciones de ambiente protegido muestran que la severidad más alta fue del testigo inoculado y el extracto de *V. album* con 100 %, se observó una reducción significativa del 75 % de la severidad en los extractos de *L. graveolens* y *A. lechuguilla*. La menor incidencia se obtuvo con el extracto de *L. graveolens* tallo, protegiendo en 91 % a las plantas de chile inoculadas, seguido por los extractos de *L. graveolens* hoja y *A. lechuguilla*, protegiendo en 83 y 75 % de la enfermedad respectivamente; por lo que son una alternativa para reducir la incidencia y severidad de la marchitez del chile.

Palabras claves: Compuestos fitoquímicos, extractos vegetales, marchitez del chile, polifenoles, zonas áridas, *Capsicum annuum*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici*.

ABSTRAC

BIOLOGICAL ACTIVITY OF VEGETABLE EXTRACTS FOR THE CONTROL OF
FUSARIUM SOLANI, RHIZOCTONIA SOLANI AND PHYTOPHTHORA CAPSICI
IN CULTIVATION OF CHILE

By

DIANA COTA UNGSON
MASTER IN SCIENCE IN AGRICULTURAL PARASITOLOGY

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DR. FRANCISCO DANIEL HERNANDEZ CASTILLO-ASESOR

SALTILLO, COAHUILA

JUNIO 2021

In the present work, polyphenols were obtained from ethanolic extracts by means of the rotary evaporation technique of the plant species: leaf and stem of oregano (*Lippia graveolens*), *Agave lechuguilla* and *Viscum album*. The qualitative analysis was performed by means of HPLC masses and the *in vitro* antifungal effect of the extracts on three phytopathogens that make up the chili wilt complex was determined, by the microdilution method in a plate and poisoned medium, determining the percentage of inhibition and the 50% inhibitory concentration (CI₅₀), and it was evaluated *in vivo* on the incidence and severity, as well as its influence on the growth of jalapeño pepper plants, using a statistical design of complete random blocks (BCA). The highest percentage of inhibition for *F. oxysporum* was obtained with the extract of *A. lechuguilla* at 96% at 600 ppm, for *P. capsici* *V. album* with 100% at 500 ppm. In contrast, for *R. solani*, all extracts inhibited total growth from 200 ppm *in vitro*. The highest severity was of the inoculated control and the extract of *V. album* with 100%, a significant reduction of 75% of the severity was observed in both extracts of *L. graveolens* and *A. lechuguilla*. The lowest incidence was obtained with the extract of *L. graveolens* stem, protecting 91% of the inoculated chili plants, followed by the extracts of *L. graveolens* leaf and *A. lechuguilla*, protecting 83 and 75% of the disease respectively; therefore, they are an alternative to reduce the incidence and severity of chili wilt.

Keywords: Phytochemical compounds, vegetable extracts, chili wilt, polyphenols, arid zones, *Capsicum annuum*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici*.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de chile es uno de los más importantes a nivel mundial y nacional; en el 2020 México produjo 3, 322,955.16 toneladas de chile verde, en una superficie de 159,981.51 hectáreas, de las cuales 157,910.72 ha fueron cosechadas y 2,070.79 ha siniestradas, con un rendimiento promedio de 21.04 t/ha (SIAP, 2020). México enfrenta graves problemas fitosanitarios que limitan su producción a causa de enfermedades como la secadera o marchitez del chile, inducida por un complejo de organismos fitopatógenos del suelo, entre ellos *Phytophthora capsici* Leo (Hernández-Castillo *et al.*, 2014), *Rhizoctonia solani* Kühn y *Fusarium oxysporum* (Vásquez *et al.*, 2009). Esta enfermedad es una de las principales causas de pérdidas de la producción, que van del 26 a 90 %, no solo en México, sino a nivel mundial (Pérez-acevedo, C.E *et al.*, 2017), mientras que en áreas específicas del Bajío y Puebla se han alcanzado porcentajes de hasta el 100 % (Virgen-Calleros *et al.*, 1997; Pérez-Moreno *et al.*, 2003). Dentro de los principales síntomas que causa esta enfermedad se encuentran la muerte prematura de las plantas al ocasionar la obstrucción y desequilibrio del funcionamiento de los haces vasculares, la defoliación, cambios de color, rizado del follaje, daño a estructuras reproductivas, maduración adelantada e irregular, pudrición de la raíz, necrosis del tallo y ocurrencia de rebrotes (Granke *et al.*, 2012, Rivera *et al.*, 2018). Para controlar la incidencia y severidad de estos patógenos, se utilizan agroquímicos altamente tóxicos, provocando un impacto ambiental negativo, pues una vez liberados en el entorno pueden contaminar los ríos, el manto freático, el aire, el suelo y los alimentos (Barranco y Jiménez, 2020), incrementando el índice de residuos de pesticidas en el ser humano y medio ambiente (Guzmán-Plazola, P., *et al.*, 2016). El uso inadecuado de estos productos también ha provocado problemas de resistencia genética en los fitopatógenos hacia los ingredientes activos. Hoy en día, se ha requerido nuevas alternativas de manejo que sean amigables con el ambiente y salud humana, una de ellas es el uso de biofungicidas a partir de extractos y aceites esenciales obtenidos de especies vegetales (Mesa *et al.*, 2019), puesto que se ha evidenciado que las plantas tienen mecanismos estructurales y bioquímicos de defensa, y que una gran variedad de estos últimos compuestos puede tener actividad antagónica sobre hongos (Saravanakumar *et al.*, 2015). Algunas plantas del desierto Chihuahuense evaluadas

in vitro tienen el potencial de producir metabolitos secundarios biológicamente activos contra fitopatógenos (Jasso De Rodríguez *et al.*, 2011; Tucuch-Pérez *et al.*, 2018). La secadera o marchitez del chile puede ser devastadora cuando las condiciones climáticas son favorables para el desarrollo del patógeno. A pesar de que se han intentado diferentes medios de control (químicos y culturales) ninguno ha tenido un completo éxito. Debido a esto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar *in vitro* e *in vivo* la efectividad biológica de diferentes extractos etanólicos de hoja y tallo de *Lippia graveolens*, *Agave lechuguilla* y *Viscum álbum* e identificar los fitoquímicos presentes en ellos, contra el complejo de fitopatógenos *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora capsici* aislados de plantas enfermas de chile jalapeño en el municipio de San Rafael, Nuevo León, México.

OBJETIVOS GENERAL

Evaluar la actividad antifúngica de los extractos de *L. graveolens* hoja, *L. graveolens* tallo, *A. lechuguilla* y *V. álbum* sobre, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora capsici* en el cultivo de chile.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la actividad antifúngica de los extractos *L. graveolens* hoja, *L. graveolens* tallo, *A. lechuguilla* y *V. álbum* sobre, *F. oxysporum*, *R. solani* y *P. capsici* *in vitro*.
- Evaluar la efectividad biológica de los extractos vegetales en el cultivo de chile bajo condiciones de ambiente protegido.
- Identificar los fitoquímicos presentes en los extractos vegetales.

HIPÓTESIS

Los fitoquímicos vegetales mediante su actividad antifúngica disminuirán en un 75% la incidencia y severidad de la marchitez y pudrición de raíz del chile ocasionada por el complejo de hongos.

REVISIÓN DE LITERATURA

Cultivo de Chile

Importancia del cultivo de chile en el mundo y en México.

El cultivo de chile es uno de los más importantes a nivel mundial y nacional; en el 2020 México produjo 3, 322,955.16 toneladas de chile verde, en una superficie de 159,981.51 hectáreas, de las cuales 157,910.72 ha fueron cosechadas y 2,070.79 ha siniestradas, con un rendimiento promedio de 21.04 t/ha (SIAP, 2020). Actualmente se satisface 100% de los requerimientos nacionales con producción interna; así mismo las importaciones mundiales han aumentado un 32.55 % en la última década, lo que ha generado un incremento de exportaciones mexicanas principalmente con destino a Estados Unidos, lo que posiciona a México como líder mundial en la exportación de chiles y pimientos (SIAP 2020).

Clasificación taxonómica del chile

Capsicum annuum fue descrita por Carlos Linneo en 1753 y publicada en *Species Plantarum* vol. 1, p. 188-189 en 1753.

Reino: Plantae

Phylum: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Género: *Capsicum*

Especie: *annuum*

Limitantes de producción de chile

En México, la producción de chile se afecta por diversos factores, entre los que destacan las enfermedades ocasionadas por hongos, bacterias, virus y nematodos (Guigón-López y González-González, 2001). Sin embargo, las enfermedades fungosas han sido la principal

causa de pérdidas económicas (Sneh *et al*, 1996; Krechel *et al*, 2002). Los patógenos de mayor incidencia en Chile son *Phytophthora spp.*, *Fusarium spp.*, *Rhizoctonia solani* y *Pythium spp.* (Silva-Rojas *et al*, 2009), los cuales están asociados al síndrome de la tristeza o marchitez del Chile, enfermedad que puede causar la muerte prematura de las plantas y ocasionar pérdidas en la producción entre 10% y 60%, aunque en el Bajío y Puebla se han reportado pérdidas totales (Pérez-Moreno *et al*, 2003).

Marchitez por *Fusarium oxysporum*

Fusarium es un patógeno facultativo que tiene la capacidad de sobrevivir en materia orgánica y que a su vez ataca a las plantas cuando sufren algún tipo de desbalance (Michielse y Rep 2009), se puede encontrar en cualquier tipo de suelo; desde el ártico, trópico o desierto, lo que presenta su relevancia de distribución ocasionando la marchitez o fusariosis vascular (Sing *et al.*, 2014).

Clasificación de *F. oxysporum*

El género fue descrito por primera vez por Link en 1809 (Leslie *et al.*, 2006).

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

Género: *Fusarium*

Especie: *oxysporum*

La especie es caracterizada según rasgos morfológicos, como forma, color y tamaño de la colonia, caracterización de macro, meso y microconidios, formación de clamidosporas, coloración de las hifas, etc. Actualmente, especies muy relacionadas entre sí morfológicamente han vuelto a ser clasificadas filogenéticamente a través de métodos moleculares más certeros (Leslie *et al.*, 2006).

Sintomatología de *F. oxysporum*

El hongo *Fusarium oxysporum* penetra las raíces de forma asintomática y coloniza los tejidos vasculares, provocando un marchitamiento masivo, necrosis y clorosis de las partes aéreas de la planta. (Ma et al., 2013).

Marchitez por *Rhizoctonia solani*

La capacidad de infección de *Rhizoctonia solani*, (teleomorfa: *Thanatephorus cucumeris*) está determinada por las condiciones de temperatura y humedad (González-Hernández, 2002), y es uno de los hongos fitopatógeno de mayor incidencia en el cultivo del chile (Velásquez y Victoriano, 2007), aunque también puede infectar a un extenso grupo de plantas de diferentes especies de importancia económica (Gour, 2012) en las que produce lesiones oscuras en raíces y semillas, pudrición de tallos y de las partes de la planta que están en contacto con el suelo (González-García, 2008).

Clasificación de *R. solani*

El género *Rhizoctonia* fue establecido por De Candolle, en 1815. En 1853 Kuhn describió la especie *Rhizoctonia solani*.

Reino: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Clase: Agaricomycotina

Orden: Ceratobasidiales

Familia: Ceratobasidiaceae

Género: *Rhizoctonia*

Especie: *solani*

(EPPO, 2020; Mycobank, 2020).

La clasificación de *R. solani* ha sido compleja, por lo que se han propuesto diversos criterios. Algunos de los más utilizados son la determinación de los grupos de anastomosis (GA) al

que pertenecen los aislados, y el grado de interacción entre las hifas. En relación a los grupos de anastomosis *R. solani* se ha clasificado con base en la compatibilidad de la fusión entre hifas. De esta manera, las hifas de aislamientos de GA iguales se fusionan, lo que sugiere la existencia de compatibilidad vegetativa, mientras que las de GA diferentes no presentan interacción (Boidin, 1998; González-García *et al.*, 2006).

Sintomatología de *R. solani*

R. solani causa infección durante la germinación y emergencia de las plántulas, causando amarillamiento del hipocótilo, comenzando con áreas pequeñas de forma variable y hundidas de color marrón rojizo. También ocasiona lesiones hundidas de color rojizo en las raíces centrales de las plantas más viejas y en el tallo inferior. Las plantas son más susceptibles a la infección en la etapa de plántula, sin embargo, en las plantas mayores de cuatro semanas generalmente tienen poco efecto sobre la cosecha. Las infecciones graves pueden ralentizar el crecimiento y desarrollo de las plantas y eventualmente provocar la muerte de las plantas (Stockwell y Hanchey 1984; Abawi 1989; Carisse *et al.*, 2001)

Marchitez de *Phytophthora capsici*

El género *Phytophthora* (del griego *Phyton*: planta; *phthora*: destructor) fue creado por de Bary en 1876 con *P. infestans* de Bary como especie tipo. Este investigador reconoció a dicho patógeno como causante del tizón tardío de la papa, en Europa (1840), que provocó la gran hambruna de Irlanda entre 1845 y 1849 originando la masiva emigración de irlandeses a Estados Unidos. La podredumbre del cuello y la subsiguiente marchitez brusca son los síntomas más característicos (Mendoza 1999).

