



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

FACULTAD DE INGENIERÍA

TESIS

**“ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE
EXTRACTOS VEGETALES EN EL
JITOMATE”**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS EN
DESARROLLO SUSTENTABLE Y
GESTIÓN DE RIESGOS**

PRESENTA

GLADYS DEL CARMEN HERNÁNDEZ ELERIA

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Noviembre de 2019



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

FACULTAD DE INGENIERÍA

TESIS

**“ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE
EXTRACTOS VEGETALES EN EL
JITOMATE”**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS EN
DESARROLLO SUSTENTABLE Y
GESTIÓN DE RIESGOS**

PRESENTA

GLADYS DEL CARMEN HERNÁNDEZ ELERIA

DIRECTOR

DR. MIGUEL ÁNGEL SALAS MARINA

CODIRECTOR

DR. VIDAL HERNÁNDEZ GARCÍA

ASESORES

DR. CLAUDIO RIOS VELASCO

DRA. CAROLINA ORANTES GARCÍA

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Noviembre de 2019



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS
DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas a 20 de noviembre de 2019
Oficio No. DGIP/0430/2019
Asunto: Autorización de impresión de tesis

C. Gladys del Carmen Hernández Eleria
Candidata al Grado de Maestra en Ciencias en Desarrollo
Sustentable y Gestión de Riesgos
UNICACH
Presente

Con fundamento en la **opinión favorable** emitida por escrito por la Comisión Revisora que analizó el trabajo terminal presentado por usted, denominado "**ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS VEGETALES EN EL JITOMATE**", mismo que cumple con los criterios metodológicos y de contenido, esta Dirección a mi cargo **autoriza la impresión del documento** en cita, para la defensa oral del mismo, en el examen que habrá de sustentar para obtener el **Grado de Maestra en Ciencias en Desarrollo Sustentable y Gestión de Riesgos**.

Es imprescindible observar las características normativas que debe guardar el documento impreso, así como realizar la entrega en esta Dirección de un ejemplar empastado.

Respetuosamente
"Por la Cultura de mi Raza"

Dr. Ricardo David Estrada Soto
Director General



DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN
Y POSGRADO



C.c.p. Lic. Aurora E. Serrano Roblero, Secretaria Académica UNICACH, - Para su conocimiento
Dr. Roberto Horacio Albores Arzate, Director de la Facultad de Ingeniería UNICACH, - para su conocimiento
Expediente
*RDES/rags

Ciudad Universitaria. Lib. Norte Poniente núm. 1150
Colonia Lajas Maciel Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México
C.P. 29039 Tel: (01 961) 61 70 440 Ext. 4360
investigacionyposgrado@unicach.mx

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por los conocimientos y sabiduría liberados.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo otorgada durante el periodo que realicé mis estudios de postgrado.

A la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas por aceptarme y permitirme realizar mis estudios, así como a la Coordinación de Maestría en Ciencias en Desarrollo Sustentable y Gestión de Riesgos.

A mi director y asesores de tesis, por haberme guiado, no solo en la elaboración de este trabajo de investigación, sino por haberme brindado el apoyo para desarrollarme profesionalmente, que gracias a sus consejos y correcciones hoy puedo culminar este trabajo.

Al Dr. Claudio Ríos (CIAD, Cuauhtémoc Chihuahua), por recibirme en la estancia académica además por haberme abierto las puertas de su laboratorio y a su equipo de trabajo, su apoyo, paciencia y conocimientos para que ésta etapa de mi vida finalizara.

A los Profesores que me han visto crecer como persona, y gracias a sus conocimientos hoy puedo sentirme dichosa y contenta.

A mi familia, en especial a mi madre y abuelos, a pesar de nuestra distancia física, siento que están conmigo siempre y aunque nos faltaron muchas cosas por vivir juntos, sé que este momento hubiera sido tan especial para ustedes como lo es para mí.

A Balta, por compartir momentos significativos conmigo y por siempre estar dispuesto a escucharme y ayudarme en cualquier momento.

A mis hermanos y sobrinos por llenarme de alegría día tras día, por compartir momentos.

A mis amigos, Con todos los que compartí dentro y fuera de las aulas. Aquellos amigos de la uní, que se convirtieron en amigos de vida, gracias por todo su apoyo y diversión.

Dedicatoria

A mi madre, Pasaste como una estrella fugaz en nuestras vidas, pero tu luz brillara por siempre en nuestros corazones.

A mis abuelos, quienes sé que desde el cielo me cuidan y se sienten orgullosos de ver en lo que me estoy convirtiendo.

A mi gran familia de sangre y de cariño, los que siguen y a los que he dejado atrás; por ustedes

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	i
ÍNDICE DE CUADROS.....	iv
RESUMEN.....	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
III. MARCO TEÓRICO.....	7
3.1. Desarrollo Sustentable.....	7
3.2. Origen e Importancia del cultivo del jitomate	8
3.2.1. El Cultivo de jitomate en México	8
3.2.2. Principales enfermedades causadas por hongos que afectan al jitomate en pre y poscosecha	9
3.2.2.1. Marchitez vascular por <i>Fusarium oxysporum</i>	9
A. Síntomas de la enfermedad.....	9
B. Importancia económica	10
3.2.2.2. Tizón temprano causado por <i>Alternaria solani</i>	10
A. Síntomas de la enfermedad.....	10
B. Importancia económica	11
3.2.3. Control de los hongos fitopatógenos en el jitomate.....	11
3.3. Importancia de los extractos vegetales.....	12
3.4. Mecanismo de acción de los metabolitos secundarios	13
3.4.1. Fenoles	13
3.4.2. Taninos	13
3.4.3. Cumarinas.....	14
3.4.4. Flavonoides.....	14
3.4.5. Terpenos	15
3.4.6. Saponinas	15
3.4.7. Alcaloides.....	16
3.5. Extracción de compuestos en plantas	16
3.6. Preparación previa a la extracción de muestras vegetales.....	17
3.6.1. Muestras frescas vs muestras secas	17

