

Abanico Agroforestal. Enero-Diciembre 2020; 2:1-13. <http://dx.doi.org/10.37114/abaagrof/2020.7>
Artículo Original. Recibido: 17/02/2020. Aceptado: 10/07/2020. Publicado: 14/08/2020.

Extractos vegetales para el control de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*, una alternativa sostenible para la agricultura

Plant extracts to control *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*: a sustainable alternative for agriculture

Alfredo Rodríguez-Castro¹ , Sandra Torres-Herrera² , Antonio Domínguez-Calleros² , Ana Romero-García³ , Miguel Silva-Flores*¹ 

¹Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Rioverde. Carretera Rioverde-San Ciró Km 4.5 Col. María del Rosario. CP. 79610. San Luis Potosí, México. ²Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Juárez Estado de Durango. México. ³Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C., Camino a La Presa de San José 2055, Lomas 4 sección. CP. 78216. San Luis Potosí, México. *Autor para correspondencia: Miguel Silva-Flores. ing.josealfredorodriguez@gmail.com, sith.chany@gmail.com, pdomingc@hotmail.com, alrg_6@hotmail.com, miguelangelsilvaflores@gmail.com.

RESUMEN

Actualmente la agricultura requiere alternativas al uso de agrotóxicos para controlar fitopatógenos, los extractos vegetales pueden contribuir a minimizar pérdidas por fitopatógenos sin causar daños a la salud humana. El objetivo de este trabajo fue evaluar *in vitro*, el efecto de extractos de plantas sobre *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*. Se evaluaron los extractos metanólicos (EM) de: *Moringa oleifera* (Moringa), *Persea americana* (Aguacate), *Equisetum hymale* (Cola de caballo), *Larrea tridentata* (Gobernadora), *Gnaphalium semiamplexicaule* (Gordolobo), *Peumus boldus* (Boldo), *Brickellia squarrosa* (Prodigiosa), *Rosmarinus officinalis* (Romero) y *Physalis coztomatli* (Costomate), que se obtuvieron utilizando un equipo Soxhlet a una concentración del 10% (p/V). Mediante el software estadístico Minitab 16® México, se hizo un análisis de varianza (ANDEVA) y comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$). Por separado se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial. El EM de *Larrea tridentata* (Gobernadora) inhibió al 100% el crecimiento de *Fusarium solani* y de *Rhizoctonia solani* hasta por 144 h, y de *F. oxysporum* hasta por 240 h. Los EM de *Brickellia squarrosa* (Prodigiosa) y *Rosmarinus officinalis* (Romero) también inhibieron el crecimiento micelial. Estos extractos representan una excelente alternativa al control y manejo convencional de fitopatógenos.

Palabras clave: fitopatógenos, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Rhizoctonia solani*, extractos vegetales y biocontrol.

ABSTRACT

Agriculture currently requires alternatives to the use of pesticides to control plant pathogens, such as plant extracts that can help minimize losses from plant pathogens, without causing harm to human health. In this work, the effect of plant extracts on *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani* was evaluated *in vitro*. The methanolic extracts (EM) of: *Moringa oleifera* (Moringa, leaves), *Persea americana* (Avocado), *Equisetum hymale* (Horsetail), *Larrea tridentata* (Governor), *Gnaphalium semiamplexicaule* (Gordolobo), *Peumus boldus* (Boldo), *Brickellia squarrosa* (Prodigiosa), *Rosmarinus officinalis* (Rosemary) and *Physalis coztomatli* (Costomate), were obtained using a Soxhlet kit at a concentration of 10% (w/V). Using the statistical software Minitab 16® México, an analysis of variance (ANDEVA) and comparison of Tukey means ($p \leq 0.05$) were performed. The percentage of inhibition of mycelial growth was determined

separately. The ME of *Larrea tridentata* (Gobernadora) 100% inhibited the growth of *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani* for up to 144 h, and of *F. oxysporum* for up to 240 h. The ME of *Brickellia squarrosa* (Prodigiosa) and *Rosmarinus officinalis* (Rosemary) also inhibited mycelial growth. These extracts represent an excellent alternative to the conventional control and management of plant pathogens.

Keywords: phytopathogens, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Rhizoctonia solani*, plant extracts and biocontrol.

INTRODUCCIÓN

Los avances científicos y tecnológicos consiguen aumentar la productividad de la agricultura. En general, el aumento se debe a la incorporación de productos sintéticos como fertilizantes y plaguicidas que generan problemas ambientales ([Samsidar et al., 2018](#)). Actualmente la agricultura requiere alternativas ecológicas, económicas y amigables con el ambiente para manejar enfermedades y minimizar el uso de agroquímicos sintéticos ([Tamilselvi y Arumugam, 2017](#)), que no perjudiquen la salud de los jornaleros agrícolas y consumidores ([Samsidar et al., 2018](#)).

Las enfermedades en la raíz en los cultivos son de los problemas más difíciles de controlar, porque en el suelo existen condiciones muy particulares que le brindan a los fitopatógenos de raíz (FR), elementos y condiciones óptimas para su establecimiento y desarrollo ([García, 2010](#)). Ante la necesidad de contar con soluciones ecológicas y de reducir el impacto negativo de los agrotóxicos en los ecosistemas, se ha encontrado en los extractos de plantas una opción sustentable para mitigar los problemas fitosanitarios y disminuir las pérdidas económicas que estos originan ([Cerqueira et al., 2016](#)).