Clasificación de *P. capsici*

Reino: Chromista

Phylum: Oomycota

Clase: Oomycetes

Orden: Peronosporales

Familia: Peronosporaceae

Género: *Phytophthora*

Especie: *capsici*

P. capsici presenta micelio liso o con hinchamientos en medios pobres y apariencia finamente radiada; los esporangioforos son simples o con ramificación irregular, gruesos, robustos con esporangios de formas variables con una o dos papilas conspicuas; los oogonios son esféricos, Oospora esférica aplerótica de color amarilla a castaño; anteridio afigeno, subclaviforme y diclino (Messiaen, *et al.*, 1995).

Sintomatología de *P. capsici*

La marchitez del chile es causada por el patógeno *P. capsici*, afecta a toda la planta y ocasiona pérdidas significativas del cultivo, pese a que otras especies de *Phytophthora* y *Pythium* pueden, en ocasiones, infectar chiles y producir síntomas similares, el Oomyceto puede sobrevivir en el suelo por varios años afectando una amplia gama de plantas (Zitter, 1989).

Medidas de Control de Enfermedades en el Cultivo del Chile**Control químico**

El principal control de estos fitopatógenos se realiza con la aplicación de agroquímicos, entre ellos, etridiazol, fosetilaluminio, metalaxyl, azoxystrobin y propamocarb clorhidrato (Pérez-Moreno *et al.*, 2004). Recientemente se han desarrollado nuevas clases de plaguicidas con nuevos mecanismos de acción, como los fenilpirroles, anilino pirimidinas, fenoxiquinolinas, las estrobirulinas o los neonicotinoides e inhibidores de la síntesis de quitina (Rubio, y Fereres, 2005)

Control biológico

El control de las enfermedades y plagas de las plantas por métodos químicos continúa siendo imprescindible para mantener una agricultura económicamente rentable y rendimientos altos de cosecha, para atender estas limitantes surge como alternativa el control biológico, con la finalidad de mejorar la productividad incrementado la disponibilidad de nutrientes y así mismo la protección a fitopatógenos (Sherathia *et al.*, 2016). Los productos biológicos pueden influenciar en forma directa o indirecta sobre el crecimiento de la planta al ejercer

control sobre los fitopatógenos (Bashan et al. 2013), dentro de estos productos se encuentra *Bacillus*, es un género bacteriano que tiene la habilidad para formar endosporas y su capacidad de producir metabolitos antimicrobianos y antifúngicos (fenazinas, 2,4-diacetilfloroglucinol, lipopéptidos cíclicos) (Villareal-Delgado *et al.*, 2017). Entre otros microorganismos destaca el género *Trichoderma*, es un hongo anaeróbico habitante natural del suelo, caracterizado por un comportamiento saprófito o parásito, diferentes especies de *Trichoderma* ejercen mecanismos de control mediante: competencia directa (por espacio y nutrientes), producción de metabolitos antibióticos, la inactivación de enzimas del agente patógeno, modificación de las condiciones ambientales, producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal y por micoparasitismo.

Extractos vegetales como fungicidas

Actualmente las industrias agroalimentarias se encargan de buscar y utilizar otras alternativas que sean menos dañinas para el ambiente y la salud humana; una de ellas es el uso de extractos vegetales como control biológico. Las plantas han desarrollado mecanismos de defensa contra insectos, hongos, bacterias y otros organismos nocivos y los metabolitos secundarios producidos por ellas constituyen una de esas barreras. Los compuestos que más destacan son los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos (Cowan, 1999). Entre estas plantas se encuentra *L. graveolens* con compuestos como aceites esenciales timol, carvacol y p-cimeno, cumarinas, flavonoides, glicosidos cianogénicos, saponinas, taninos y quinonas (Silva *et al.*, 2008; Tucuch-Pérez *et al.*, 2018) y *A. lechuguilla* que contiene sales minerales, saponinas, oxalatos de calcio, cumarinas, azúcares reductores, triterpenoides, derivados catecoles, fenoles, antraquinonas, benzoquinonas y purinas (Hernández-Soto y Díaz-Jiménez, 2008; Tucuch-Pérez *et al.*, 2018).

Lippia graveolens

Lippia graveolens Kunth, es un arbusto aromático conocido como orégano mexicano que pertenece a la familia Verbenaceae que se distribuye en climas áridos y semiáridos desde el sur de Texas hasta Costa Rica (Llamas *et al.*, 2019).

Clasificación de *L. graveolens*

Fue descrita por Kunth en 1818 en el tomo segundo de la monumental obra *Nova Genera et Species Plantarum de Bonpland & Humboldt*.

Reino: Plantae

Phylum: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Lamiales

Familia: Verbenaceae

Género: *Lippia*

Especie: *graveolens*

Hábitat y distribución en México

En México *L. graveolens* se ha localizado en zonas tropicales, templadas y áridas, se establece a lo largo del litoral del Golfo, la vertiente del Pacífico, en la península de Yucatán, en las depresiones y valles interiores (Balsas, Tehuacán, depresión de Chiapas, istmo de Tehuantepec), en las zonas áridas tamaulipeca e Hidalguense y en el desierto chihuahuense. (SEMARNAT 2001).

Descripción botánica

Las plantas es un arbusto de 0.4 a 2.5 m. de altura, es aromático, con tallos cuadrangulares o subcilíndricos. Hojas oblongas a elípticas, u ovaladas de 2-4 cm de largo, generalmente obtusas o redondeadas en el ápice, redondeadas o subcordadas en la base; densamente pilosas en el haz, y en el envés densamente tomentosas y glandulares con márgenes finamente crenados. Las flores de *L. graveolens* son pequeñas de 4 mm, sésiles y zigomorfas; con cáliz gamosépalo de cuatro lóbulos; corola gamopétala con cinco lóbulos desiguales de color crema. Las inflorescencias son espigas capitadas indeterminadas, axilares, generalmente en grupos de cuatro, lo que puede favorecer la atracción de polinizadores (Ocampo-Velázquez *et al.*, 2009).

Agave lechuguilla

Clasificación taxonómica

La lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr., 1859) es una especie de planta suculenta perteneciente a la familia de las agaváceas.

Clasificación de *A. lechuguilla*

Agave lechuguilla fue descrita por John Torrey y publicada en *Reporto on the United States and Mexican Boundary* en 1859.

Reino: Plantae

Phylum: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Asparagales

Familia: Asparagaceae

Género: *Agave*

Especie: *lechuguilla*

Hábitat y distribución en México

A. lechuguilla es nativa de las zonas áridas y semiáridas de México y Sur de Estados Unidos, se encuentra principalmente en los desiertos de Chihuahua y Sonora, casi siempre sobre piedra caliza. Comprende los estados de Coahuila, Chihuahua, Nuevo León, Durango, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas (Castillo *et al.*, 2011).

Descripción botánica

hierba en forma de roseta de hojas suculentas que pueden medir de 50 a 70 cm de altura y 60 cm de ancho. Las hojas son perennifolias con crasas con espinas, florecen una vez durante su vida, antes de morir. Florece solo una vez, son de color amarillo con tinte rojizo y se encuentra en una inflorescencia que alcanza los 4 m de altura (CONABIO 2009).

Viscum album

El muérdago blanco (*V. album*) o también conocido como muérdago europeo, es una planta semiparásita originaria de Europa y Asia occidental que parasita diferentes especies de árboles.

Clasificación de *V. album*

V. album fue descrita por Carlos Linneo y publicado en Species Plantarum en el año 1753.

Reino: Plantae

Phylum: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Santalales

Familia: Santalaceae

Género: *Viscum*

Especie: *album*

Hábitat y distribución en México

Es nativa de Europa y del Asia occidental y meridional, también de América.

Descripción botánica

Esta planta suele crecer sobre las ramas de diversos árboles, principalmente especies de hoja caduca, como manzanos o álamos, pero también sobre algunas variedades de pinos. Sus tallos dicotómicos pueden llegar a medir hasta un metro, se dividen desde la base en varios ramos, desparramados, ahorquillados, cilíndricos y divididos por nudos. Las hojas, de color amarillo verdoso y entre 2 a 8 cm de largo por 0,80 a 2,5 cm de ancho, se disponen en pares opuestos, son lanceoladas, enteras y de textura correa. Las diminutas flores (2-3 mm de diámetro) son dioicas y también de color amarillo verdoso. El fruto es una baya pequeña, verde cuando está inmadura y después translúcida, de color blanco o amarillo. El mesocarpio contiene una pulpa viscosa con 1 (raramente varias) semillas que madura a finales de otoño. No es una baya comestible.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Obtención de material vegetal para elaboración de extractos

La colecta de *A. lechuguilla* y *L. graveolens*, se realizó en el municipio de General Cepeda, Coahuila, México, durante el verano 2019. Las muestras se colocaron en bolsas plásticas y se trasladaron al Laboratorio de Micología y Biotecnología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; la especie *V. album* se colectó en el municipio de Orizaba en el estado de Veracruz, México.

Tratamiento del material vegetal

Las plantas se lavaron con agua corriente y se colocaron en papel secante a temperatura ambiente; una vez secas se realizó la separación manual de las partes en: tallo, flores y raíz, según el caso específico y se colocaron en la estufa de secado a 60 °C hasta presentar peso constante. Posteriormente cada planta fue pulverizada y tamizada con poro de 0.2 mm para homogenizar las partículas, una vez listas se almacenaron en frascos oscuros a temperatura ambiente (Castillo *et al.*, 2010).

Preparación de los extractos vegetales

Los extractos vegetales se prepararon siguiendo la metodología propuesta por Shami *et al.* (2010), utilizando como solvente etanol; agregando 14 g de la planta ya pulverizada en 200 mL del solvente, y se mantuvo en agitación durante 72 h a 50 °C (Jasso de Rodríguez *et al.*, 2015).

Posteriormente el extracto obtenido se filtró con papel filtro Whatman No. 1 para separar la biomasa del extracto; finalmente se roto evaporó a 150 RPM a 70 °C, y se liofilizo, para finalmente almacenarse a -20 °C.

Caracterización de fitoquímicos presentes en los extractos vegetales mediante Cromatografía de líquidos de fase inversa (HPLC masas)

El análisis por cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa se realizó siguiendo la metodología de Ascacio *et al.* (2016), que consiste en utilizar un sistema de HPLC Varian que incluye un inyector automático (Varian ProStar 410, EE.UU.), una bomba ternaria

(Varian ProStar 2310, EE.UU.) y un decantador PDA (Varian ProStar 330, EE.UU.). También se utilizó un espectrómetro de masas con trampa de iones de cromatógrafo de líquidos (Varian 500 – MS IT Mass Spectrometer, EE.UU.) equipado con una fuente de iones por electropulverización. Se inyectaron muestras (5 µL) en una columna Denali C18 (150 mm x 2.1 mm, 3 µm, Grace, EE.UU.). La temperatura del horno se mantuvo a 30 °C. Los eluyentes fueron ácido fórmico (0.2 %, V/V; disolvente A) y acetotrilo (disolvente B). Se aplicó el siguiente gradiente: inicial, 3 % B; 0 – 5 min, 9 % B lineal; 5 – 15 min, 16 % B lineal; 15 – 45 min, 50 % B lineal. Después la columna se lavó y se reacondicionó, el caudal se mantuvo a 0.2 ml/min y la elución se controló a 245, 280, 320 y 550 nm. Se inyectó todo el efluente (0.2 ml/min) en la fuente del espectrómetro de masas, sin dividir. Todos los experimentos de EM se llevaron a cabo en modo negativo $[M-H]^{-1}$. Se utilizó nitrógeno como gas nebulizador y helio como gas amortiguador. Los parámetros de la fuente de iones fueron: voltaje de pulverización 5.0 kV y voltaje capilar y temperatura fueron 90.0 V y 350 °C, respectivamente. Los datos se recopilaron y procesaron utilizando el Software MS Workstation (V 6.9). Las muestras se analizaron en primer lugar en modo de barrido completo adquiridas en el rango m/z 50 – 2000.

Obtención e identificación de las cepas de hongos y algas fitopatógenas

Obtención de las cepas de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*

Las muestras de suelo y plantas de chile marchitas con pudrición radicular se colectaron en el estado de Nuevo León, México, para aislar los patógenos bajo estudio. Para el aislamiento de los hongos se sembraron porciones vegetales de 0.5 mm con síntomas, los cuales se desinfectaron por 2 min. en hipoclorito de sodio al 1 %, se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y se colocaron en papel secante estéril, posteriormente, se sembraron cinco trozos en cajas Petri con medio de cultivo PDA. Todas las siembras se incubaron a 25 °C durante tres días; se obtuvieron aislamientos monospóricos para *F. oxysporum* y por punta de hifa para *R. solani*, finalmente se realizó la identificación de los patógenos a nivel de género y especie, empleando las claves de Leslie y Sumemerell (2006) para *Fusarium oxysporum* y Sneh et al. (1991) para *Rhizoctonia solani*.