6.1.2. Identificación morfológica de las fuentes botánicas	34
6.1.2.1. Preparación de los extractos de plantas	35
6.1.2.2. Rendimiento de los extractos vegetales	35
6.1.2.3. Preparación de los extractos vegetales para los bioensayos	36
6.2. Actividad fungistática <i>in vitro</i> de los extractos contra <i>F. oxysporum</i>	36
6.3. Bioensayo de efectividad biológica de los extractos contra <i>A. solani</i> en poscosecha.....	37
6.4. Identificación de grupos funcionales por Espectroscopía Infrarroja con Transformación de Fourier (FTIR)	39
6.5. Análisis estadístico	40
VII. RESULTADOS.....	41
7.1. Rendimientos de los extractos vegetales.....	41
7.2. Actividad fungistática <i>in vitro</i> de los extractos sobre el crecimiento de <i>F.</i> <i>oxysporum</i>	42
7.3. Extractos de plantas inhiben el crecimiento de <i>Alternaria solani</i> en frutos de jitomate	46
7.3.1. Diámetro y tamaño de lesión.....	46
7.3.1. Severidad	47
7.3.2. Incidencia	48
7.3.3. Efectividad de los extractos.....	49
7.3.4. Micromorfología de <i>A. solani</i>	50
7.4. Caracterización química por Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) de los extractos vegetales.....	51
7.4.1. <i>E. cyclocarpum</i>	52
7.4.2. <i>E. myriochaetum</i>	54
7.4.3. <i>C. brasiliense</i>	56
7.4.4. <i>P. piscipula</i>	58
7.4.5. <i>S. scandens</i>	60
VIII. DISCUSIONES	63
8.1. Rendimiento de los extractos vegetales	63
8.2. Actividad biológica contra <i>F. oxysporum</i>	65
8.3. Actividad biológica contra <i>A. solani</i>	68

8.4. Grupos funcionales encontrados en los extractos por Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR).....	72
IX. CONCLUSIONES	77
X. LITERATURA CITADA.....	79
XI. ANEXOS	104
11.1. Identificación morfológica de las fuentes botánicas	104
11.2. Morfología del tallo de <i>S. scandens</i>	105
11.3. Inflorescencia de la fuente botánica <i>S. scandens</i>	105

INDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Morfología de *Enterolobium cyclocarpum*. Tomada de Vozzo (2002). ... 18
- Figura 2.** Morfología de *Equisetum hyemale* var. affine; A. hábito, B. nudo con la vaina de hojas persistentes. C. tallo. D. base de la rama. E. estróbilo. F y G. vista lateral e interna de un esporangióforo. Tomado de Riba & Lira (1996). 21
- Figura 3.** Morfología de *Calophyllum brasiliense*. a, rama con frutos; b, base de la hoja; c, inflorescencia; d, flor; e, pétalo; f, estambres. Ilustración de Manuel Escamilla basada en los ejemplares G. Ibarra M. 1742 y J.V. LaFrankie 1315 25
- Figura 4.** Rama de *Piscidia erythrina* mostrando hojas y flores. Tomado de Kohler's Medicinal Pflanz, Banda III, pág. 196. 28
- Figura 5.** Morfología de *Salmea scandens* (L.) DC. A, Parte superior de la planta. B, inflorescencia completa. C, corte longitudinal de la inflorescencia. D, flor con escama, E, Estambres y estilo. F, Aquenio maduro. Tomado de Fawcett & Rendle, (1936). 31
- Figura 6.** Porcentaje de rendimiento de los extractos vegetales obtenido con tres técnicas de extracción Soxhlet, Ultrasonido asistido y maceración, con tres diferentes solventes (agua, acetona, éter etílico) A: *Enterolobium cyclocarpum*, B: *Equisetum myriochaetum*, C: *Calophyllum.brasiliense*, D: *Piscidia piscipula* y *Salmea scandens*. Las medias que comparten la misma literal en técnicas y en cada solvente son estadísticamente iguales de acuerdo con Tukey ($p \leq 0,05$). 42
- Figura 7.** Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Fusarium oxysporum* por diferentes concentraciones de extractos, obtenidos con diferentes técnicas de extracción y solventes. A. Maceración-acetona *S. scandens*, Maceración-agua *P. piscipula* y *E. cyclocarpum*; B. Soxhlet-acetona *S. scandens*, Soxhlet-Éter etílico *P. piscipula*; C. UAE-Ultrasonido asistido-Agua *S. scandens*, después de 12 d de interacción..... 44
- Figura 8.** Representación esquemática del efecto de los extractos vegetales sobre el crecimiento radial de *Fusarium oxysporum* en medio envenenado a 5000 ppm después de 13 d de interacción. A: Maceración-agua *Enterolobium cyclocarpum*; B: Ultrasonido asistido (UAE)-agua *Salmea scandens*; C: Soxhlet-Éter E *Piscidia*

piscipula; D: Maceración-agua *P. piscipula*; E: Soxhlet-acetona *S. scandens*; F: Maceración-acetona *S. scandens*; G: Testigo absoluto. 45

Figura 9. Representación esquemática de los efectos de los extractos vegetales obtenidos por maceración-acetona a 5000 ppm sobre el diámetro de la lesión causada por *Alternaria solani* (después de 5 d). (A): Frutos inoculados con DMSO-*A. solani*, (B): frutos con *A. solani* y el fungicida comercial (Himexazol); (C): Extracto de *Enterolobium cyclocarpum*; (D) Extracto de *Calophyllum brasiliense*; (E) extracto de *Salmea scandens*; (F) Grafica del tamaño del diámetro de la lesión, (G) extracto de *Equisetum myriochaetum* y (H) extracto de *Piscidia piscipula*, las medias \pm errores estándar marcados con letras diferentes en el histograma indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0,05$). 47