Tradicionalmente el control y manejo de los problemas fitosanitarios se hace con agrotóxicos, este manejo acarrea consecuencias adversas en la salud y en el ecosistema; además de generar resistencia en los fitopatógenos a algunos compuestos de síntesis química empleados en la agricultura ([Del Puerto et al., 2014](#)). Sin embargo, se debe explorar la factibilidad del control de fitopatógenos con otras opciones como los extractos vegetales, los cuales pueden ser igual de efectivos para el control de y manejo de agentes fitopatógenos. Los extractos se pueden obtener a través de diferentes métodos: destilación con vapor-extracción con solvente, extracción con fluido supercrítico ([Stashenko et al., 2003](#)); soxhlet y lixiviación o percolación en frío ([Henao et al., 2009](#)).

Existen trabajos de investigación donde se emplean extractos de plantas para el manejo de agentes fitopatógenos, en ese sentido están los que se han hecho para; inhibición de *Phytophthora infestans* ([Gamboa-Alvarado et al., 2003](#)), control de *Pythium* ([Lira-Saldívar et al., 2003](#); [Osorio et al., 2010](#)), control de *Verticillium dahliae* ([López-Benítez et al., 2005](#)), *Sclerotinia sclerotiorum* ([Al-Reza et al., 2010](#)), *Fusarium oxysporum* ([Rodríguez et al., 2012](#); [Cáceres Rueda de León et al., 2013](#); [Vásquez et al., 2014](#); [Dania et al., 2014](#); [Ferdes et al., 2017](#)), control de *Fusarium solani* ([Zaker, 2014](#); [Vásquez et al., 2014](#)) y *Rhizoctonia solani* ([López-Benítez et al., 2005](#); [Jasso de Rodríguez et al., 2007](#); [Zamora-Natera et al., 2008](#); [Dania et al., 2014](#)).

El efecto de los extractos de las plantas sobre algunos patógenos, ya sean de interés médico o agrícola, se debe a que contienen metabolitos secundarios con efecto fungicida y/o bactericida, destacan los compuestos fenólicos, cumarinas, flavonoides, taninos, quinonas, entre otros. Existen trabajos donde se evalúa el efecto de plantas sobre diversos patógenos; por ejemplo, el efecto de los extractos de: *Moringa oleífera* ([Canett-Romero et al., 2014](#)), *Equisetum hymale* ([De Queiroz et al., 2015](#)), *Larrea tridentata* ([Bañuelos-Valenzuela et al., 2018](#)), *Peumus boldus* ([Mazutti et al., 2008](#)) y *Rosmarinus officinalis* ([Rozman y Jersek, 2009](#)).

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar *in vitro*, el efecto de nueve extractos metanólicos, sobre los agentes fitopatógenos, *Fusarium oxysporum*, *F. solani* y *Rhizoctonia solani*. Con la hipótesis que los extractos vegetales son capaces de controlar e inhibir el crecimiento de algunos microorganismos fitopatógenos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en las instalaciones del Instituto Tecnológico Superior de Rioverde (ITSR), ubicado en la Carretera Rioverde- San Ciro de Acosta, Km. 4.5, Col. María del Rosario, Rioverde, San Luis Potosí, México. Para el presente estudio se utilizaron extractos de nueve plantas reconocidas; las cuales fueron: *Moringa oleífera* (Moringa, hojas), *Persea americana* (Aguacate, hojas), *Equisetum hymale* (Cola de caballo, vástagos), *Larrea tridentata* (Gobernadora, hojas), *Gnaphalium semiamplexicaule* (Gordolobo, vástagos), *Peumus boldus* (Boldo, vástagos), *Brickellia squarrosa* (Prodigiosa, vástagos), *Rosmarinus officinalis* (Romero, vástagos) y *Physalis coztomatl* (Costomate, raíces).

Los extractos al 10% p/V (peso/Volumen), se obtuvieron con el equipo Soxhlet (Cornig-Pyrex Modelo 3840-XL[®]), durante cinco ciclos utilizando metanol (Merck[®]) como solvente de arrastre. Los extractos se envasaron en frascos de vidrio ámbar y se almacenaron a 4°C; la extracción con Soxhlet se hizo ocho días antes de la preparación de las cajas ([Gamboa-Alvarado et al., 2003](#))

Los hongos fitopatógenos utilizados en este trabajo fueron *Fusarium oxysporum*, *F. solani* y *Rhizoctonia solani*. Estos microorganismos fueron aislados de cultivos locales de Jitomate (*Solanum lycopersicum*), e identificados mediante técnicas moleculares. La extracción del DNA se hizo siguiendo el protocolo descrito por [Reader y Broda \(1989\)](#). Se amplificó la secuencia de la región interna del transcrito del 18S Rdna, usando los oligos universales ITS1 (5'TCC GTA GGT GAA CCT GCG G 3') y el ITS4 (5'TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3'), diseñados por [White et al., \(1990\)](#). Los productos del PCR fueron clonados en el vector pGEM-Teasy, siguiendo las instrucciones del fabricante (Promega 2015); se secuenciaron por el método de Sanger en el Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C. Una vez secuenciados los ITS se analizaron con BLAST

(Basic Local Alignment Search Tool) ([Morgulis et al., 2008](#)) en el NCBI (National Center for Biotechnology Information) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>.