Obtención de la cepa de *Phytophthora capsici*

Se utilizó la técnica trampa-cebo, utilizando calabazas limpias y desinfectadas. Se cortaron “cilindros” de calabaza con la ayuda de un sacabocados previamente estéril de 5 mm de diámetro, y en el hueco se introdujo una mezcla de suelo obtenida de plantas enfermas de Chile, enseguida se tapó con el trozo de calabaza extraído, para conservar la humedad y evitar otros microorganismos ajenos al suelo. Posteriormente se incubó entre 4 y 7 días a 22 y 25 °C. A partir del tercer día de incubación, las calabazas se observaron diariamente hasta que presentó podredumbre en la piel de color marrón oscuro y consistencia dura. Finalmente se cortaron trozos de la calabaza del borde de la lesión y se sembraron en medio de cultivo PDA, incubando los medios de cultivo en las condiciones ya descritas, la identificación a nivel de género y especie se realizó utilizando las claves taxonómicas descritas por Wantanabe, (2002).

Actividad Antifúngica de los Extractos de Plantas *in vitro*

Actividad antifúngica de los extractos vegetales sobre *F. oxysporum* por el método de microdilución en placa

Los bioensayos se evaluaron mediante la técnica de microdilución en placa descrita por Tucuch *et al.*, (2020), utilizando placas de poli estireno de 96 pozos. Los extractos evaluados fueron *L. graveolens* hoja y tallo, *A. lechuguilla* y *V. álbum*, utilizando la primera columna como control negativo y la segunda como control positivo. Se colocaron 100 µL de medio líquido sabouraud en todos los pozos de la placa. Los tratamientos se prepararon a una concentración de 2000 mg/L utilizando etanol como solvente. Para obtener las concentraciones a evaluar se colocaron 100 µL de los extractos preparados en la columna cuatro, mezclando y recuperando nuevamente 100 µL para transferirlos a la siguiente columna, realizando diluciones seriadas al 50 %, teniendo como resultado concentraciones de 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.2, 15.6, 7.8 y 3.9 mg/L; posteriormente se descartó los 100 µL sobrantes, el siguiente paso fue agregar 40 µL de 2,3,5- cloruro de trifeniltetrazolio como revelador de crecimiento a todos los pozos; finalmente a partir de la columna dos a todos los pozos se agregó una suspensión de esporas de *F. oxysporum* a una concentración de 1×10^8 .

Cada placa se consideró una repetición, y se realizaron tres repeticiones por tratamiento; se incubaron a 28 °C por 48 h y finalmente se realizó una lectura en el espectrofotómetro a una absorbancia a de 490 nm. El porcentaje de inhibición se calculó adaptando la fórmula propuesta por Moreno-Limón *et al.* (2011), considerando que el porcentaje de inhibición es el inverso del porcentaje de crecimiento.

$$\% \text{ de crecimiento} = (A-B/C) (100)$$

$$\% \text{ de Inhibición} = 100 - \% \text{ de crecimiento}$$

A=Absorbancia tratamiento

B=Absorbancia testigo negativo

C=Absorbancia testigo positivo

Actividad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de *R. solani* y *P. capsici* por el método de medio envenenado

Se determinó la actividad antifúngica por el método de medio envenenado propuesto por Jasso de Rodríguez *et al.* (2011); utilizando concentraciones de 50, 100, 200, 300, 400, 500 y 600 ppm. Se utilizaron cuatro repeticiones por tratamiento. Previamente se determinó y cuantificó el volumen de cada extracto y de acuerdo con la concentración final se agregó a un matraz el volumen de agua y PDA requerido, posteriormente se esterilizó a 120 °C por 15 min. Posteriormente se colocaron discos de 0.4 mm de diámetro con micelio activo de *R. solani* y *P. capsici* de 7 días de crecimiento al centro de la caja Petri de 4.5 cm, con el medio envenenado; finalmente se incubaron a 28 ± 2 °C y se evaluaron diariamente midiéndose el crecimiento radial del patógeno, la evaluación concluyó cuando el micelio del patógeno cubrió totalmente la placa del tratamiento Testigo. Se determinó el porcentaje de inhibición mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de Inhibición} = (DC-DT/DC) * 100$$

Donde DC es el diámetro del tratamiento control, y DT es el diámetro de las diferentes concentraciones.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis Probit para determinar la concentración inhibitoria al 50 % de cada extracto; posteriormente con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza con las concentraciones inhibitorias utilizando pruebas de Tukey ($p < 0.05$).

Efectividad biológica de extractos de plantas *in vivo* bajo condiciones de ambiente protegido.

Establecimiento del experimento bajo condiciones de ambiente protegido

Se estableció el experimento *in vivo* bajo ambiente protegido (malla sombra) en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en las coordenadas 25°21'18"N 101°02'14"W, a 1752 m.s.n.m. iniciando el día 23 de septiembre de 2020 y concluyendo el 10 de noviembre del mismo año.

Material vegetativo

Se utilizaron semillas de chile jalapeño (chile cuaresmeño) de la marca comercial Hortaflore, Rancho Los Molinos, sin ningún tratamiento, las cuales se germinaron en charolas de unicel de 200 pocillos, 40 días antes del trasplante, basado en las especificaciones del proveedor, utilizando como sustrato de los semilleros turba de *Sphagnum* spp. (Peat moss).

Sustrato

Se preparó el sustrato utilizando una mezcla de 55% tierra, 25% peat moss, 15% fibra de coco y 5% perlita, formando un total de ocho litros, el cual se pausterizó tres veces en autoclave a 80° C por 20 min. Se utilizaron macetas de bolsa de polietileno negro de 600 galgas de 20x20x20 cm.

Aplicación de los tratamientos

Se aplicaron los tratamientos utilizando bombas aspersores de 1.5 litros, se realizaron tres aplicaciones en forma de “drench” durante tres segundos por planta. La primera aplicación se realizó de manera directa en sitio del trasplante donde se colocó la plántula, la segunda y tercera aplicación, se realizó a la base del tallo utilizando el mismo método de aspersión, a los 20 y 40 días después del trasplante.

Riego y fertilización

Los nutrientes se aplicaron por medio de fertirrigación, utilizando un sistema de goteo, el riego se efectuó cada tres días, antes y después del trasplante, hasta el final del experimento. Para esto se preparó una solución nutritiva Steiner, la cual estaba compuesta por los elementos que se muestran en el cuadro.

Cuadro 1. Composición de la solución nutritiva utilizada para fertirrigación de las plantas de Chile.

Elemento	Cantidad/1100 L de agua
Nitrato de Potasio	481.52 g
Nitrato de Calcio	260.97 g
Sulfato de Potasio	102.57 g
Nitrato de Magnesio	40.7 g
Micro elementos quelatados ULTRASOL®	73.42 g
Ácido Nítrico	210.92 mL
Ácido Fosfórico	55.55 g mL

Control de plagas y enfermedades

Se determinó la presencia de plagas realizando monitoreo diario al total de las plantas en el experimento una vez establecido, se observó la presencia de minador de la hoja (*Liriomyza trifolii*), pulga saltona (*Epitrix cucumeris*) y mosquita blanca (*Bemisia tabaci*), para el control de estas plagas se aplicaron dos productos controladores, Pestil Out® como bioinsecticida repelente a base de productos orgánicos y el insecticida organofosforado Diazinon.

Preparación y cuantificación del inóculo.

Los aislamientos de *F. oxysporum*, *R. solani* y *P. capsici* se cultivaron en PDA (patata-dextrosa-agar), y PDB (caldo patata- dextrosa), para su incremento masivo. Después de 15 días de crecimiento, se elaboró el inóculo de cada uno de las cepas, tal y como se indica a continuación. *Fusarium oxysporum*. El hongo se sembró en cinco cajas Petri con medio PDA, al cual se le agregaron trocitos de raíz y tallo de plántulas de Chile esterilizado en autoclave por 15 min a una temperatura de 121°C, para prevenir una posible pérdida de virulencia del patógeno. Cuando el micelio del hongo cubrió la superficie total de las cajas, se le agregaron 20 mL de agua destilada estéril; después, con un portaobjeto se raspó el micelio y se agitó la caja Petri para separar los conidios; la suspensión resultante se pasó a través de una manta de

cielo para retener el micelio y permitir que sólo pasaran los conidios; el filtrado se colectó y con la ayuda de un hemacitómetro se preparó una suspensión de conidios de *F. oxysporum* a una concentración de $5 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ (Rowe, 1980). *Rhizoctonia solani*. Se colocaron 250 cm^3 de granos de trigo sano más 150 mL de agua destilada en un matraz de 500 mL, y se dejó reposar por 24 h. Posteriormente, la mezcla se esterilizó en autoclave por 2 h (en dos períodos de 1 h, con un tiempo de reposo de 3 h entre ambos períodos de esterilización). Finalmente, el grano se inoculó con el aislamiento de *R. solani* y en seguida se incubó durante tres semanas a temperatura ambiente $23 \pm 2^\circ\text{C}$ (Sneh *et al.*, 1991). *Phytophthora capsici*. Para conseguir grandes cantidades de zoosporas de *P. capsici* se utilizaron matraces Erlenmeyer de 250 ml que contenían 150 ml de medio PDB. Estos se esterilizaron previamente en autoclave a 121°C durante 20 minutos y ya fríos, se les añadió un disco por matraz de 5 mm de diámetro del omiceto, cubriéndose con papel de aluminio para evitar la exposición a la luz. Durante 15 días se mantuvieron a temperatura ambiente en agitación permanente en un agitador orbital a 120 rpm al cabo de los cuales se separó el micelio del cultivo, se lavó tres veces con agua destilada estéril y se volvió a introducir en agua destilada estéril. Se mantuvo en agitación por un periodo de 5 a 6 días, tiempo en el cual se generan y liberan las zoosporas (Ezziyani, M. *et al.* 2004). Posteriormente, con la ayuda de un hemacitómetro la concentración se ajustó a 20^3 zoosporas por mililitro. A cada planta de chile jalapeño se le colocó 5 mL de la suspensión de zoosporas, quedando una suspensión final de 1×10^4 con el objetivo de crear más humedad para el desarrollo del patógeno.

Inoculación y trasplante

Al cumplir los 30 días de edad, las plántulas fueron inoculadas con la mezcla de los tres fitopatógenos antes del trasplante (15 plántulas por tratamiento). Para esto, se les realizó un corte transversal de la parte apical de las raíces y posteriormente se colocaron por un minuto en una suspensión de esporas de *F. oxysporum* a una concentración de 5×10^6 , enseguida las plantas se colocaron en las macetas con 2 % de grano infectado con *R. solani* (v:v; grano: suelo) y 5 mL de una suspensión de *P. capsici* a una concentración de 1×10^4 en el sitio de trasplante donde se colocó la plántula. Las plantas se mantuvieron durante 50 días en mallasombra a una temperatura de $26 + 10^\circ\text{C}$. El riego de las plantas se mantuvo constante (cada 3 días) para todos los tratamientos.

VARIABLES EVALUADAS

Las variables evaluadas durante el experimento fueron las siguientes: incidencia de la enfermedad a los 50 días después de la inoculación, la cual se consideró como el número de plantas muertas o con síntomas de la enfermedad con respecto al número total de plantas por repetición, severidad de la enfermedad, tanto en follaje como en raíz de las plantas se evaluaron con las escalas de 0 a 4 (Cuadro 2 y 3), clorofila en hojas, altura de planta y diámetro de tallo.

SEVERIDAD EN FOLLAJE

Cuadro 2. Severidad para evaluar marchitez (Ayvar, 1998)

Incidencia	Porcentaje de plantas afectadas.
Severidad	0 = Plantas sin infección y sin síntomas en el follaje. 1= Plantas con 25 % de infección y síntomas en el follaje. 2= Plantas con 50 % de infección y síntomas en el follaje. 3= Plantas con 75 % de infección y síntomas en el follaje. 4 = planta con infección muy severa donde la planta estaba marchita o muerta.

SEVERIDAD EN RAÍZ

Cuadro 3. Severidad para evaluar pudrición de la raíz. Ayvar (1998) modificada por Higuera (2000).

Incidencia	Porcentaje de plantas afectadas.
Severidad	0: Sin síntomas visibles de coloración. 1: De 1 al 10 % de la raíz principal con decoloración. 2: De 11 al 15 % de la raíz principal con decoloración. 3: De 16 al 50 % de la raíz principal con decoloración. 4: Raíz con el sistema vascular completamente oscuro y con 50 al 75 % de daño.