Figura 10. Representación esquemática de la severidad y el daño interno por *Alternaria solani* en frutos de jitomate tratadas con diferentes extractos a 5000 ppm obtenidos por maceración-acetona después de cinco días de interacción. (A): Frutos inoculados con DMSO-*A. solani*, (B): frutos con *A. solani* y el fungicida comercial (Himexazol); (C): frutos con extracto de *Enterolobium cyclocarpum*; (D) frutos con extracto de *Calophyllum brasiliense*; (E) frutos con extracto de *Salmea scandens*; (F) frutos con extracto de *Equisetum myriochaetum* y (G) frutos con extracto de *Piscidia piscipula*. 48

Figura 11. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Alternaria solani* a concentraciones de 5000 ppm de extractos obtenido con la técnica de maceración-acetona después de cinco días de interacción. Las medias que comparten la misma literal en técnicas y en cada solvente son estadísticamente iguales de acuerdo con Tukey ($p \leq 0,05$). 50

Figura 12. Representación con microfotografías de cambios morfológicos en el desarrollo del micelio y producción de conidias de *Alternaria solani* por el efecto de los extractos observadas a 1000X magnificaciones. 51

Figura 13. Espectros del extracto de *Enterolobium cyclocarpum* obtenidos por espectroscopía infrarroja por transformación de Fourier mediante reflectancia total atenuada universal. (A): Maceración (B). Soxhlet; (C) Ultrasonido asistido. 54

Figura 14. Espectros de los extractos de <i>Equisetum myriochaetum</i> obtenidos por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier mediante reflectancia total atenuada universal. (A): Maceración (B). Soxhlet; (C) Ultrasonido asistido.	55
Figura 15. Espectros de los extractos de <i>Calophyllum brasiliense</i> obtenidos por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier mediante reflectancia total atenuada universal. (A): Maceración (B). Soxhlet; (C) Ultrasonido asistido.	57
Figura 16. Espectros de extractos de <i>Piscidia piscipula</i> obtenidos por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier mediante reflectancia total atenuada universal. (A): Maceración (B). Soxhlet; (C) Ultrasonido asistido.	59
Figura 17. Espectros de extractos de <i>Salmea scandens</i> obtenidos por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier mediante reflectancia total atenuada universal. (A): Maceración (B). Soxhlet; (C) Ultrasonido asistido.	61

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Metabolitos encontrados en el Guanacastle (<i>Enterolobium cyclocarpum</i>).	20
Cuadro 2. Compuestos identificados y actividad biológica de la cola de caballo (<i>Equisetum</i> sp.)	23
Cuadro 3. Compuestos identificados y actividad biológica de <i>Calophyllum brasiliense</i>	26
Cuadro 4. Compuestos aislados en <i>Piscidia piscipula</i> (= <i>P. erythrina</i>). La mayoría son compuestos neutros y fenólicos altamente oxigenados.	29
Cuadro 5. Compuestos aislados de la fuente botánica de <i>Salmea scandens</i>	32
Cuadro 6. Tratamientos empleados para determinar la actividad antifúngica in vitro de las fuentes botánicas contra <i>Fusarium oxysporum</i>	36
Cuadro 7. Tratamientos empleados para determinar la efectividad biológica de las fuentes botánicas contra <i>Alternaria solani</i>	38
Cuadro 8. Efectividad biológica de los extractos vegetales obtenidos por maceración-acetona a concentración de 5000 ppm contra <i>Alternaria solani</i> en frutos de jitomate después de cinco días de interacción.	49
Cuadro 9. Valores espectrales de pico FTIR y grupos funcionales obtenidos para el extracto de <i>E. cyclocarpum</i>	53
Cuadro 10. Valores espectrales de pico FTIR y grupos funcionales obtenidos para el extracto de <i>E. myriochaetum</i>	56
Cuadro 11. Valores espectrales de pico FTIR y grupos funcionales obtenidos para el extracto de <i>C. brasiliense</i>	58
Cuadro 12. Valores espectrales de pico FTIR y grupos funcionales obtenidos para el extracto de <i>P. piscipula</i>	60
Cuadro 13. Valores espectrales de pico FTIR y grupos funcionales obtenidos para el extracto de <i>S. scandens</i>	62

RESUMEN

Los hongos fitopatógenos causan grandes pérdidas en la producción agrícola a nivel mundial, para su control se utilizan sustancias sintéticas, que contaminan los alimentos y por ende afectan la salud de los seres humanos y el ambiente. Ante esta problemática se tuvo como objetivo determinar el efecto antifúngico de los extractos vegetales de *Enterolobium cyclocarpum*, *Equisetum myriochaetum*, *Calliophyllum brasiliense*, *Piscidia piscipula* y *Salmea scandens* para el control de *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*, *in vitro* e *in vivo* en el jitomate (*Solanum lycopersicum*). Los extractos vegetales se obtuvieron mediante tres técnicas: maceración, Soxhlet, ultrasonido asistido y tres solventes (éter etílico, acetona y agua). Para el ensayo *in vitro* contra *F. oxysporum* se evaluaron concentraciones de 1000 a 5000 ppm en medio de cultivo papa-dextrosa-agar envenenado y únicamente la concentración de 5000 ppm en el ensayo *in vivo* en *A. solani* de los extractos obtenidos por maceración-acetona. Para la identificación de grupos funcionales de los extractos se utilizó la técnica de espectroscopía infrarrojo transformados de Fourier (FTIR). Teniendo como resultados el mayor rendimiento de los extractos con *C. brasiliense* (15.64%) usando Soxhlet-acetona, mientras que el más bajos fue con ultrasonido asistido-Éter etílico en *E. cyclocarpum* (0.18%). Por otro lado, los análisis mostraron que los extractos de *S. scandens* por maceración-acetona inhibe el crecimiento de *F. oxysporum* en un rango de 7.04 a 76.72%. *Alternaria solani* fue mayormente inhibido por los extractos de maceración-acetona de *P. piscipula* (94.05%). Se demostró que *C. brasiliense* contiene alcoholes polifenoles (OH), ésteres (COO), y alcanos (C-C). *Enterolobium cyclocarpum* OH, ácidos carboxílicos (COOH), C-C, COO, saponinas. *Equisetum myriochaetum* picos de fenoles y C-C, COO, COOH. *P. piscipula* OH (Polifenoles), C-C, cetonas (CO). *Salmea scandens*, taninos, flavonoides, ácidos fenólicos. Estos resultados sugieren que los extractos de *P. piscipula* y *S. scandens* podrían utilizarse a futuro para el control natural de *F. oxysporum* y *A. solani* en el cultivo de jitomate.