Evaluación *in vitro* de los extractos vegetales contra fitopatógenos

La evaluación del efecto de los extractos (25 ppm) se hizo mediante el método de cultivo envenenado (Grover, 1962; [Gamboa-Alvarado et al., 2003](#)). Esta técnica consiste en incorporar el extracto vegetal en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA BD Bioxon® México) y medir el crecimiento micelial de los fitopatógenos *F. solani*, *F. oxysporum* y *R. solani*. Los tratamientos de los extractos de moringa, gobernadora, aguacate, cola caballo, boldo, gordolobo, prodigiosa, romero y costomate, se evaluaron colocando 500 µL (25ppm) de los extractos por caja Petri (20 mL); se incluyó como control agar sin extracto alguno (solo PDA). Se evaluó por triplicado cada uno de los extractos contra cada uno de los fitopatógenos (*R. solani*, *F. solani* y *F. oxysporum*), midiendo cada 24 h el crecimiento micelial con un vernier digital de precisión ± 0.001 ", ± 0.02 mm (Mitutoyo; 500-196-30C®).

Para cultivar los microorganismos se utilizó medio PDA, 39 g por litro de agua destilada estéril. En cajas Petri de 90 mm de diámetro se vertieron 20 mL de una mezcla PDA:EM (Papa Dextrosa Agar: Extracto Metanólico), en una proporción de 1:0.05; es decir, 500 µL de extracto por caja. Todo lo anterior en campana de flujo laminar (Marca LABCONCO® LABCO07283).

Después de este tiempo las cajas se inocularon con un explante de 5 mm de diámetro de PDA, con crecimiento del fitopatógeno y se incubaron en una cámara bioclimática a 25 °C (Marca Thermo Scientific® Mod 3949). Todas las pruebas se hicieron por triplicado en un diseño experimental completamente al azar.

Análisis de los datos

Con los datos obtenidos en la fase experimental se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial con la fórmula:

$$I. C. M. = [(Dc - Dt)/Dc] \times 100$$

dónde: I.C.M. es el porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio, Dc es el diámetro del micelio en el control y Dt = diámetro del micelio en el tratamiento.

Asimismo, se hizo el análisis de varianza (ANDEVA) y la comparación de medias múltiple de Tukey ($p \leq 0.05$). El análisis se hizo con el software estadístico Minitab 16® México.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar el efecto de los Extractos Metanólicos (EM) sobre *Fusarium oxysporum*, se observó diferencia estadística entre los tratamientos ($p \leq 0.05$). El EM de *L. tridentata* inhibió al 100 % el crecimiento del patógeno hasta por 144 h, y 90% hasta por 240 h; mientras que el de *R. officinalis* inhibió el 50.7% hasta 72 h, y 42.2 % por 144 h (cuadro

1). [López-Benítez et al.](#), en el 2005, presentaron resultados similares, en los que indican que los extractos de *Syzygium aromaticum* y *L. tridentata* al 10% inhiben el crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici*, hasta por 144 h. [Dania et al.](#), en el 2014, documentaron que los extractos acuosos (EA) de *Oryza sativa* y *Quercus phillyraeoides* al 1.5 y 2.5 % pueden inhibir *in vitro* totalmente el crecimiento de seis fitopatógenos, entre ellos *F. oxysporum*.

Por otra parte los extractos etanólicos (EE) de *Fluorensia cernua* (Hojasén), *F. microphylla* y *F. retinophylla* mostraron ser una alternativa efectiva para el control de *Fusarium oxysporum*, inhibiendo el 100 % su crecimiento, con una concentración de 1500 $\mu\text{L L}^{-1}$ ([Jasso de Rodríguez et al.](#), 2007).

Existen trabajos donde también se han evaluado Aceites Esenciales (AE) para el manejo de *F. oxysporum*; en ese sentido está el trabajo de [Ferdés et al.](#), en el 2017, con AE de *R. officinalis*, en una concentración de 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ se inhibe el 93 % del crecimiento de *F. oxysporum*; mientras que con 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de los AE de *P. anisum* y *S. hortensis* se inhibe totalmente el crecimiento de *F. oxysporum*. Asimismo [Vásquez et al.](#), en el 2014, concluyeron que los AE de *Chenopodium ambrosioides* al 2% y *Chenopodium album* al 0.03 %, inhiben por completo el crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici*, hasta por 11 días.