Altura de planta (cm)

Se midió cada 15 días usando una cinta métrica de 2 m de alcance, para la medición se tomó en cuenta desde la superficie del sustrato hasta el punto de abscisión de la última hoja emergida.

Longitud de raíz (cm)

La longitud de raíz se midió al final del ensayo; para esto las raíces se lavaron con agua para quitar el exceso de tierra, posteriormente se utilizó una cinta métrica de 2 m de alcance, se midió desde el cuello del tallo donde empieza la raíz, hasta el otro extremo de las raíces.

Diámetro de tallo (mm)

Esta variable se midió utilizando un vernier digital cada 15 días, se tomó el tallo a un centímetro del sustrato y se procedió a ajustar el vernier al tallo y se tomó la lectura.

Clorofila en hojas (unidades spad)

Para medir la cantidad de clorofila en hojas se utilizó un medidor de clorofila SPAD 502 marca Minolta, para esto se seleccionó una hoja de la parte inferior y se procedió a tomar la medida de la clorofila.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño estadístico de bloques completos al azar (BCA), el cual constaba de siete tratamientos cuatro bloques y 3 repeticiones por bloque como se muestra en el Cuadro 4, donde cada planta representaba una unidad experimental, el diseño se orientó de sur a norte, teniendo como factor de bloqueo la radiación solar de oriente a poniente. Los datos obtenidos se analizaron utilizando el software estadístico InfoStat 7.0, realizando prueba de hipótesis, análisis de varianza (ANOVA) y prueba de comparación de medias de Tuckey ($\alpha=0.05$).

Cuadro 4. Tratamientos empleados para determinar la efectividad biológica de extractos vegetales contra *F. oxysporum*, *R. solani* y *P. capsici* bajo condiciones de ambiente protegido.

Simbología	Tratamientos	Concentración
TA	Testigo	-
TB	Inoculado	*
TC	Químico Benomilo y Fluoxastrobin	+2.0 L/Ha ⁺⁺
TD	<i>L. graveolens</i> hoja	2,000 mg/L
TE	<i>L. graveolens</i> tallo	2,380 mg/L
TF	<i>A. lechuguilla</i>	1,329 mg/L
TG	<i>V. album</i>	2,860 mg/L

-Sin tratamiento, *Solo inóculo, +Benomil, ++Fluxastrobin

Cuadro 5. Acomodo del diseño experimental BCA.

Bloques			
I	II	III	IV
TA1	TG1	TC1	TB1
TA2	TG2	TC2	TB2
TA3	TG3	TC3	TB3
TB1	TF1	TA1	TC1
TB2	TF2	TA2	TC2
TB3	TF3	TA3	TC3
TC1	TE1	TD1	TA1
TC2	TE2	TD2	TA2
TC3	TE3	TD3	TA3
TD1	TC1	TB1	TE1
TD2	TC2	TB2	TE2
TD3	TC3	TB3	TE3
TE1	TD1	TF1	TG1
TE2	TD2	TF2	TG2
TE3	TD3	TF3	TG3
TF1	TB1	TG1	TD1
TF2	TB2	TG2	TD2
TF3	TB3	TG3	TD3
TG1	TA1	TE1	TF1
TG2	TA2	TE2	TF2
TG3	TA3	TE3	TF3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características de fitoquímicos presentes en los extractos vegetales, caracterizados mediante Cromatografía de líquidos de fase inversa (HPLC).

Dentro de los resultados obtenidos por HPLC se observó la presencia de compuestos de la familia de Catequinas, Flavonas, Ácido hidroxicinámico, Estilbeno, Flavonoles, Dihidroflavonoles y Flavononas (Tabla 1).

Tabla 1. Grupos de polifenoles detectados en los extractos vegetales mediante la tecnología de cromatografía líquida de alta resolución acoplada a la espectrometría de masas (HPLC-MS).

EXTRACTO ETANÓLICO	MASA	TIEMPO DE RETENCIÓN N	COMPUESTO	FAMILIA
<i>Lippia graveolens</i> (hoja)	32.276	451.4	(+)-Catequina 3-O-glucosa	Catequina
	48.707	271	Arbutina	Otros polifenoles
	49.657	271	Arbutina	Otros polifenoles
	56.85	255.1	Pinocembrín	Flavonas
<i>Lippia graveolens</i> (tallo)	4.19	341.1	Ácido cafeico 4-O-glucósido	Ácido hidroxicinámico
	21.173	389.1	Resveratrol 5-O-glucósido	Estilbeno
	31.843	755.2	Kaempferol 3-O-glucosilramnosil-glucósido	Flavonoles
	34.28	303	Dihidroquercetina	Dihidroflavonoles
	57.014	255	Pinocembrina	Flavononas
<i>Agave lechuguilla</i>	4.19	341.1	Ácido cafeico 4-O-glucósido	Ácidos hidroxicinámico
	32.12	451.4	(+)-Catequina 3-O-glucosa	Catequina
	44.212	1093.3	Desconocido	
<i>Viscum album</i>	31.269	451.4	(+)-Catequina 3-O-glucosa	Catequina

Estudios recientes mediante ensayos cromatográficos de orégano mexicano identificaron 62 compuestos, siendo cuantificados como: taxifolina, apigenina 7-O-glucósido, florizina, eriodictyol, quercetina, naringenina, hispidulina, pinocembrina, galangina y genkwanina, y en el análisis fitoquímico indicaron la presencia de flavonoides, triterpenos, saponinas, quinonas y taninos (Cortés-Chitala *et al.* 2021). Estos resultados coinciden con algunos compuestos reportados en este trabajo, con *L. graveolens* hoja y tallo: obteniendo catequinas,

flavonas, ácidos hidroxicinámicos, stilbenos, flavonoles, dihidroflavonoles y flavonoides (Tabla 1).

Tucuch *et al.* (2020), identificaron los metabolitos secundarios de las hojas y tallos de *L. graveolens* por separado, obteniendo carbohidratos, flavonoides, azúcares reductores, saponinas, taninos, quinonas, y en los tallos obtuvieron los mismos compuestos que en las hojas a excepción de purinas.

Los resultados de *A. lechuguilla* coinciden con los de Morreeuw, Z. P *et al.* (2021), donde confirmaron la concentración de catequinas por el análisis de HPLC-UV-MS y concluyen que los perfiles transcriptómicos y bioquímicos coinciden en el potencial de los subproductos de lechuguilla con una amplia gama de aplicaciones en la agricultura.

Caracterización morfológica

Identificación de *Fusarium oxysporum*

Se observó el crecimiento de colonias de apariencia algodonosa y de color blanquecino (Figura 1), que se tornaron de color púrpura en el centro del mismo. En el medio agar-hojas de clavel se obtuvo producción abundante de conidióforos ramificados en esporodoquios, y clamidosporas. La longitud de las macroconidias fue de 26.11 μm de longitud y su grosor de 4.63 μm , de paredes delgadas y tres septos; con una célula apical cónica y curva. En el caso de los microconidios se observaron de forma oval de 6.38 μm de longitud y 3.16 μm de grosor sin septos, formados sobre monofiálides cortas. Las características anteriormente observadas corresponden a las descritas por Leslie y Summerell (2006) para *F. oxysporum*.

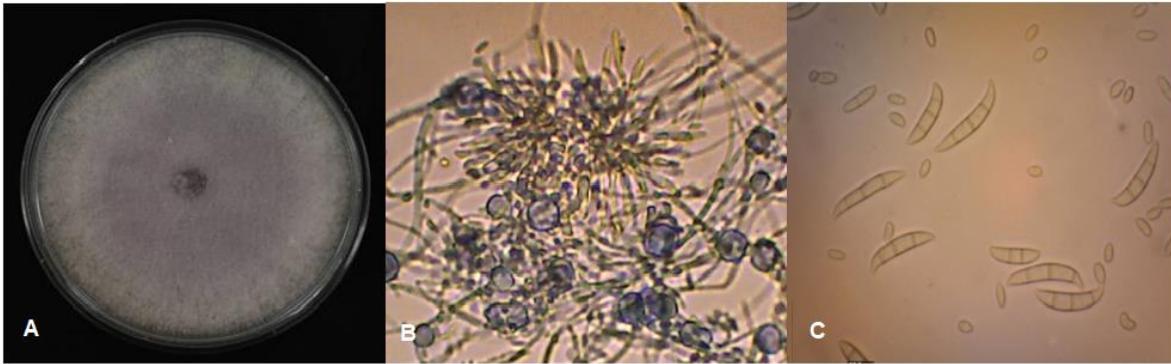


Fig. 1. Características macroscópicas y microscópicas de *F. oxysporum*. **A)** Colonia algodonosa color púrpura. **B)** Conidióforos y clamidosporas. **C)** Macroconidias y microconidios.

Identificación de *Rhizoctonia solani*

Macroscópicamente se observaron colonias de color marrón algodonoso y microscópicamente se observaron hifas multinucleadas de color marrón pálido de 5-8 μm de ancho, ramificadas casi en ángulo recto. Esclerocios de color marrón a marrón oscuro de formas variables de 1-3 mm de diámetro, las características observadas corresponden a las señaladas por Sneh *et al.*, (1991) y Wantanabe, (2002) para *R. solani* (Figura 2).

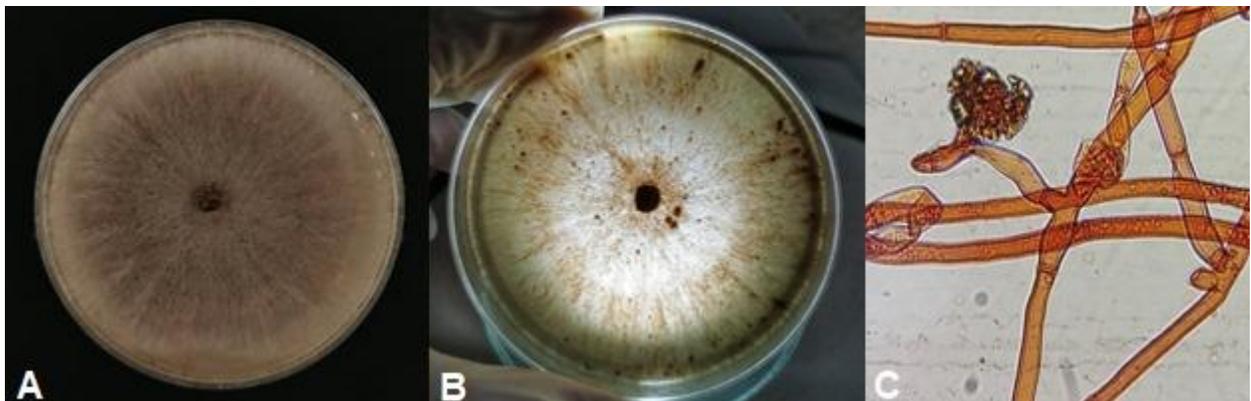


Fig. 2. Características macroscópicas y microscópicas de *R. solani*. **A)** Colonia marrón. **B)** Esclerocios marrones. **C)** Hifas multinucleadas

Identificación de *Phytophthora capsici*

Las características macroscópicas de *Phytophthora* mostraron crecimiento micelial blanco algodonoso en el medio de cultivo PDA, en forma de crisantemo. Microscópicamente se observaron esporangios largos de forma elipsoidales, triangulares e irregulares de 20-30 μm de ancho y 30-50 μm de largo, bipapilado y unipapilado, papila de 6.2 a 7.7 μm de ancho y 2.8 μm de profundidad. Oospora plerótica con anteridio anfígeno y micelio toruloso. Las características morfológicas observadas concuerdan con las descritas por Wantanabe (2002) para *P. capsici* (figura 3).