Palabras claves: Concentraciones, Extractos vegetales, hongos fitopatógenos, Jitomate, Rendimiento

I. INTRODUCCIÓN

El jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una de las hortalizas más cultivadas y de mayor valor económico a nivel mundial (Ortega-Martínez *et al.*, 2010). En México la superficie total cultivada representa el 70%, además se ha convertido en el primer país exportador en el mundo (Juárez-Maldonado *et al.*, 2015; SAGARPA, 2017). Sin embargo, debido a las condiciones en donde se desarrolla este cultivo; la principal limitante de su producción en nuestro país son las plagas y enfermedades que causan pérdidas económicas de hasta el 100%, principalmente por enfermedades fúngicas ocasionadas por *Fusarium oxysporum* y *Alternaria* spp. que provocan marchitez vascular, cáncer de tallos y pudrición de frutos (Burketová *et al.*, 2015; Martínez *et al.*, 2016). Para controlar las enfermedades causadas por estos hongos se ha dependido de fungicidas químicos con resultado satisfactorios (Bolívar *et al.*, 2009; Martínez *et al.*, 2016). No obstante, el uso excesivo de sustancias sintéticas, contaminan los alimentos y por ende afectan la salud de los seres humanos y el ambiente, además de contaminar el suelo y cuerpos de agua, y bioacumularse y biomagnificarse en las cadenas tróficas (Del Puerto Rodríguez *et al.*, 2014). Por otra parte, inducen la generación de resistencia en organismos blanco y no blanco, en respuesta a la presión de selección ejercida por las sustancias químicas (Cruz-Reyes y Pickering-López, 2006; Carmona & Sautua, 2017).

Ante esta problemática surge la necesidad de contar con alternativas promisorias que sean seguras para los seres humanos y amigables con el ambiente, tales como los bioplaguicidas a partir de extractos vegetales. Al respecto se ha reportado una gran variedad de compuestos químicos con propiedades antifúngicas presentes en diferentes especies botánicas nativas (Lombardo *et al.*, 2015; Celis *et al.*, 2008; Migliori *et al.*, 2017). Siendo estas, una fuente potencial debido a su elevada efectividad, bajo costo, toxicidad baja o nula en mamíferos, no afectan la viabilidad de las semillas, ni las cualidades alimenticias de los granos; además, son accesibles para los campesinos como una eficiente opción ecológica y económica (Isman, 2006; Briceño *et al.*, 2011). Especies de la familia *Equisetaceae*, *Asteracea* y

Fabaceae han sido reportadas con actividades antifúngica, antibacterial, nematocida e insecticida (De Queiroz *et al.*, 2015; Al-Snafi, 2017; Ahmed *et al.*, 2017; Houicher *et al.*, 2018; Kumar & Varshney, 2019), lo cual se atribuye al contenido saponinas, fenoles y flavonoides. El estado de Chiapas, México presenta una diversidad de plantas con propiedades antimicrobianas; la corteza de guanacastle (*Enterolobium cyclocarpum*) y los tallos de cola de caballo (*E. myriochaetum*), han sido utilizados *in vitro* contra hongos fitopatógenos (García *et al.*, 2012; Espinoza-Madrigal *et al.*, 2016), mientras que otras plantas usadas localmente son la leche María (*Calliophyllum brasiliense*), el barbasco (*Piscidia piscipula*) los cuales no han sido demostrados su actividad contra hongos fitopatógenos, *S. scandens* ha sido probada para el control de plagas y enfermedades en una ocasión (Villa-Ruano *et al.* 2015). Sin embargo, existe escasa información acerca de la composición química y actividad biológica de las especies antes mencionadas. Por lo anterior, la presente investigación cuyo objetivo es determinar sí el efecto antifúngico de los extractos vegetales de *Enterolobium cyclocarpum*, *Equisetum myriochaetum*, *Calliophyllum brasiliense*, *Piscidia piscipula* y *Salmea scandens* para el control de *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*, *in vitro* e *in vivo* en frutos de jitomate (*Solanum lycopersicum*) resulta una alternativa sustentable y ecológicamente viable que fortalezca los esquemas de manejo integrado de enfermedades en jitomate mediante el uso de extractos naturales no convencionales que presenten actividad biológica contra los hongos fitopatógenos que disminuyen los rendimientos en cultivos de interés económico.

Es así como la siguiente investigación resulta importante para el manejo sustentable del cultivo de jitomate en Chiapas, con el fin de contribuir a generar cambios importantes en la interacción del hombre con su entorno natural, lo cual se traduce en seguridad alimentaria para la comunidad, con alimentos de calidad, inocuos y nutritivos. Este trabajo pretende que los resultados generen conocimientos y técnicas ajustables a otros cultivos y contextos.