Cuadro 1. Inhibición del crecimiento micelial (ICM, %) de *Fusarium oxysporum* con diferentes extractos metanólicos a 72, 144 y 240 h, después del inicio del experimento

Extracto vegetal	72 h		144 h		240 h	
<i>L. tridentata</i>	100.0 $\pm$ 0.0	a	100.0 $\pm$ 0.0	a	89.4 $\pm$ 0.3	a
<i>B. squarrosa</i>	39.8 $\pm$ 4.4	bc	38.6 $\pm$ 2.3	bc	31.7 $\pm$ 2.7	b
<i>G. semiamplexicaule</i>	24.6 $\pm$ 2.3	cd	28.3 $\pm$ 1.2	cd	24.2 $\pm$ 2.4	bc
<i>P. americana</i>	25.1 $\pm$ 5.4	cd	26.3 $\pm$ 2.2	d	12.9 $\pm$ 4.9	cd
<i>P. boldus</i>	26.0 $\pm$ 3.9	cd	24.5 $\pm$ 4.1	d	11.7 $\pm$ 2.7	cd
<i>P. coztomatli</i>	24.8 $\pm$ 4.2	cd	27.4 $\pm$ 1.5	cd	9.2 $\pm$ 4.0	bc
<i>M. oleifera</i>	19.7 $\pm$ 3.4	d	17.1 $\pm$ 2.9	d	4.0 $\pm$ 1.4	d
<i>R. officinalis</i>	50.7 $\pm$ 2.9	b	42.2 $\pm$ 1.5	b	29.6 $\pm$ 2.2	b

Medias con letra diferente indican diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$).

En este estudio, el EM de *L. tridentata* inhibió el crecimiento de *F. oxysporum*, hasta por 144 h, seguido en efectividad por el de *R. officinalis* y *B. squarrosa*. Con estos tratamientos se inhibe el crecimiento micelial hasta 80 %, comparado con el control negativo (cuadro 2). Estos resultados coinciden con los reportados por [Osorio et al.](#), en el 2010, ellos concluyen que con una concentración de 0.7 mg kg^{-1} *L. tridentata* inhibe el 100% el crecimiento de *F. oxysporum* *in vitro*.

En los resultados de los extractos sobre *Fusarium solani*, mediante el ANDEVA y la comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$), se observó diferencia estadística significativa entre los tratamientos. El EM de *L. tridentata* inhibió el 100% del crecimiento de *F. solani*, hasta por diez días; mostrando un efecto de inhibición importante sobre este fitopatógeno.

Lo anterior es relevante si se considera que hay productos químicos que se aplican una o más veces por semana y no logran estos resultados, incluso en condiciones de laboratorio no logran inhibir al 100% el crecimiento del micelio, tal como lo reportan Yossen y Conles en el 2016, que en su trabajo con moléculas comerciales, alcanzan una inhibición de entre el 60 y el 97%. El EM de *R. officinalis* evaluado en este trabajo inhibió en un 70 % el crecimiento del micelio, respecto al control hasta por 144 h. Este dato es similar al obtenido con extractos acuosos de *Prosopis juliflora* y *Lantana camara*, que consiguen un 80 y 69% de inhibición micelial, respectivamente (Seetha et al., 2010). Asimismo, los estudios de David et al., en el 2013, reportan que el EM de botones florales de *Calotropis gigantea* al 25%, reduce 68% el crecimiento de *F. solani*.

Cuadro 2. Crecimiento micelial promedio (mm) de *Fusarium oxysporum* con diferentes extractos metanólicos a 72, 144 y 240 h, después del inicio del experimento

Extracto vegetal	72 h	144 h	240 h
Agar	22.3 ± 0.4 a	44.4 ± 0.7 a	65.9 ± 0.7 a
<i>L. tridentata</i>	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 e	7.0 ± 0.2 e
<i>B. squarrosa</i>	13.4 ± 1.0 cd	27.3 ± 1.0 cd	45.0 ± 1.7 d
<i>R. officinalis</i>	11.0 ± 0.6 d	25.7 ± 0.6 d	46.4 ± 1.4 d
<i>G. semiamplexicaule</i>	16.8 ± 0.5 bc	31.8 ± 0.5 bc	50.0 ± 1.6 cd
<i>P. coztomatl</i>	16.8 ± 0.9 bc	32.3 ± 0.7 bc	53.3 ± 2.6 cd
<i>E. hymale</i>	18.2 ± 0.1 b	35.4 ± 1.5 b	56.7 ± 1.7 bc
<i>P. americana</i>	16.7 ± 1.2 bc	32.7 ± 1.0 b	57.5 ± 3.2 abc
<i>P. boldus</i>	16.5 ± 0.9 bc	33.5 ± 1.8 b	58.3 ± 1.8 abc
<i>M. oleifera</i>	17.9 ± 0.8 b	36.8 ± 1.3 b	63.3 ± 0.9 ab

Medias con letra diferente indican diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$)

Cuadro 3. Inhibición del crecimiento micelial (ICM, %) de *Fusarium solani* con diferentes extractos metanólicos a 72, 144 y 240 h, después del inicio del experimento

Extracto vegetal	72 h	44 h	240 h
<i>L. tridentata</i>	100.0 ± 0.0 a	100.0 ± 0.0 a	100.0 ± 0.0 a
<i>R. officinalis</i>	64.7 ± 0.9 b	70.2 ± 0.3 b	58.5 ± 1.7 b
<i>B. squarrosa</i>	37.9 ± 0.4 c	37.2 ± 1.3 c	11.8 ± 0.9 c
<i>P. coztomatl</i>	26.5 ± 1.2 de	28.5 ± 1.8 d	5.7 ± 0.4 d
<i>P. americana</i>	26.9 ± 2.5 de	28.4 ± 1.2 d	0.5 ± 0.5 e
<i>P. boldus</i>	31.2 ± 1.2 cd	30.8 ± 0.3 d	0.0 ± 0.0 e
<i>G. semiamplexicaule</i>	26.3 ± 2.0 de	28.1 ± 0.3 d	0.0 ± 0.0 e
<i>M. oleifera</i>	22.6 ± 3.4 de	15.5 ± 0.9 f	0.0 ± 0.0 e
<i>E. hymale</i>	21.5 ± 2.4 e	22.2 ± 0.6 e	0.0 ± 0.0 e