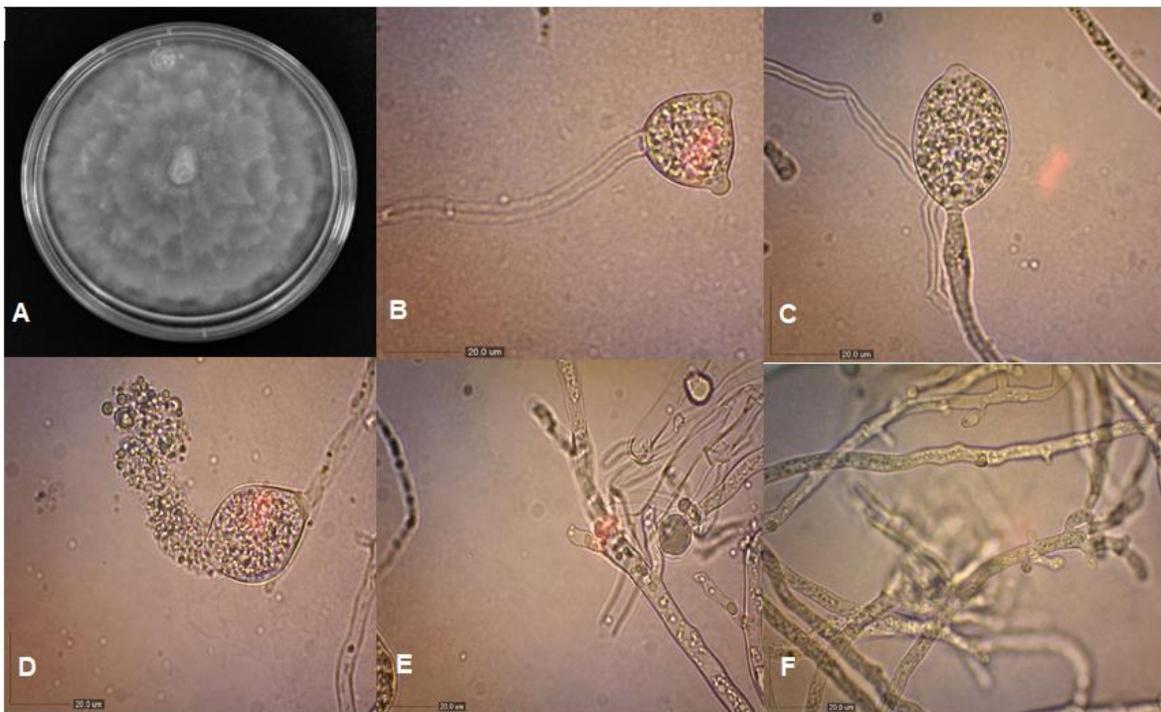


Fig. 3. Características macroscópicas y microscópicas de *P. capsici*. A) Forma crisantemo en PDA. B) Esporangio bipapilado. C) Esporangio unipapilado. D) Liberación de zoosporas. E) Oospora plerótica con anteridio parágino. F) Micelio toruloso.

Actividad antifúngica de los extractos vegetales sobre *F. oxysporum* por el método de microdilución en placa.

El efecto de los extractos de diferentes fuentes vegetales sobre el crecimiento de *F. oxysporum* se observa en la Figura 4. Los extractos de *L. graveolens* tallo y *A. lechuguilla*

inhibieron al 50 % a este hongo a partir de 250 ppm, mientras que *L. graveolens* hoja inhibió al 88 % a la misma concentración. El extracto de *A. lechuguilla* fue el que mostró el porcentaje de inhibición más alto con 96.92 %, seguido por *L. graveolens* hoja con 95 %, *L. graveolens* tallo y *V. album* con 94 % a 1000 ppm.

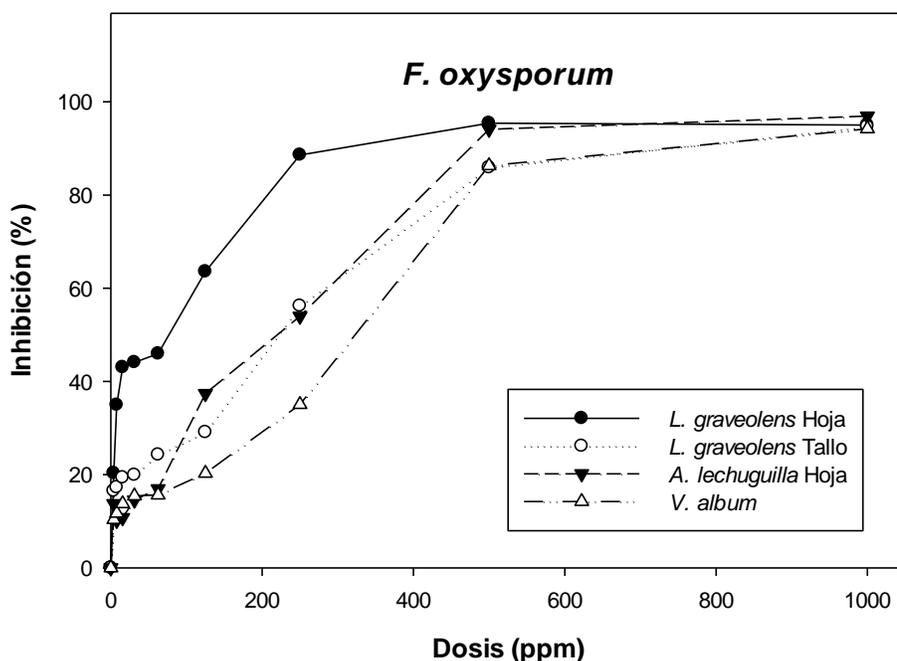


Fig. 4. Porcentaje de inhibición de polifenoles obtenidos por extractos etanólicos de diferentes fuentes vegetales sobre *F. oxysporum* por el método de microdilución en placa.

La actividad antifúngica de los extractos por el método de microdilución en placa para *F. oxysporum*, fueron inferiores a los reportados por Tucuch-Pérez *et al.* (2020) donde evaluaron extractos acuosos y etanólicos de *L. graveolens* hoja, *L. graveolens* tallo y *A. lechuguilla* hoja, puesto que observaron mayor actividad antifúngica con los extractos etanólicos crudos y concentrados. Los mejores extractos crudos etanólicos fueron *L. graveolens* hoja y *L. graveolens* tallo debido a que hubo inhibición del patógeno al 100 % en la concentración de 250 ppm, mientras que a esa concentración se obtuvo el 50 % de inhibición micelial en el presente trabajo, en cambio en los extractos etanólicos concentrados observaron que los extractos de *L. graveolens* tallo, *A. lechuguilla* hojas y *L. graveolens* hoja inhibieron el desarrollo de *F. oxysporum* hasta el 100 % a concentraciones de 125, 250 y

500 ppm respectivamente. Generalmente, las plantas que crecen en ambientes desérticos desarrollan defensas adicionales para atenuar los efectos de altas temperaturas, rayos ultravioletas, sequía y salinidad. Sin embargo, durante el invierno las plantas semidesérticas aumentan la concentración de sus jugos celulares y al volverse más espesos, endurecen los órganos internos haciéndolos más resistentes al frío, reflejándose en los diferentes resultados, de acuerdo con las estaciones del año. En el caso del extracto etanólico de *V. album* se presenta coincidencia con Ertürk *et al.* (2004) y Hussain *et al.* (2011) quienes al utilizar extractos de *V. album* con diversos solventes como hexano y metanol respectivamente contra *C. albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Aspergillus flavus* observaron actividad antifúngica por parte del extracto.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre la CI₅₀ de los diferentes extractos etanólicos, siendo el extracto de *A. lechuguilla* con la CI₅₀ más baja el mejor de los cuatro extractos etanólicos con 12.80 ppm (Tabla 2).

Tabla 2. Concentración inhibitoria al 50 % (CI₅₀) de polifenoles obtenidos de diversas fuentes vegetales sobre los patógenos del Chile.

Extracto	CI ₅₀ *		
	<i>F. oxysporum</i>	<i>R. solani</i>	<i>P. capsici</i>
<i>L. graveolens</i> hoja	31.1±0.09b	51.25 ±0.01a	51.25 ±0.01a
<i>L. graveolens</i> tallo	124.08±0.04c	122.97±0.45d	122.97±0.45d
<i>A. lechuguilla</i> hoja	12.80±0.01a	74.5±0.79b	74.5±0.79b
<i>V. album</i>	197.72±0.02d	87.74±0.4c	87.74±0.4c

Datos son promedio de cuatro repeticiones, *Valores con la misma letra son estadísticamente iguales (P <0.05).

Actividad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de *R. solani* por el método de medio envenenado.

El efecto de los diferentes extractos etanólicos de *L. graveolens* hoja, *Lippia graveolens* tallo, *A. lechuguilla* hojas y *V. album*, en *R. solani* fueron altamente significativos. La Figura 5 muestra que todos los extractos etanólicos inhibieron al 100 % a partir de 200 ppm, sin embargo, estadísticamente *L. graveolens* hoja inhibió al 100 % a partir de 100 ppm, siendo el extracto con una CI₅₀ más baja con 51.25 ppm (Tabla 2).

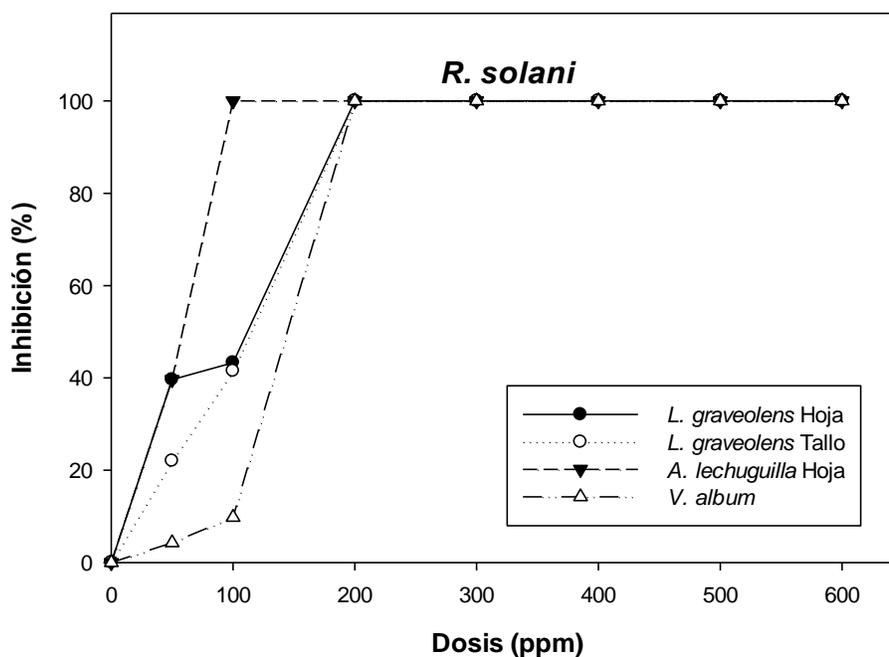


Fig. 5. Porcentaje de inhibición de polifenoles de diferentes fuentes vegetales contra *R. solani* por el método de medio envenenado.

Los polifenoles de *L. graveolens*, muestran que a 200 ppm inhiben completamente a *R. solani*, por el método de medio envenenado (figura 6), estos resultados coinciden con los obtenidos por Hernández-Castillo *et al.* (2010), quienes muestran la mayor inhibición del micelio (100 %), usando lanolina como solvente a una concentración de 200 ppm. Al igual que coinciden con los resultados del efecto del extracto de *A. lechuguilla* donde mostró el 100 % sobre la inhibición del micelio de *R. solani* a 200 ppm de polifenoles totales. Sin embargo, contrasta con los resultados de extractos etanólicos de *L. graveolens*, donde a 3000 ppm inhibiendo el 60 % el crecimiento del hongo, mientras que en este estudio los extractos etanólicos tuvieron una importante inhibición sobre *R. solani*.

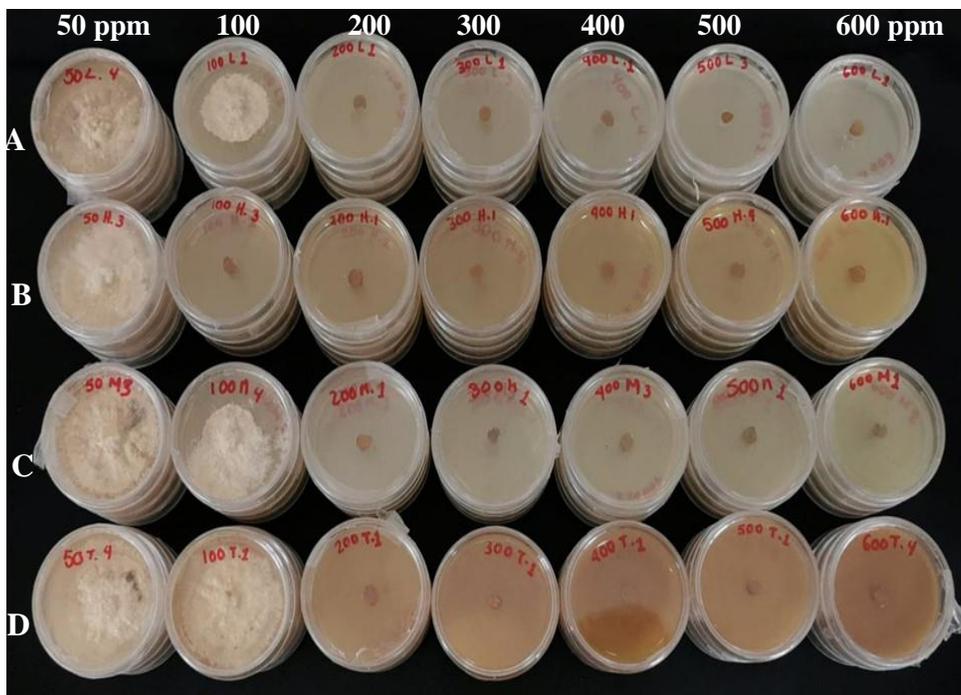


Fig. 6. Actividad antifúngica de los extractos etanólicos sobre *Rhizoctonia solani* por el método de medio envenenado. **A)** *A. lechuguilla*, **B)** *L. graveolens* hoja, **C)** *V. album* y **D)** *L. graveolens* tallo.