II. ANTECEDENTES

Las plantas producen diversos compuestos con propiedades antimicrobianas que pueden ser empleadas para controlar diferentes enfermedades en hortalizas (Díaz-Solares *et al.*, 2017). Se ha demostrado que los efectos de los extractos vegetales sobre los patógenos se deben a los metabolitos secundarios producidos por estos (Rodríguez-Maturino *et al.*, 2015). Además, esta capacidad depende de la fuente botánica, la parte vegetal, la concentración del compuesto, el organismo objetivo (blanco) y de la técnica de bioensayo. Entre estos compuestos destacan los fenoles, saponinas, taninos, alcaloides, flavonoides (Tolosa & Cañizares, 2017).

Se ha evidenciado que el efecto fungistático selectivo depende de la especie de planta y del patógeno. Diversos estudios han demostrado la actividad antimicrobiana *in vitro* e *in vivo* de los extractos vegetales (Hernández-Lauzardo *et al.*, 2007; Villacís-Aldaz *et al.*, 2017), entre ellas; ortiga (*Urtica dioica*), manzanilla (*Chamaemelum nobile*), marco (*Artemisia vulgaris*), lavanda (*Lavandula officinalis*) y chamico (*Datura ferox*), que ejercen control sobre la antracnosis (*Colletotrichum acutatum*) en tomate de árbol (*Solanum betaceum*) (Villacís-Aldaz *et al.*, 2017).

Rutiaga Quiñones *et al.*, (1995) evaluaron la actividad antifúngica del extracto del duramen de *E. cyclocarpum* obtenidos con solventes; ciclohexano, etanol y agua con muestras de madera de México que fueron finamente trituradas y tamizadas. Utilizaron concentraciones a 1 g/L, 0.1 g/L, con el fin de aislar los componentes químicos orgánicos, la harina de duramen se extrajo sucesivamente con Soxhlet. Los hongos probados fueron *Trametes versicolor* (pudrición blanca), *Coniophora puteana* (pudrición marrón), *Chaetomium globosum* (pudrición blanda) y *Trichoderma viride*. Encontraron que sólo el extracto de etanol resulto ser inhibidor del crecimiento de hongos logrando mas del 70%, incluso a bajas concentraciones. Los extractos de agua de no tuvieron impacto en crecimiento de hongos.

García *et al.*, (2012) demostraron el efecto antimicótico y antimicotoxigénico de los extractos hidroalcohólicos de *Equisetum arvense* y *Stevia rebaudiana* sobre el maíz inoculado con diferentes niveles de *Fusarium verticillioides* y *Aspergillus flavus*. Los

resultados confirmaron que el extracto de *E. arvense* y una mezcla 1:1 de *Equisetum-Stevia* puede ser eficaz para inhibir tanto el crecimiento de *A. flavus* como la producción de aflatoxinas en niveles altos de actividad acuática (condiciones previas a la cosecha). En general, el crecimiento de *F. verticillioides* fue reducido por el uso de extractos de plantas, especialmente a 0.95 actividad del agua. Sin embargo, la presencia de fumonisina no fue afectada significativamente. A a lo que sigieren que los extractos de *E. arvense* y *S. rebaudiana* podrían desarrollarse como un tratamiento alternativo para controlar el micobiota aflatoxigénico en el maíz húmedo.

Para determinar si la resistencia a los hongos que pudren la madera podría ser causada por metabolitos secundarios bioactivos, Reyes-Chilpa *et al.*, (1997) llevó a cabo un estudio químico y biológico del árbol *Calophyllum brasiliense* recolectado en la Selva Lacandona, Chiapas, México en contra del patógeno *Postia placenta*. Prepararon extractos con hexano, acetona, metanol y agua. Encontraron que el rendimiento de los extractos osciló entre 0.04% (hexano) y 4.81% (acetona). El metanol, la acetona y los extractos de agua (5 mg/ml = 0.5%) inhibieron el crecimiento micelial del hongo de la podredumbre parda *P. placenta* en un 83, 59 y 21%, respectivamente y que las xantonas fueron los constituyentes más abundantes de ambos extractos y juegan en realidad un papel defensivo contra los hongos de descomposición de la madera. Actualmente los estudios acerca de esta especie están dirigidos a agentes citotóxicos, como analgésico por la evaluación antinociceptiva, antibacteriana, además inhiben la transcriptasa inversa del virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1 RT) (García-Zebadúa *et al.*, 2011; Klein-Júnior *et al.*, 2017; Domeneghetti *et al.*, 2018).

Piscidia piscipula (= *P. erythrina*) no ha sido explorada en cuanto a su actividad contra hongos fitopatógenos. Caceres *et al.*, (1991) con el fin de determinar los extractos de 44 plantas contra los dermatofitos patógenos más comunes, realizó bioensayos *in vitro* para validar los efectos. Las cepas de dermatofitos utilizadas fueron las especies más comúnmente aisladas de fuentes humanas en Guatemala, tales como: *Epidermophyton floccosum*, *Micosporum canis*, *Micosporum gypseum*,

Trichophyton mentagrophytes var. *algonosa*, *T. mentagrophytes* var. *granulate* y *Trichophyton rubrum*. Los resultados mostraron que los extractos acuosos de 22 de las plantas probadas inhiben uno o más de los dermatofitos. Los dermatofitos más comúnmente inhibidos fueron *E. floccosum* (43.2%), *T. rubrum* (36.0%), y *T. mentagrophytes* (31.8%); los menos inhibidos fueron *M. canis* (22.7%) y *M. gypseum* (24.0%). Las plantas que exhibieron actividad antidermatofítica fueron: *Byrsonima crassifolia*, *Cassia grandis*, *Cassia occidentalis*, *Diphysa carthagenensis*, *Gliricidia sepium*, *Piscidia piscipula*, *Sambucus mexicana*, *Smilax regelii*, *Solanum americanum* y *Solanum nigrescens*. Estos resultados proporcionan una base científica para el uso de estas plantas para el tratamiento de infecciones fungicas. Actualmente, *P. piscipula* se utiliza como sedante y analgésico, además del tratamiento del insomnio y la sobre excitabilidad (Auxence, 1953; Patil, 2011).