Medias con letra diferente indican diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$)

Es importante contar con opciones ecológicas para el control de hongos fitopatógenos, como las exploradas en este trabajo. En esta investigación, los resultados con el EM de *L. tridentata* coincidieron con los de Osorio et al., en el 2010, quienes utilizaron extractos polifenólicos de *L. tridentata*, y consiguen inhibir el 100 % del crecimiento de *F. solani*, con una concentración de 0.70 mg L⁻¹.

En un estudio conducido por [Vásquez et al., \(2014\)](#), se evaluó el efecto fungistático de extractos acuosos (EA) y aceites esenciales (AE) de especies del género *Chenopodium* sobre *F. solani*; los autores concluyeron que el AE de *Chenopodium ambrosioides* al 2% y *Chenopodium album* al 0.03% inhiben por completo el crecimiento de *F. solani*, hasta por 11 días; mientras que en este trabajo *L. tridentata* lo inhibió al 100% hasta por 10 días. Otro caso con resultados similares sobre *Fusarium* spp. fue el trabajo de [Duarte et al., en el 2013](#), quienes con aceites esenciales de *Piper aduncum* subsp. *ossanum* y *Piper aurintum* inhiben totalmente el crecimiento de este hongo.

Por otra parte, Zaker (2014) concluyó que el EM de hojas de *Artemisia annua* al 15%, es capaz de inhibir el crecimiento de *F. solani*; mientras que en el presente trabajo en EM de *L. tridentata* inhibió al 100% el crecimiento de *F. solani*, seguido de los extractos de *R. officinalis* y *B. squarrosa*; los cuales, aunque en menor proporción también lo inhiben (cuadro 4).

Cuadro 4. Crecimiento micelial promedio (mm) de *Fusarium solani*, con diferentes extractos metanólicos a 72, 144 y 240 h, después del inicio del experimento

Extracto vegetal	72 h	144 h	240 h
Agar	30.1 ± 0.4 a	66.6 ± 0.7 a	80.0 ± 0.0 a
<i>L. tridentata</i>	0.0 ± 0.0 f	0.0 ± 0.0 g	0.0 ± 0.0 e
<i>R. officinalis</i>	10.6 ± 0.3 e	19.8 ± 0.2 f	33.2 ± 1.3 d
<i>B. squarrosa</i>	18.7 ± 0.1 d	41.9 ± 0.9 e	70.5 ± 0.8 c
<i>P. coztomatl</i>	22.1 ± 0.3 bc	47.6 ± 1.2 d	75.5 ± 0.3 b
<i>P. americana</i>	22.0 ± 0.8 bc	47.7 ± 0.8 d	79.6 ± 0.4 a
<i>P. boldus</i>	20.7 ± 0.4 cd	46.1 ± 0.2 d	80.0 ± 0.0 a
<i>G. semiamplexicaule</i>	22.2 ± 0.6 bc	47.9 ± 0.2 d	80.0 ± 0.0 a
<i>M. oleifera</i>	23.3 ± 1.0 bc	56.3 ± 0.6 b	80.0 ± 0.0 a
<i>E. hymale</i>	23.7 ± 0.7 b	51.8 ± 0.4 c	80.0 ± 0.0 a

Medias con letra diferente indican diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$)

El extracto metanólico (EM) de *L. tridentata*, inhibe hasta el 100% del crecimiento de *Rhizoctonia solani*, durante los primeros diez días. Lo anterior indica que este extracto es un fungistático eficaz. Con el ANDEVA y la comparación de medias de Tukey con una significancia del 95% se observó diferencia estadística significativa entre tratamientos, ya que además de *L. tridentata*, el EM de *R. officinalis* también presenta un porcentaje de inhibición destacable, causa un efecto fungistático del 56 y 48% a las 144 h y 240 h, respectivamente (cuadro 5).

Controlar el crecimiento de hongos fitopatógenos con extractos vegetales, representa un gran avance en materia de protección vegetal, en el caso de *Rhizoctonia solani*; [Gamboa-Alvarado et al., en el 2003](#) reportaron resultados similares a los obtenidos en este trabajo de investigación; encontraron que el EM de *Fluorensia cernua* (Hojasén) a una concentración de 20 000 mg L⁻¹, inhibe 85 % el crecimiento de este hongo hasta por 96 horas, respecto al control. [López-Benítez et al., en el 2005](#), con extractos acuosos de *L. tridentata* y *Cinnamomum zeylanicum* al 10 %; de *Syzygium aromaticum* al 5 %, lograron