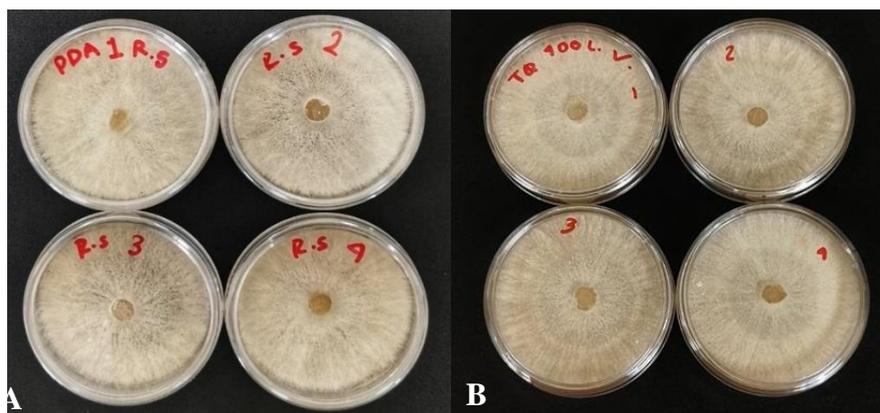


Fig. 7. Testigos; **A)** Cultivo PDA y **B)** Testigo químico Vigold

Rodríguez *et al.* (2005) también evaluaron la efectividad biológica del género *Lippia*, en otros hongos logrando la inhibición máxima al 1.5 % y al 0.5 %, con reducciones del 70 al 84 % en *R. solani* y *Bipolaris maydis*, respectivamente.

Actividad antifúngica de los extractos vegetales sobre el crecimiento micelial de *P. capsici* por el método de medio envenenado.

En relación al control de *P. capsici*, se observó que todos los extractos inhibieron el desarrollo micelial del patógeno (figura 8), siendo los extractos de *L. graveolens* hoja, *L. graveolens* tallo y *V. album* los que presentaron mejor efecto al inhibir el 90 % a 50 ppm; por su parte el extracto de *A. lechuguilla* alcanzo el 90 % de inhibición a 200 ppm. La CI_{50} más baja se obtuvo con el extracto de *L. graveolens* tallo con 0.04 ppm y la más alta con el extracto de *A. lechuguilla* con 23.11 (Tabla 2).

Aguirre en el (2018) obtuvo extractos acuosos y etanólicos al 70 % con diferentes residuos verdes de alimentos, entre ellos *Lippia sp.* y las pruebas de actividad antimicrobiana de todos los extractos se realizaron a concentraciones de 500, 1000 y 2000 ppm, contra cuatro microorganismos fitopatógenos, obteniendo inhibición por parte de los extractos etanólicos de semilla de aguacate y orégano, principalmente contra las bacterias *Clavibacter michiganensis* subsp michiganensis y *Xanthomonas vesicatoria*, y nula inhibición respecto al omiceto *P. capsici* esto difiere a los resultados obtenidos con el extracto del género *Lippia* (Figura 9).

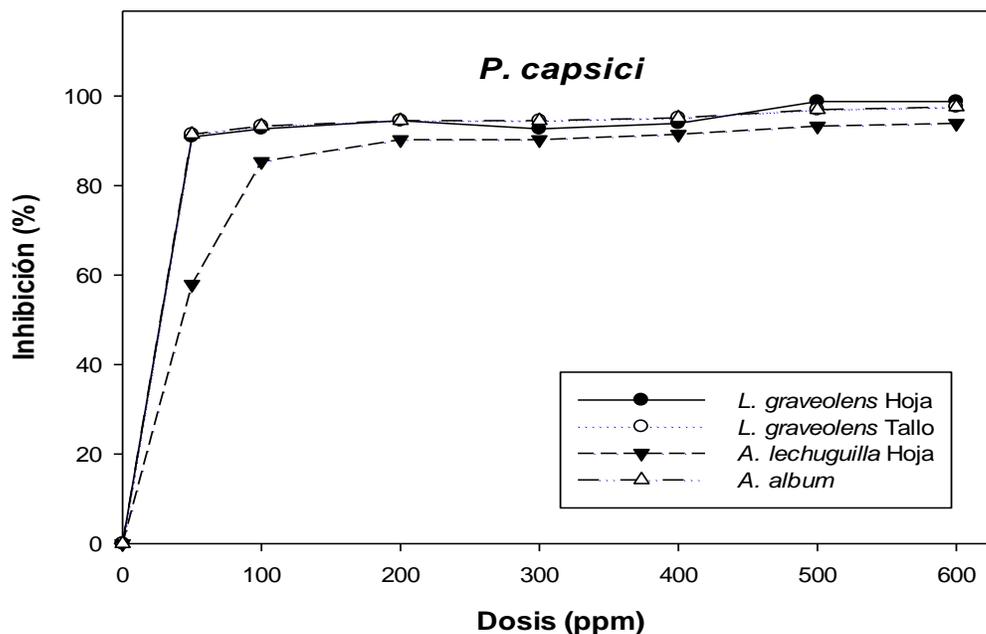


Fig. 8. Porcentaje de inhibición de polifenoles de diferentes fuentes vegetales contra *P. capsici* por el método de medio envenenado.

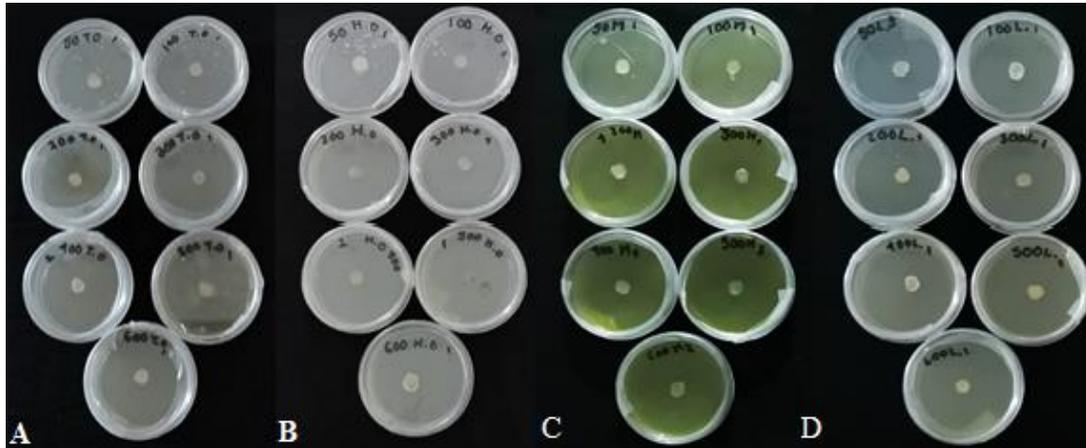


Fig. 9. Actividad antifúngica de los extractos etanólicos sobre *P. capsici* por el método de medio envenenado. **A)** *L. graveolens* tallo, **B)** *L. graveolens* hoja, **C)** *V. album* y **D)** *A. lechuguilla*

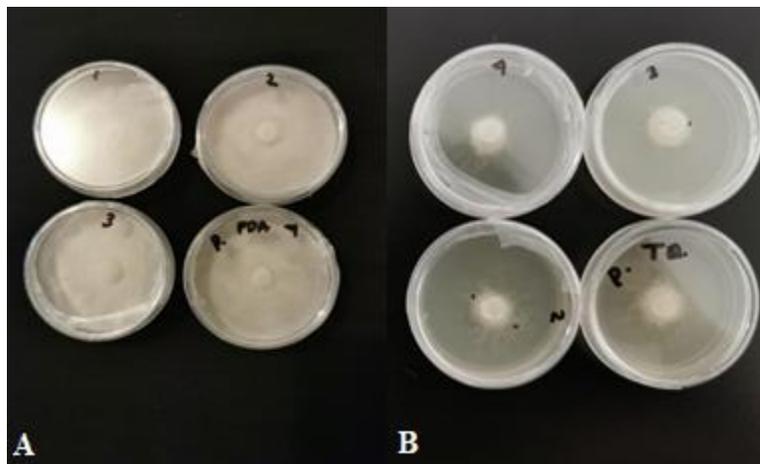


Fig. 10. Testigos; **A)** Cultivo PDA y **B)** Testigo químico Vigold

Efectividad biológica de extractos de plantas *in vivo* sobre *F. oxysporum*, *R. solani* y *P. capsici* en el desarrollo del cultivo de chile jalapeño bajo condiciones de ambiente protegido.

Incidencia de la enfermedad

Los resultados obtenidos se observan en la tabla 3 donde el testigo inoculado (TB), y el tratamiento con extracto de *V. album* (TG) alcanzaron un 100 % de incidencia y son estadísticamente iguales entre sí ($p \leq 0.05$) y diferentes al resto de los tratamientos. Las plantas presentaron los síntomas de marchitez y muerte de plántula. El resto de los tratamientos son estadísticamente iguales al testigo absoluto (TA); los tratamientos con *L. graveolens* hoja (TD), *L. graveolens* tallo (TE) y *A. lechuguilla* (TF), la incidencia alcanzó apenas el 24.97, 16.25, y 8.32 % respectivamente, al igual que el testigo químico comercial Benomilo y Fluoxastrobin (TC), el cual no presentó síntomas de la enfermedad. El mejor resultado se obtuvo con el extracto de *A. lechuguilla* el que contiene compuestos como las saponinas esteroidales (Jasso de Rodríguez *et al.*, 2011), las que al poseer actividad antifúngica también afectarían el desarrollo de la enfermedad ocasionando una disminución en la incidencia.

No encontramos reportes de ensayos *in vivo* para el control de este complejo de fitopatógenos en plantas de chile jalapeño, con extractos vegetales de *A. lechuguilla*, *L. graveolens* hoja, *L. graveolens* tallo y *V. album*. Sin embargo, en comparación con productos biológicos comerciales, en plantas de jitomate, Fernández-Herrera *et al.* (2007), evidenciaron que ninguno de los tratamientos comerciales evaluados protegió a las plantas de jitomate contra la infección conjunta de *F. oxysporum*, *R. solani* y *P. capsici*, pues todas las plantas inoculadas con la mezcla de los fitopatógenos murieron a los 6 días, tal y como se observó con los tratamientos; testigo inoculado (TB) y *V. album* (TG). De las plantas muertas se realizó el reaislamiento de los fitopatógenos y se obtuvo una frecuencia de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* de 60, 20 y 20 %, respectivamente. Los síntomas indicados y la frecuencia alta de reaislamiento de *P. capsici* indican que probablemente fue el que más influyó en la decadencia y muerte de las plantas.

Severidad

En la tabla 3 se muestra la severidad de la enfermedad en follaje y raíz, donde los tratamientos; testigo inoculado (TB) y *V. album* (TG) presentaron índice de severidad de 100 %. Chandrashekhara *et al.*, (2010) mencionan que el extracto de *V. album* induce resistencia contra la enfermedad del mildiu veloso, puesto que la protección contra la enfermedad varió del 44 al 70 % con diferentes concentraciones. Sin embargo, el extracto de *V. album* no inhibió la esporulación ni la liberación de zoosporas de los esporangios del oomiceto *Sclerospora graminicola*, lo que indica que el efecto de control de la enfermedad se atribuyó a la resistencia inducida en las semillas tratadas de mijo perla con extracto de *V. album*. A pesar de ello se optó por evaluar el extracto para confirmar su efecto antifúngico contra el complejo de fitopatógenos; *F. oxysporum*, *R. solani* y *P. capsici*, sin embargo, los resultados del extracto de *V. album* no fueron favorables como biofungicida. La severidad observada en el follaje fue estadísticamente similar entre ellos variando de 0 en TA y TC a 0.3, 0.66 y 1.0 en TF, TE y TD. Al estudiar la severidad en raíz esta se comportó de manera similar a la severidad obtenida en el follaje, diferenciándose el tratamiento *L. graveolens* hoja (TD) que estadísticamente también es igual al testigo inoculado (TB) (cuadro 3).

El efecto de los extractos tuvo diferentes respuestas debido a la variación del contenido de sus metabolitos secundarios, Tucuch-Pérez *et al.* (2020) identificaron los metabolitos secundarios de los extractos etanólicos de *L. graveolens* en hoja, obteniendo los mismos compuestos que en los tallos a excepción de purinas. Sin embargo, estos autores mencionan que los extractos con tallos de *L. graveolens* se obtiene mayor actividad antifúngica debido a que probablemente es donde podría estar concentrada la mayor cantidad de metabolitos secundarios, siendo el extracto de *L. graveolens* tallo el que presentó menor severidad con 0.75 en relación al testigo inoculado el cual presentó 3.0 en severidad. De igual manera identificaron carbohidratos, azúcares reductores, saponinas y taninos para *A. lechuguilla*, la cual presentó una menor severidad en raíz de 1.08, seguido por el extracto de *L. graveolens* tallo (Tabla 3).