Costello & Butler (1948), estudio la actividad química uterina *in vitro* e *in vivo* de *Piscidia eythrina* en mono *Rhesus macacus* con el fin de rastrear las sustancias potentes, con vistas a su aislamiento. En la extracción de fluidos de *P. eythrina*, utilizaron solventes etanol, éter de petróleo, agua, cloroformo, metanol, isopropanol, etanol, acetona, agua caliente, cloroformo y benceno con las técnicas de Soxhlet y percolación. Se demostró una sedación efectiva utilizando diluciones que oscilaban entre 1:17,500 y 1: 20,000. Usando el método del balón intrauterino en el mono, se encontró que 3 cc. del fluidextracto inhiben la motilidad uterina. En cuanto a la droga en polvo extraída, se encontró que el extracto etanólico *in vitro* fue efectivo en una concentración de 1: 50,000. Calculada en términos del rendimiento del extracto, la concentración es 1:1: 1,600,000.

Son escasos los estudios realizados relacionado con la actividad biológica del Chilemecate (*Salmea scandens*). Villa-Ruano *et al.* (2015) son los únicos que han reportado la actividad biológica y composición del aceite esencial de *S. scandens*. Para ese análisis utilizó partes aéreas de *S. scandens* que fueron recolectadas en Oaxaca, México donde extrajeron 300 g de corteza y hojas secas del tallo por hidrodestilación durante 3 h, los patógenos ensayados fueron: *Escherichia coli*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, *P. syringae* pv.

tomato, *P. syringae* pv. phaseolitic, *P. syringae* pv. glycinea, *P. stewartii*, *Erwinia carotovora* y *Clavibacter michiganensis*. Larvas de *Aedes aegypti* (cepa Colorado) y *Anopheles albimanis*, así como los hongos *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora infestans*. El análisis aproximado de la corteza del tallo comestible reveló abundantes cantidades de fibra (43.67%) y proteína (9.27%). Los análisis de GC y GC-MS demostraron que el aceite esencial de las hojas contenía altos niveles de germacreno D (47,1%) y elemol (15,3%), mientras que el de la corteza del tallo contenía los isómeros de dodecatetraenamida de las alquilamidas N-isobutil-(2E,4E,8Z,10E/Z)- (39,7%). Los CMI en $\mu\text{g mL}^{-1}$ para los patógenos de *P. syringae* pv. tabaci fueron 56.1, tomate 91.2 y phaseolítica 196.4, para *Clavibacter michiganensis* 35.8 y *Erwinia carotovora* 48.1. Los hongos *F. oxysporum* y *P. infestans* presentaron CMI en $\mu\text{g mL}^{-1}$ de 3.3 y 2.4 respectivamente. El mismo aceite esencial fue altamente efectivo contra las larvas de *Aedes aegypti* ($\text{LC}_{50} = 0.3 \mu\text{g mL}^{-1}$) y *Anopheles albimanis* ($\text{LC}_{50} = 2.5 \mu\text{g mL}^{-1}$).

III. MARCO TEÓRICO

3.1. Desarrollo Sustentable

En las últimas décadas, la comunidad mundial ha estado de acuerdo en la necesidad de abordar el desarrollo sustentable a través de tratados internacionales. Como respuesta, se han puesto en marcha iniciativas de sostenibilidad como medio para hacer frente a la sustentabilidad en diferentes ámbitos de la sociedad, como la empresa, la salud y la educación. El Desarrollo Sustentable (DS) se ha convertido en un concepto importante para los responsables de la formulación de políticas en todo el mundo desde que la Comisión Mundial sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo (WCED) lo difundió internacionalmente en 1987 (Reid y Scott, 2006)

El informe Brundtland de la WCED definió el desarrollo sustentable como "... un desarrollo que satisface las necesidades del presente sin comprometer la capacidad de las generaciones futuras para satisfacer sus propias necesidades" (WCED, 1987). Más tarde, se amplió la definición de DS a "... mejorar la calidad de vida de los seres humanos mientras se vive dentro de la capacidad de sustentación de los ecosistemas que la sostienen" (UICN/PNUMA/WWF, 1991).

El progreso del DS como un concepto basado en políticas ha sido un discurso criticado (Kopnina, 2014; Sinakou et al., 2017). Específicamente, se ha sugerido que DS apoye una agenda neoliberal combinando los significados aparentemente polisémicos de conservación (en el sostenimiento del medio ambiente) con el desarrollo (como en el desarrollo y crecimiento económico) (Barkemeyer et al, 2014; Hursh et al, 2015). Por otro lado, en la búsqueda de alternativas sustentables, se busca integrar la política económica con la política social. Sin embargo, requiere visibilizar el compromiso transgeneracional, y con ello incorporar la dimensión ambiental para evitar los riesgos de profundizar los impactos ambientales, y, por el contrario, implica revertir el deterioro del capital natural y mantener el funcionamiento del planeta en una situación estable (Carabias, 2019).

3.2. Origen e Importancia del cultivo del jitomate

El jitomate (*S. lycopersicum*) es una planta nativa de América tropical, tiene sus orígenes en la región andina que se extiende desde el sur de Colombia hasta el norte de Chile, fue llevado a Centroamérica, donde su domesticación tuvo lugar inicialmente con las primeras civilizaciones de México. Los españoles y portugueses difundieron el jitomate a Oriente Medio y África, y de allí a otros países asiáticos, y de Europa también se difundió a Estados Unidos de América y Canadá (Monardes, 2009). Es una planta arbustiva y cultivo de tipo anual. Existen variedades de crecimiento limitado (determinadas) y otras de crecimiento ilimitado (indeterminadas). Su fruto es una baya ovalada, redonda o periforme; y su tamaño va desde pequeños frutos del tamaño de una cereza, hasta enormes frutos de 750 g (SAGARPA, 2017).