inhibir *in vitro* el crecimiento hasta por 144 h, y con el extracto acuoso de *Quercus phillyraeoides* al 3.5% inhibieron en 94% el crecimiento del fitopatógeno. De igual manera el extracto alcaloideo de *Lupinus mexicanus* contra *R. solani* en una concentración de 5 mg mL⁻¹ inhibe al 100% su crecimiento (Zamora-Natera *et al.*, 2008). Jasso de Rodríguez *et al.*, (2007) mencionan que los extractos etanólicos de *Flourensia cernua* y *F. retinophylla* a una concentración de 1000 µL L⁻¹ inhiben su crecimiento; de igual manera Al-Reza *et al.*, en el 2010, determinaron que el AE de *Cestrum nocturnum* tiene un alto poder fungistático capaz de inhibir hasta 80% el crecimiento de *R. solani*; también Toubá *et al.*, en el 2012, encontraron que el EA de *Kaempferia galanga* puede inhibirlo totalmente. Por otra parte, Dania *et al.*, en el 2014, demuestran que el extracto acuoso de *Oryza sativa* Husk al 1%, *in vitro*, inhibe totalmente el crecimiento de este fitopatógeno.

Cuadro 5. Inhibición del crecimiento micelial (ICM, %) en el tiempo de *Rhizoctonia solani* con diferentes extractos metanólicos a 72, 144 y 240 h, después del inicio del experimento

Extracto vegetal	72 h		144 h		240 h	
<i>L. tridentata</i>	100.0 ± 0.0	a	100.0 ± 0.0	a	100.0 ± 0.0	a
<i>R. officinalis</i>	56.8 ± 0.9	b	56.2 ± 1.9	b	48.0 ± 3.0	b
<i>B. squarrosa</i>	32.7 ± 1.7	c	23.2 ± 2.2	c	17.8 ± 2.2	c
<i>P. americana</i>	24.5 ± 1.6	c	19.1 ± 1.2	cd	8.1 ± 1.3	d
<i>P. coztomatl</i>	26.9 ± 3.9	c	21.6 ± 1.4	cd	7.5 ± 1.1	d
<i>P. boldus</i>	28.7 ± 2.2	c	21.3 ± 1.1	cd	7.5 ± 2.3	d
<i>E. hymale</i>	25.9 ± 1.9	c	18.5 ± 0.2	cd	2.7 ± 0.9	d
<i>M. oleifera</i>	24.4 ± 3.1	c	17.0 ± 3.9	cd	1.8 ± 0.9	d
<i>G. semiamplexicaule</i>	23.8 ± 0.7	c	14.1 ± 1.3	d	1.1 ± 0.5	d

Medias con letra diferente indican diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$)

Cuadro 6. Crecimiento micelial promedio (mm) de *Rhizoctonia solani*, con diferentes extractos metanólicos a 72, 144 y 240 h, después del inicio del experimento

Extracto vegetal	72 h		144 h		240h	
Agar	19.9 ± 0.2	a	45.8 ± 0.2	a	80.0 ± 0.0	a
<i>L. tridentata</i>	0.0 ± 0.0	d	0.0 ± 0.0	e	0.0 ± 0.0	e
<i>R. officinalis</i>	9.6 ± 0.2	c	19.5 ± 0.8	d	34.3 ± 2.0	d
<i>B. squarrosa</i>	15 ± 0.4	b	34.1 ± 1.0	c	54.2 ± 1.5	c
<i>E. hymale</i>	16.5 ± 0.4	b	36.2 ± 0.1	bc	64.2 ± 0.6	b
<i>G. semiamplexicaule</i>	17 ± 0.1	b	38.1 ± 0.6	b	65.2 ± 0.3	b
<i>M. oleifera</i>	16.9 ± 0.7	b	36.9 ± 1.7	bc	64.7 ± 0.6	b
<i>P. americana</i>	16.8 ± 0.3	b	35.9 ± 0.5	bc	60.6 ± 0.9	b
<i>P. boldus</i>	15.9 ± 0.5	b	34.9 ± 0.5	bc	61.0 ± 1.5	b
<i>P. coztomatl</i>	16.3 ± 0.9	b	34.8 ± 0.6	bc	61.0 ± 0.7	b

Medias con diferente letra indican diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$)

CONCLUSIÓN

El extracto metanólico de gobernadora (*Larrea tridentata*), es efectivo para inhibir el crecimiento de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*, hasta por diez días. De igual manera se concluye que el extracto metanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero), se puede usar para el manejo de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*, con menor efectividad que el de gobernadora.

Agradecimientos

Al proyecto de Fondos Mixtos FOMIX-SLP (FMSLP-2013-C01-209337) por el financiamiento de este trabajo de investigación. Al Ing. Fernando Mendoza González y a la M.C. Sonia Castillo Gutiérrez, por su colaboración en la revisión del documento de informe de resultados. Al Centro para la Integración del Desarrollo Agroecológico y Sostenibilidad "El Humedal" en Valle de Bravo, estado de México, por las facilidades brindadas.