Tabla 3. Severidad en follaje y raíz en la efectividad biológica de extractos de plantas *in vivo* sobre *F. oxysporum*, *R. solani* y *P. capsici* en el desarrollo de chile jalapeño bajo condiciones de ambiente protegido.

Tratamiento	Incidencia %	Severidad follaje	Severidad raíz
TA. Testigo Absoluto	0.0±0.0a	0.0±0.0a	0.0±0.0a
TB. Testigo Inoculado	100±0.0b	3.66±0.0b	3.0b±0.4c
TC. Testigo Químico	0.0±0.0a	0.0±0.0a	0.0±0.0a
TD. <i>L. graveolens</i> hoja	24.9±16.6a	1.0±0.6a	1.16±0.7ab
TE. <i>L. graveolens</i> tallo	16.6±19.2a	0.66±0.7a	0.75±0.7a
TF. <i>A. lechuguilla</i>	8.3±16.6a	0.33±0.6a	1.08±1.3a
TG. <i>V. album</i>	100±0.0b	3.0±1.2b	3.0±1.1c

*valores con misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05\%$).



Fig. 11. Severidad en follaje y raíz. A) Testigo Absoluto, B) Testigo Inoculado, C) Testigo Químico, D) *L. graveolens* hoja, E) *L. graveolens* tallo, F) *A. lechuguilla*, y G) *V. album*

Índice de clorofila

El índice de clorofila fue estadísticamente superior en TA y del tratamiento químico (TC) y en los tratamientos de los extractos de *L. graveolens* y *A. lechuguilla* muestran que el extracto de *V. album* fue similar al (TB), (Tabla 4). Lo anterior sugiere que los extractos de *L. graveolens* y *A. lechuguilla* tiene efecto a disminuir la incidencia de la enfermedad. Los resultados obtenidos se asemejan a los reportados por Méndez-Argüello (2016), donde las plantas sanas de Chile presentaron mayor concentración de clorofila y estas fueron las tratadas con el extracto de *L. graveolens* hoja y *L. graveolens* tallo con una media de 45 y 44 unidades SPAD respectivamente. Li *et al.*, (2018) y Patel *et al.*, (2017) demostraron que *Fusarium oxysporum* y otras especies de *Fusarium* tienen la capacidad de degradar la clorofila principalmente en el área foliar producto de la enfermedad en las plantas. Tremacoldi (2010), afirmó que las toxinas producidas por los hongos patógenos inhiben las enzimas que están directa o indirectamente presentes en la fotosíntesis; esta inhibición causa la degradación de la clorofila y/o la reducción de la síntesis de clorofila, lo que resulta en el desarrollo de la clorosis de la hoja. Por consiguiente, se obtuvo un porcentaje de 25 % de severidad en follaje en ambos extractos vegetales de *L. graveolens* y *A. lechuguilla*.

Tabla 4. Prueba de medias de Tukey para variables agronómicas.

Variable	TA	TB	TC	TD	TE	TF	TG
Clorofila (SPAD)	53.1±0.7a	42.0±0.4b	48.6±2.4a	44.3±0.2a	45.5±0.2a	44.4±1.7a	41.8±2.7c
Altura de planta (cm)	27.0±2.2c	2.0±1.5a	16.7±1.3b	13.2±1.1b	12.8±1.5b	11.8±3.1b	1.8±3.7a
Ancho de tallo (mm)	6.1±0.3c	1.0±0.1a	5.5±0.4c	3.1±0.7b	3.3±0.6b	3.2±1.1b	0.8±1.0a

*valores con misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05\%$).

Altura de planta

En la tabla 4 se observan los valores de la prueba de medias para la altura de las plantas de cada tratamiento, donde los extractos vegetales de los tratamientos TC, TD, TE y TF fueron estadísticamente iguales entre sí, pero presentaron diferencia estadística al testigo absoluto (TA) al tratamiento inoculado (TB) y el extracto de *V. album* (TG), donde solo el testigo absoluto, presentó diferencias significativas con el resto de los tratamientos desde la primera semana hasta el término del experimento. Los valores de los tratamientos *L. graveolens* hoja (TE), *L. graveolens* tallo (TF), y *A. lechuguilla* (TD) son estadísticamente al testigo químico (TC), presentado menor altura que el testigo absoluto (TA) pero superior al testigo inoculado (TB) y extracto de *V. album* (TG) las cuales oscilaron entre los 2.5 y 1.8 cm debido al marchitamiento en plántula. Esta patología se caracteriza por una pudrición en la base del tallo de la planta a nivel suelo, lo cual ocasiona la marchitez y muerte de las mismas (Cárdenas *et al.*, 2005), tal y como se observó con el testigo inoculado (TB) y con el extracto de *V. album* (TG) (figura 1). Es importante señalar que las temperaturas fueron favorables para el desarrollo del complejo de la enfermedad. Por lo tanto, el oomiceto *P. capsici* se desarrolló con más frecuencia que *F. oxysporum* y *R. solani*, dado que se obtuvo un mayor porcentaje de *P. capsici* en el reaislamiento, como se mencionó anteriormente.

Diámetro de tallo

La mayor medida de tallos se obtuvo con el testigo (TA) seguido por el tratamiento químico (TC) 6.1 y 5.5 mm respectivamente, ambos estadísticamente iguales, mientras que la menor media lo obtuvieron el tratamiento TG (*V. album*) con 0.8 mm y TB (testigo inoculado) 1.0 mm, ambos estadísticamente iguales, pero diferentes a los tratamientos TA (testigo absoluto) y TB (testigo inoculado). Los tratamientos TD (*L. graveolens* hoja), TE (*L. graveolens* tallo) y TF (*A. lechuguilla*) presentaron medias de 3.1, 3.3 y 3.2 mm respectivamente, y diferencias significativas con el resto de los tratamientos.

CONCLUSIONES

- Los cuatro extractos vegetales etanólicos fueron efectivos para inhibir el crecimiento micelial *in vitro* de *R. solani* al 100 %, mientras que para obtener la inhibición de *P. capsici* al 100 % solo se obtuvo con el extracto de *V. album*.
- El porcentaje de inhibición más alto para *F. oxysporum* se obtuvo con los extractos de *A. lechuguilla* con 96.92 %.
- Las CI_{50} más bajas fueron de los extractos de *L. graveolens* tallo con 0.04 ppm para *P. capsici*, *A. lechuguilla* con 12.80 ppm para *F. oxysporum* y *L. graveolens* hoja con 51.25 ppm para *R. solani*.
- Los extractos de *L. graveolens* hoja y tallo logran inhibir el crecimiento micelial de los fitopatógenos evaluados, a concentraciones más bajas.
- Se identificaron los compuestos fitoquímicos de las familias Catequinas, Flavonas, Ácido hidroxicinámico, Estilbeno, Flavonoles, Dihidroflavonoles y Flavononas de los extractos vegetales etanólicos.
- Este es el primer reporte de *V. album* utilizado para el control de fitopatógenos Stramenopilas *in vitro*.
- El extracto de *L. graveolens* tallo, protegió en 91 % a las plantas de Chile inoculadas con *F. oxysporum*, *R. solani* y *P. capsici*, mientras que el extracto de *L. graveolens* hoja y *A. lechuguilla* protegió en 83 y 75 % de la enfermedad, por lo que son una alternativa para reducir la incidencia y severidad de la marchitez del Chile.

LITERATURA CITADA

- Abawi, G. S. (1989). Root rots. In: Schwartz HF, Pastor-Corrales MA (eds) Bean production problems in the tropics, 2nd edn. Cali, Colombia, pp 105–157
- Ascacio, V. J. A., Aguilera, C. A. F., Buenrostro, J. J., Prado, B. A., Rodríguez, H. R. & Aguilar, C. N. (2016). The complete biodegradation pathway of ellagitannins by *Aspergillus niger* in solid-state fermentation. *Journal of Basic Microbiology* 56(4), 329-336. DOI: 10.1002/jobm.201500557
- Barata, L. M., Andrade, E. H., Ramos, A. R., de Lemos, O. F., Setzer, W. N., Byler, K. G., Maia, J. G. S. & da Silva, J. K. R. (2021). Perfil metabólico secundario como herramienta para la distinción y caracterización de cultivares de pimiento negro (*Piper nigrum* L.) cultivados en el estado de Pará, Brasil. *Revista Internacional de Ciencias Moleculares*; 22 (2): 890. <https://doi.org/10.3390/ijms22020890>
- Barranco, M. J. & Jiménez, A. C. (2020). Evaluaciones ambientales por el uso y manejo de productos agroquímicos (tesis de pregrado) Universidad De La Costa.
- Boidin, J. (1998). Taxonomie moleculaire des *Aphylophorales*. *Mycotaxon*. 66:445-491.
- Carisse, O, El Bassam, S. & Benhamou, N. (2001). Effect of *Microsphaeropsis* sp. strain P130A on germination and production of sclerotia of *Rhizoctonia solani* and interaction between the antagonist and the pathogen. *Phytopathology* 91: 782–791. DOI: 10.1094 / PHYTO.2001.91.8.782
- Castillo, F., Hernández, D., Gallegos, G., Mendez, M., Rodríguez, R., Reyes, A., & Aguilar, C. N. (2010). *In vitro* antifungal activity of plant extracts obtained with alternative organic solvents against *Rhizoctonia solani* Kühn. *Industrial Crops and Products*. 32 (3): 324-328. DOI: 10.1016 / j.indcrop.2010.05.013
- Castillo Q., D., O. Mares & Villavicencio, E. E. (2011). *Lechuguilla* (*Agave lechuguilla* Torr.) planta suculenta de importancia económica y social de las zonas áridas y semiáridas de México Boletín de la Sociedad de Cactáceas y Suculentas. 23 p.
- Castillo, Q., Sáenz, R., Narcia, V., & Vázquez, R. (2013). Physical and Mechanical properties of *Agave lechuguilla* Torr. Fiber under plantations of five provenances. *Revista de Ciencias Forestales*. 4, 78-91 Recuperado en 09 de enero de 2021, de

- http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S200711322013000500007&lng=es&tlng=es
- Chandrashekhara, Niranjan, R. S., Manjunath, R., Deepak, S., & Shekar, S. H. (2010). Seed treatment with aqueous extract of *Viscum album* induces resistance to pearl millet downy mildew pathogen. *Journal of Plant Interactions* 5(4); 283-291 p. DOI: 10.1080/17429140903556539
- CONABIO. (2009). Catálogo taxonómico de especies de México. 1. In Capital Nat. México. CONABIO, México City.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Micro-biol. Rev.* 10: 564-582
- EPPO. (2020). *Rhizoctonia solani* (RHIZSO). En línea: <https://gd.eppo.int/taxon/RHIZSO>
Fecha de consulta: agosto de 2020.
- EPPO. (2020). *Rhizoctonia solani* (RHIZSO). En línea: <https://gd.eppo.int/taxon/RHIZSO>
Fecha de consulta: agosto de 2020.
- Ertürk, Ö., Kati, H., Yayli, N. & Demirbağ, Z. (2004). Antimicrobial activity of *Viscum album* L. subsp. abietis (Wiesb). *Turkish Journal of Biology*. 27(4), 255-258.
- Ezziyyani, M. M., Pérez C., Requena, M. E., Ahmed, A. S., & Candela. E. C. (2004). Evaluación del biocontrol de *Phytophthora capsici* en pimiento (*Capsicum annum* L.) por tratamiento con *Burkholderia cepacia*. *Anales de Biología*. 26: 61-68 pp. Recuperado a partir de <https://revistas.um.es/analesbio/article/view/30461>
- Fernández-Herrera, E., Acosta-Ramos, M., Ponce-González, F., & Manuel-Pinto V. (2007). Manejo Biológico de *Phytophthora capsici* Leo., *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr. y *Rhizoctonia solani* Kühn en Jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Revista mexicana de fitopatología* 25(1): Recuperado en 15 de marzo de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018533092007000100005&lng=es&tlng=es.
- Gabrielson, J., Hart, M., Jarelöv, A., Kühn, I., McKenzie, D. & Möllby, R. (2002). Evaluation of redox indicators and the use of digital scanners and spectrophotometer for quantification of microbial growth in microplates. *Journal of Microbiological Methods*, 50(1): 63-73. DOI: 10.1016/s0167-7012(02)00011-8