A nivel mundial, la superficie cosechada del jitomate ha crecido a una tasa promedio anual de 1.4 % entre 2007 y 2017, para ubicarse en 4.8 millones de ha. El 57.4 % de la superficie cosechada se concentró en China (21.2 %), India (16.4 %), Nigeria (12.2 %), Turquía (3.9 %) y Egipto (3.8 %), ocupando México la onceava posición mundial, con una participación de 1.9 % (FAOSTAT, 2017).

3.2.1. El Cultivo de jitomate en México

México es el principal exportador de jitomate en términos de volumen, en 2017 abasteció 84.9 % del volumen de tomate fresco importado por EUA. La producción del jitomate ha aumentado significativamente, ya que entre el 2007 al 2017 creció a una tasa promedio anual de 3.6 %. En ese período, la superficie cultivada en campo abierto se redujo a una tasa promedio anual de 5.9 %, al pasar de 64,663 a 35,175 ha, mientras que la superficie establecida con agricultura protegida (malla sombra e invernadero) pasó de 1,973 a 15,198 ha, es decir, creció a una tasa promedio anual de 22.7 %. Así, la producción pasó de 0.9 % del total en 2003 a 32.2 % en 2010, y hasta 63.3 % del volumen total en 2017 (FIRA, 2019). Los estados con mayor superficie cosechada son Sinaloa (11,195 ha), Baja California Sur (1,103) y

Michoacán (1,072), lo que representa el 72.8% de la superficie nacional. En abril del 2019 la producción fue de 236 mil 289 ton. En Chiapas se produjeron 35,236 ton en 2019, tan solo después del maíz (189,275 ton) y la sandía (38,723), siendo los principales municipios; Frontera Comalapa (825 ton), La Independencia (13,900 ton), La Trinitaria (13,400 ton) y Las Margaritas (1,880 ton) (SADER-SIAP, 2019).

3.2.2. Principales enfermedades causadas por hongos que afectan al jitomate en pre y poscosecha

Se reportan 48 enfermedades importantes, entre las cuales destacan la marchitez vascular causado por *F. oxysporum* y el tizón temprano por *A. solani* (Gordon, 2017).

3.2.2.1. Marchitez vascular por *Fusarium oxysporum*

Se han identificado más de 120 formas diferentes de *F. oxysporum*, basadas en la especificidad de las especies hospedadoras que pertenecen a una amplia gama de familias de plantas (Michielse & Rep, 2009).

A. Síntomas de la enfermedad

Los síntomas iniciales del marchitamiento vascular incluyen el aclaramiento de las venas y la epinastia de la hoja, seguidos de retraso del crecimiento, coloración amarillenta de las hojas inferiores, marchitamiento progresivo, defoliación y, finalmente, muerte de la planta. En la colonización fúngica, penetra inicialmente por raíz de forma asintomática; posteriormente, coloniza tejido vascular y desencadena un marchitamiento masivo, necrosis y clorosis de las partes aéreas de la planta (Ma *et al.*, 2013).

B. Importancia económica

Este hongo fitopatógeno puede causar severas pérdidas en muchas flores y hortalizas, cultivos de campo, como el algodón, y cultivos de plantación, como el plátano, la palma datilera, palma aceitera y el jitomate (*S. lycopersicum*) (Michielse & Rep, 2009). Este patógeno se encuentra en la mayoría de las áreas de cultivo de jitomate y puede destruir la mayoría del cultivo ocasionando pérdidas en la producción y en los rendimientos de hasta un 60 %, afectando también la calidad del producto (Hernández-Martínez et al., 2014; González et al., 2012).

3.2.2.2. Tizón temprano causado por *Alternaria solani*

Es una enfermedad causada por el hongo *A. solani*, siendo una de las enfermedades de mayor relevancia para el cultivo en jitomate. Afecta a la planta en cualquier etapa de desarrollo siempre que cuente con las condiciones ambientales óptimas (Catão *et al*, 2011).

A. Síntomas de la enfermedad

La enfermedad se manifiesta con síntomas de lesiones menores en hojas jóvenes y más pronunciadas en hojas más viejas, presentando una apariencia necrótica de coloración pardusca. Las venas afectadas degradan y bloquean el paso de la savia, causando el amarilleo y la muerte de la parte afectada. En los frutos produce lesiones oscuras, que en condiciones de alta humedad están cubiertas por la fructificación del hongo, caracterizada por el aspecto aterciopelado y el color negro conocido como moho negro (Kurozawa & Pavan, 2005).

La susceptibilidad a la enfermedad generalmente aumenta de acuerdo con la madurez o en la fase reproductiva de la planta, en la que aumenta la demanda de azúcares. Estos son necesarios para la formación de frutos y brotes nuevos en lugar de hojas más viejas, facilitando el proceso de infección en los órganos exportadores (Tofoli *et al.*, 2015).

La gravedad de la enfermedad provoca una reducción intensa del área foliar y el vigor de la planta, la rotura del tallo, la caída y la depreciación de la fruta y la muerte de la planta (Vale *et al.*, 2000).

B. Importancia económica

Esta enfermedad se manifiesta en todas las regiones donde se cultiva jitomate, y se considera de mayor incidencia en condiciones de temperatura entre 25°C y 30°C con alta humedad, pero puede estar presente en regiones de clima semiárido, donde hay presencia de rocío regularmente (Kurozawa & Pavan, 2005). Además, la alternancia de períodos húmedos y secos a menudo parece favorecer la enfermedad (Cabral, 2012; Tofoli *et al.*, 2015).