LITERATURA CITADA

AL-REZA S, Rahman A, Ahmed Y, Kang S. 2010. Inhibition of plant pathogens *in vivo* and *in vitro* with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. *Pestic. Biochem. Physiol.* 96: 86-92. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2009.09.005>

BAÑUELOS-VALENZUELA R, Delgadillo-Ruiz L, Echavarría-Cháirez F, Delgadillo-Ruiz O, Meza-López C. 2018. Composición química y FTIR de extractos etanólicos de *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare*, *Artemisa ludoviciana* y *Ruta graveolens*. *Agrociencia*, 52(3), 309-321. <http://www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2018/abr-may/art-2.pdf>

CÁCERES RUEDA DE LEON I, Colorado R, Salas E, Muñoz L, Hernández L. 2013. Actividad Antifúngica *in vitro* de Extractos Acuosos de especias contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger*. *Rev. Mex. Fitopatol.* 31:105-112. ISSN 0185-3309. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092013000200003

CANETT-ROMERO R, Arvayo-Mata KL, Ruvalcaba-Garfias NV. 2014. Aspectos tóxicos más relevantes de *Moringa oleifera* y sus posibles daños. *Biotecnia*, 16(2), 36-43. <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/45/41>

CERQUEIRA M, Barcellos H, Bueno P, Aires J, Dummer M. 2016. Antifungal activity of plants extracts with potential to control plant pathogens in pineapple. *Asian Pac J Trop Biomed.* 6:26-31. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.09.026>

DANIA V, Fadnia O, Ayodele M, Kumar L. 2014. Efficacy of *Oryza sativa* husk and *Quercus phillyraeoides* extracts for the *in vitro* and *in vivo* control of fungal rot disease of white yam (*Discorea rotundata* Poir). *SpingerPlus.* 3:711. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-711>

DAVID M, Kumar R, Bhavani M. 2013. Experimental studies on active metabolites of *Calotropis gigantea* for evaluation of possible antifungal properties. *Int. Res. J. Pharm.* 4:250-254.

https://www.researchgate.net/publication/239524862_Experimental_Studies_on_active_metabolites_of_Calotropis_gigantea_for_evaluation_of_possible_antifungal_properties

DE QUEIROZ GM, Politi FA, Rodrigues ER, Souza-Moreira TM, Moreira RR, Cardoso CR, Pietro RC. 2015. Phytochemical characterization, antimicrobial activity, and antioxidant potential of *Equisetum hyemale* L.(Equisetaceae) extracts. *Journal of medicinal food*, 18(7), 830-834.

<https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/jmf.2014.0089>

DEL PUERTO RODRIGUEZ AM, Suárez Tamayo S, Palacio Estrada DE. 2014. Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología.* 52(3): 372-387.

https://www.researchgate.net/publication/317518438_Efectos_de_los_plaguicidas_sobre_el_ambiente_y_la_salud

DUARTE Y, Pino O, Martínez B. 2013. Efecto de cuatro aceites esenciales sobre *Fusarium* spp. *Rev. Prot. Veg.* 28:232-235.

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522013000300013

FERDES M, Al Juhaimi F, Özcan M, Ghafoor K. 2017. Inhibitory effect of some plant essential oils on growth of *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Mucor pusillus* and *Fusarium oxysporum*. *S. Afr. J. Bot.* 113: 457-460. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.09.020>

GAMBOA-ALVARADO R, Hernández-Castillo F, Guerrero-Rodríguez E, Sánchez-Arizpe A. 2003. Inhibición del crecimiento Micelial de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora infestans* Mont. (De Bary) con extractos vegetales Metanólicos de Hojasén (*Flourensia cernua* D.C.), mejorana (*Origanum majorana* L.) y trompetilla [*Bouvardia ternifolia* (Ca.) Schlecht.]. *Rev. Mex. Fitopatol.* 21:13-18. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61221102.pdf>

GARCÍA R. 2010. Agroecología y enfermedades de la raíz en cultivos agrícolas. Editorial COLPOS. México. Pp. 130. ISBN: 9786077699088.

GROVER RK, More JD. 1962. Toxicometric studies of fungicides against the brown rot organism *Sclerotinia fructivola* and *Sclerotinia laxa*. *Phytopathology.* 52:876-880.

- HENAO J, Muñoz LJ, Ríos E, Padilla L, Giraldo GA. 2009. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de la planta *Lippia origanoides* HBK cultivada en el Departamento del Quindío. *Rev Invest Univ Quindío*, 19, 159-64. http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/f4d9_n1918.pdf
- JASSO DE RODRIGUEZ D, Hernández-Castillo D, Angulo-Sánchez JL, Rodríguez-García R, Villarreal-Quintanilla JA, Lira-Saldívar RH. 2007. Antifungal activity in vitro of *Flourensia* spp. extracts on *Alternaria* sp., *Rhizoctonia solani*, and *Fusarium oxysporum*. *Ind. Crop. Prod.* 25(2):111-116. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.08.007>
- LIRA-SALDÍVAR R, Balvantín-García G, Hernández-Castillo F, Gamboa-Alvarado R, Jasso-de-Rodríguez D, Jiménez-Díaz F. 2003. Evaluation of Resin Content and the Antifungal Effect of *Larrea tridentata* (Sesse and Moc. Ex D.C.) Coville Extracts from Two Mexican Deserts Against *Phythium* sp. Pringsh. *Rev. Mex. Fitopatol.* 21:97-101. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221201>
- LÓPEZ-BENÍTEZ A, López-Betancourt S, Vázquez-Badillo M, Rodríguez-Herrera S, Mendoza-Elos M, Padrón-Corral E. 2005. Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* schlehtend. F. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia Solani* Kühn y *Verticullium dahliae* kleb mediante extractos vegetales acuosos. *Rev. Mex. Fitopatol.* 23:183-190. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61223212>
- MAZUTTI M, Mossi AJ, Cansian RL, Corazza ML, Dariva C, Oliveira JV. 2008. Chemical profile and antimicrobial activity of Boldo (*Peumus boldus* Molina) extracts obtained by compressed carbon dioxide extraction. *Brazilian Journal of Chemical Engineering.* 25(2), 427-434. https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-6322008000200020&script=sci_arttext
- MORGULIS A, Coulourios G, Raytselis Y, Madden TL, Agarwala R, Schäffe AA. 2008. Database indexing for production MegaBLAST searches. *Bioinformatics* vol. 24, no 16, p. 1757-1764. <https://academic.oup.com/bioinformatics/article/24/16/1757/202524>
- OSORIO E, Flores M, Hernández D, Ventura J, Rodríguez R, Aguilar C. 2010. Biological efficiency of polyphenolic extracts from pecan nuts Shell (*Carya illinoensis*), pomegranate husk (*Punica granatum*) and creosote bush leaves (*Larrea tridentata* Cov.) against plant pathogenic fungi. *Ind. Crop. Prod.* 31:153-157. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.09.017>
- PROMEGA 2015. Technical manual. pGEM®-T y pGEM®- T Easy Vector Systems. Instructions for use of products. <https://worldwide.promega.com/products/pcr/pcr-cloning/pgem-t-easy-vector-systems/?catNum=A1360>