- González-García, V., Portal-Onco, M. A. & Rubio-Susan, V. (2006). Review. Biology and systematics of the form genus *Rhizoctonia*. *Span. J. Agric. Res.* 4(1):55-79. DOI: 10.5424 / sjar / 2006041-178
- González-García, M. (2008). Aspectos de sistemática y biología del complejo *Rhizoctonia*. *Fitosanidad*. 12(3):147-159.
- González-Hernández, D. (2002). Estado actual de la taxonomía de *Rhizoctonia solani* Kühn. *Rev. Mex. Fitopatol.* 20(2):200-205.
- Gour, R. (2012). Isolation and characterization of Actinomycetes against *Macrophomina phaseolina* and *Rhizoctonia solani*. *Adv. J. Pharm. Sci.* 1(2):31-30
- Granke, L. L., Quezada, O. L., Lamour, K. & Hausbeck, M. K. (2012). Advances in research on *Phytophthora capsici* on vegetable crops in the United States. *Plant disease*. 11(96):1588-1600. DOI: 10.1094 / PDIS-02-12-0211-FE
- Guigón-López, C. & González-González, P. A. (2001). Estudio regional de las enfermedades del chile (*Capsicum annuum* L.) y su comportamiento temporal en el Sur de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19:49-56. [fecha de Consulta 13 de marzo de 2021]. ISSN:. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61219107>
- Hernández-Soto, R. & Díaz-Jiménez, L. (2008). Lechuguilla: *Agave Lechuguilla* Torrey. En: C. Aguilar, R. Rodríguez Herrera, S. Saucedo Pompa & amp; D. Jasso Cantú, ed., FITOQUIMICOS SOBRESALIENTES DEL SEMIDESIERTO MEXICANO: De la Planta a los Químicos Naturales y a la Biotecnología, 1st ed. Saltillo, Coahuila, México: Cristóbal Noe Aguilar, Raúl Rodríguez Herrera Saúl Saucedo Pompa, pp.209-215.
- Hernández, F. D., Lira, R. H., Gallegos, M. G., Hernández, S. M. & Solis, G. S. (2014). Biocontrol of pepper wilt with three *Bacillus* species and its effect on growth and yield. *Phyton*. 83(1):49-55. DOI: 10.32604 / phyton.2014.83.049
- Hussain, M. A., Khan, M. Q., Hussain, N. & Habib, T. (2011). Antibacterial and antifungal potential of leaves and twigs of *Viscum album* L. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(23). <https://doi.org/10.5897/JMPR.9000126>
- Jasso de Rodríguez, D. J., García, R. R., Castillo, F. H., González, C. A., Galindo, A. S., Quintanilla, J. V., & Zuccolotto, L. M. (2011). *In vitro* antifungal activity of extracts

- of Mexican Chihuahuan Desert plants against postharvest fruit fungi. *Industrial Crops and Products*, 34(1):960-966. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.03.001>
- Jasso de Rodríguez, D., Trejo-González, F. A., Rodríguez-García, R., Díaz-Jimenez, M. L.V., Sáenz-Galindo, A., Hernández-Castillo, F. D., Villarreal-Quintanilla, J. A. & Peña-Ramos, F. M. (2015). Antifungal activity *in vitro* of *Rhus muelleri* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Industrial Crops and Products*. 75: 150-158): 5545-5549. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.048>
- Jasso de Rodríguez, D., Rodríguez, R., Hernández, F. D., Aguilar, C. N., Sáenz, A., Villarreal, J. A. & Moreno, L. E. (2011). *In vitro* antifungal activity of extracts of Mexican Chihuahuan Desert plants against postharvest fruit fungi. *Industrial Crops and Products* 34: 960-966. DOI: 10.1016 / j.indcrop.2011.03.001
- Juárez, C., Valdez, D., & Duran, A. (2004). Natural fibers of lechuguilla as reinforcement in construction materials. *Revista de Ingeniería de Construcción*. 19, 83-92.
- Krechel, A., Faupe, A., Hallmann, J., Ulrich, A. & Berg, G. (2002). Potato-associated bacteria and their antagonistic potential towards plant-pathogenic fungi and the plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and Whitte) Chitwood. *Can. J. Microbiol.* 48:772-786. DOI: 10.1139 / w02-071
- Leslie, J. & Summerell, B. (2006). The *Fusarium* Laboratory Manual. 1era. Edición. Editorial Blackwell Publishing. Estados Unidos.
- Leslie, J. F. & Summerell, B. A. (2006). The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing. Ames, Iowa, USA. 388p.
- Leslie, J. F., Zeller, K. A. & Summerell, B. A. (2001). Icebergs and species in populations of *Fusarium*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 59(3), 107-117. <https://doi.org/10.1006/pmpp.2001.0351>
- Li, N., & Kang, S. (2018). Do volatile compounds produced by *Fusarium oxysporum* and *Verticillium dahliae* affect stress tolerance in plants?. *Mycology*. 9: 3, 166-175, DOI: 10.1080 / 21501203.2018.1448009
- Ma, L. J., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F. & Kazan, K. (2013). *Fusarium Pathogenomics. Revisión anual de microbiología*, 67 (1), 399–416. doi: 10.1146 / annurev-micro-092412-155650

- Masoko, P., Picard, J. & Eloff, J. N. (2005). Antifungal activities of six South African Terminalia species (Combretaceae). *Journal of ethnopharmacology*. 3;99(2):301-8. DOI: 10.1016/j.jep.2005.01.061.
- Méndez-Argüello, B., Vera-Reyes, I., Mendoza-Mendoza, E., García-Cerda, L. A., Puente-Urbina, B. A. & Lira-Saldívar, R. H. (2016). Promoción del crecimiento en plantas de *Capsicum annuum* por nanopartículas de óxido de zinc. *Nova Scientia* 8(25). Recuperado en 10 de febrero de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S20070705201600020140&lng=es&tlng=es.
- Mesa., V. A. M., Marín P., Ocampo, O., Calle, J. & Monsalve, Z. (2019). Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. *Revista de investigaciones agropecuarias*. 45(1) 23-30 pp.
- Michielse, C. & Rep, M. (2009). Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant pathology* 10(3):311:324. Doi: 10.1111 / j.1364-3703.2009.00538.x.
- Moreno-Limón, S., Gonzales-Solís, L., Salcedo-Martínez, S., L., Cárdenas-Ávila, M., & Perales-Ramírez, A. (2011). Efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata*) sobre la inhibición *in vitro* de *aspergillus flavus* y *penicillium* spp. *Polibotánica*. Fecha de Consulta 03 de Marzo de 2021]. ISSN: 1405-2768. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62119933012>
- Ocampo-Velázquez, R. V., Malda-Barrera, G. X., & Suárez-Ramos, G. (2009). Biología reproductiva del orégano mexicano (*Lippia graveolens* Kunth) en tres condiciones de aprovechamiento. *Agrociencia* 43(5): Recuperado en 10 de junio de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S14053195200900050003&lng=es&tlng=es.
- Patel, S. & Saraf, M. (2017). Interaction of root colonizing biocontrol agents demonstrates the antagonistic effect against *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici on tomato. *Eur J Plant Pathol* 149, 425–433 (2017). <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1192-y>
- Pérez-Acevedo, C. E., Carrillo-Rodríguez, J. C., Chávez-Servia, J. L., Perales-Segovia, C., Enríquez del Valle, R. & Villegas-Aparicio, Y. (2017). Diagnóstico de síntomas y patógenos asociados con marchitez del chile en Valles Centrales de Oaxaca. *Revista*

- Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 8(2), 281-293.
<https://doi.org/10.29312/remexca.v8i2.50>
- Pérez-Moreno, L., Durán-Ortiz, L. J., Ramírez-Malagon, R., Sánchez-Pale, J. R. & Olalde-Portugal, V. (2004). Sensibilidad *in vitro* de aislados de hongo *Phytophthora capsici* a fungicidas. Memorias Primera Convención Mundial del Chile. León, Guanajuato, México. Resumen, pp. 144-150 *Plant Pathology*, 149(2), 425-433.
- Patel, S. & Saraf, M. (2017). Biocontrol efficacy of *Trichoderma asperellum* MSST against tomato wilting by *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 50(5-6), 228-238.
- Rivera-Jiménez, M. N., Zavaleta-Mancera, H. A., Rebollar-Alviter, A., Aguilar-Rincón, V. H., García de los Santos, G., Vaquera-Huerta, H. & Silva-Rojas, H. V. (2018). Phylogenetics and histology provide insight into damping-off infections of 'Poblano' pepper seedlings caused by *Fusarium* wilt in greenhouses. *Mycological Progress*. 17(11):1237-1249. Doi.org/10.1007/s11557-018-1441-2.
- Rodríguez, D. & Sanabria, M. E. (2005). Efecto del extracto de tres plantas silvestres sobre la rizoctoniosis, la mancha sureña del maíz y los patógenos que la causan. *Interciencia* 30 (12): 739- 744. Recuperado en 23 de abril de 2021, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S037818442005001200004&lng=es&tlng=
- Rowe, R. C. (1980). Comparative pathogenicity and host ranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and root rot of greenhouse and field-crown tomatoes in North America and Japan. *Phytopathology* 70:1143-1147
- Rubio, S. V. & Fereres, C. A. (2005). Control biológico de las plagas y enfermedades de los cultivos. Marín, I., Sanz, J.-L., Amils R. Eds), *Biotecnología y medio ambiente* (pp. 215-229) Serrano 115 Dpdo. 28006 Madrid.
- Sánchez, E., Heredia, N. & García, S. (2005). Inhibition of growth and mycotoxin production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* by extracts of Agave species. *International Journal of Food Microbiology*. 98: 271-279. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.07.009. PMID: 15698688.
- Saravanakumar, D., Karthiba, L., Ramjagathesh, R., Prabakar, K. & Raguchander, T. (2015). Characterization of bioactive compounds from botanicals for the management of

- plant diseases. *Sustainable Crop Disease Management using Natural Products*. Wallingford, UK. Pp. 1-18
- SEMARNAT. (20001). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
- Silva-Rojas, H. V., Fernández-Pavia, S. P., Góngora-Canul, C., Macías-López, B. C. & Ávila-Quezada, G. D. (2009). Distribución espacio temporal de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.) en Chihuahua e identificación del agente causal *Phytophthora capsici* Leo. *Rev. Mex. Fitopatol.* 27(2):134-147. [Fecha de Consulta 04 de marzo de 2021]. ISSN:. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61212195006>
- Singh, S., Singh, I. K., Gaur K., Chaturvedi P. M., Singh, S. K. & Sandhu, J. S. (2014). In Broadening the Genetic Base of Grain Legumes; *National Bureau of Plant Genetic Resources*: New Delhi, India. DOI: 10.1007 / 978-81-322-2023-7_3
- Sneh, B., Burpee, L. & Ogoshi, A. (1991). Identification of *Rhizoctonia* Species. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minesota, USA. 133 p.
- Sneh, B., Jabaji-Hare, S., Neate, S. & Dijst, G. (1996). *Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control. *Kluwer Academic Publisher*. 578 p.
- Shami, A. M. M., Philip, K. & Muniady, S. (2013). Synergy of antibacterial and antioxidant activities from crude extracts and peptides of selected plant mixture. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 13: 360. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-360>
- Stockwell, V. & Hanchey, P. (1984). The role of the cuticle in resistance of beans to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 74: 1640–1642.
- Tucuch-Pérez, M. A., Arredondo-Valdés, R., & Hernández-Castillo, F. D. (2020). Antifungal activity of phytochemical compounds of extracts from Mexican semi-desert plants against *Fusarium oxysporum* from tomato by microdilution in plate method. *Nova scientia*. 12(2): 1-19. Doi.org/10.21640/ns.v12i25.2345
- Velásquez, V. R. & Victoriano, L. F. (2007). Presencia de patógenos en almácigos y semilla de chile (*Capsicum annuum* L.) en Aguascalientes y Zacatecas, México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 25:75-79. Recuperado en 11 de febrero de 2021, de

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018533092007000100010&lng=es&tlng=es.

- Velásquez-Valle, R., Medina-Aguilera, M. M. & Luna-Ruíz, J. de J. (2001). Sintomatología y géneros de patógenos asociados con las pudriciones de la raíz del chile (*Capsicum annuum* L.) en el Norte-Centro de México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19:175-181
- Verástegui, Á., Verde, J., García, S., Heredia, N., Oranday, A. & Rivas, C. (2008). Species of *Agave* with antimicrobial activity against selected pathogenic bacteria and fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24: 1249-1252. DOI 10.1007 / s11274-007-9563-8
- Virgen-Calleros, G. & García-Camargo, J. (1990). Resultados preliminares sobre el control biológico de *Fusarium oxysporum* f. sp. Niveum con *Bacillus subtilis* en sandía, bajo condiciones de campo. Memorias del XVII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Culiacán, Sinaloa, México. Resumen.
- Velásquez, V. R. & Victoriano, L. F. (2007). Presencia de patógenos en almácigos y semilla de chile (*Capsicum annuum* L.) en Aguascalientes y Zacatecas, México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 25:75-79. Recuperado en 10 de junio de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092007000100010&lng=es&tlng=es.