RAEDER U, Broda P. 1985. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. Letters in Applied Microbiology. vol. 1, no 1, p. 17-20. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1985.tb01479.x>

RODRÍGUEZ A, Ramírez M, Bautista S, Cruz A, Rivero D. 2012. Actividad antifúngica de extractos de *Acacia Farnesiana* sobre el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Revista Científica UDO Agrícola. 12:91-96. <http://www.bioline.org.br/pdf?cg12011>

ROZMAN T, Jersek B. 2009. Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of Listeria. Acta agriculturae Slovenica, 93(1), 51. <https://pdfs.semanticscholar.org/0ad5/a7c3ece5e98fa57738406ae2c819923cf3f0.pdf>

SÁNCHEZ LG, Vargas-Rincón A, Jiménez P. 2015. Evaluación de la actividad antifúngica de extractos etanólicos de dos morfotipos de *Raphanus raphanistrum* L. sobre tres hongos fitopatógenos. Bioagro, 27(1),3-10. <https://www.redalyc.org/pdf/857/85741584002.pdf>

SAMSIDAR A, Siddiquee S, Shaarani MS. 2018. A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs. Trends. Food. Sci. Technol. 71:188-201. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.011>

SEETHA J, Reddy R, Ramanjaneyulu R. 2010. Evaluation of certain plant extracts and antagonist against *Fusarium solani* and *Alternaria tenuissima*, the incitants od root rot and die-back diseases of Mulberry. Int. J. Indust. Entomol. 20:1-5. <http://www.koreascience.or.kr/article/JAKO201019451499104.page>

STASHENKO EE, Jaramillo BE, Martínez JR. 2003. Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante in vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia Verbenaceae. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 27 (105): 579-597. ISSN 0370-3908. http://www.accefyn.com/revista/Vol_27/105/8-COMPARACION.pdf

TAMILSELVI N, Arumugam T. 2017. Breeding Approaches for Sustainable Vegetable Production—A Review. Int. J. Curr. Microbiol. App. 6:2845-2860. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.336>

TOUBA E, Zakaria M, Tahereh E. 2012. Anti-fungal activity of cold and hot water extracts of spices against fungal pathogens of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) *in vitro*. Microb. Pathog. 52:125-129. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2011.11.001>

VÁSQUEZ D, Montes R, Jiménez A, Flores HE. 2014. Aceites esenciales y extractos acuosos para el manejo *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *F. solani*. Rev. Mex. Fitopatol. 31:170-179. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092013000200008

WHITE TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. pp. 315-322 In: Innis, M. A.; Gelfand, D. H.; Sninsky, J. J.; White, T. J. (Eds.). PCR Protocols; A Guide to Methods and Applications, Academic Press, Inc., New York.

http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/f4d9_n1918.pdf

YOSSEN VE, Conles MY. 2016. Eficacia de fungicidas in vitro para el control de *Fusarium oxysporum* y *F. proliferatum*, agentes causales de marchitamiento en el cultivo de orégano en la Argentina. Revista industrial y agrícola de Tucumán, 91(1), 19-25. <https://riat.eeaoc.org.ar/ojs/index.php/riat/article/view/v91n1a03/33>

ZAKER M. 2014. Antifungal evaluation of some plant extracts in controlling *Fusarium solani*, the causal agent of potato dry rot *in vitro* and *in vivo*. *Inter. J. Agri. Biosci.* 3:190-195. www.ijagbio.com

ZAMORA-NATERA F, García-López P, Ruíz-López M, Salcedo-Pérez E. 2008. Composición de alcaloides en semilla de *Lupinus mexicanus* (Fabaceae) y evaluación antifúngica y alelopática del extracto alcaloideo. *Agrociencia.* 42:185-192. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1405-31952008000200006&lng=es&nrm=iso