Se desarrolla en casi todas las partes de la planta, en general, afecta la productividad y calidad de la fruta, causando pérdidas económicas consecuentes (Dill, 2009; Toledo *et al.*, 2009), en algunos países las pérdidas de cosechas por causa de este fitopatógeno llegan a ser hasta del 100% (Chowdappa *et al.*, 2013).

3.2.3. Control de los hongos fitopatógenos en el jitomate

El control de enfermedades fungosas en el jitomate, tradicionalmente ha sido por fungicidas químicos, los cuales se aplican en la semilla, follaje, frutos y al suelo, con resultados favorables, los cuales tienen buen efecto (Yavuz & Arslan, 2013). Por el contrario, su uso aumenta los costos de producción y trae graves consecuencias sobre al ambiente, en años recientes, diversos estudios han revelado que el uso de sustancias químicas tiene más efectos negativos que beneficios sociales y ambientales. Es importante que en lo sucesivo los químicos empleados en la agricultura reduzcan su efecto sobre el medio ambiente, en particular la Agencia de Protección al Medio Ambiente (EPA, por sus siglas en inglés) recomienda que se realicen estudios encaminados a abordar la seguridad de los mismos, y preservar la integridad y seguridad de los seres humanos y del medio ambiente deben ser los criterios que sirvan de base para seleccionar nuevos compuestos que se desarrollen comercialmente y que tengan un efecto eficaz (Velázquez-del Valle *et al.*, 2008).

Las tendencias actuales involucran el empleo de productos vegetales, antagonistas microbianos y quitosano, solas o combinadas entre sí para potenciar su efecto (Bautista-Baños *et al.*, 2006).

3.3. Importancia de los extractos vegetales

En los últimos años la sociedad mundial ha priorizado los aspectos ambientales, y ha conducido investigaciones hacia el descubrimiento de nuevas alternativas para el manejo de las enfermedades, con menos efectos negativos al ambiente (Vaillant *et al.*, 2009). Una de las más actuales es el uso de productos derivados del metabolismo secundario de las plantas, como aceites esenciales, entre ellos los terpenos, lignanos, alcaloides, azúcares, esteroides, entre otros (Dixon, 2001).

Generalmente están presentes como mezclas de compuestos y los patógenos pueden ser afectados diferencialmente por los compuestos individuales o por las mezclas en determinadas concentraciones y proporciones (Montes, 2009). Muchos de estos compuestos son producidos y almacenados en tejidos jóvenes, particularmente en hojas o tejidos productivos como flores y semillas (Costa *et al.*, 2001).

La obtención de los extractos vegetales y el estudio de sus compuestos activos propician su empleo contra diferentes fitopatógenos. En condiciones *in vitro* los extractos inhiben el crecimiento del patógeno, así como la esporulación y germinación de esporas, de modo que ayudan a controlar las enfermedades de frutos y hortalizas. *In vivo*, el efecto fungicida de los extractos vegetales varía en función de la metodología de preparación (solvente, seco, fresco, tiempo de almacenamiento, entre otros), especie botánica, órgano de la planta (raíces, hojas, semillas, entre otras), fecha de cosecha, entre otras. Así mismo, la combinación de los extractos vegetales con algún otro compuesto natural puede potenciar su actividad fungicida (Hernández-Lauzardo *et al.*, 2007). Además, que los extractos vegetales contienen compuestos con diferentes mecanismos de acción, que no solamente tienen una gran importancia ecológica porque participan en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente, como es el establecimiento de la

simbiosis con otros organismos, sino que también actúan como atracción y defensa, alelopatía y fitohormonas (Jiménez *et al.*, 2003).

3.4. Mecanismo de acción de los metabolitos secundarios

Las plantas tienen una capacidad ilimitada de sintetizar compuestos, la mayoría se relaciona con los fenoles. Los metabolitos secundarios se dividen en tres grupos químicos: terpenos, fenoles y compuestos nitrogenados.

3.4.1. Fenoles

Los compuestos fenólicos derivan de la ruta fenilpropanoide, sintetizados a partir de fenilalanina y tirosina, que a su vez se derivan de la ruta del ácido Shiquímico y del ácido malónico, son metabolitos aromáticos que tienen uno o más grupos hidroxilo unidos a un anillo aromático. Forman alrededor de 10,000 compuestos en las plantas, son un grupo diverso que comprende desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos hasta polímeros complejos como los taninos, cumarinas, lignina y pigmentos flavonoides (Taiz & Zeiger, 2006). El aumento en el contenido de fenoles inhibe el crecimiento y regeneración de plántulas; además, éstos actúan como antioxidantes y sustancias estructurales en los tejidos suberosos, protegiéndolos de la desecación y ataque de patógenos.

A la posición y el número de grupos hidroxilo en el anillo se les atribuye la toxicidad frente a los microorganismos, de forma que un aumento en la hidroxilación está ligado a una mayor toxicidad. El mecanismo parece estar relacionado con la inhibición enzimática por los compuestos oxidados, posiblemente mediante reacciones de grupos sulfihídrido o por interacciones no específicas con proteínas (Domingo & López-Brea, 2003).

3.4.2. Taninos

Son compuestos fenólicos hidrosolubles, capaces de precipitar macromoléculas (proteínas, celulosa, gelatina), alcaloides y metales pesados, esto le confiere la

capacidad para curtir cueros y el poder astringente. De acuerdo con su estructura se dividen en dos grupos: 1) Hidrolizables, son polímeros heterogéneos que contienen ácidos fenólicos, principalmente ácido gálico y azúcares simples; son más pequeños que los condensados y se hidrolizan más fácilmente. 2) Los condensados son polímeros de unidades de flavonoides unidas por enlaces C-C, los cuales no pueden ser hidrolizados, pero sí oxidados por un ácido fuerte para rendir antocianinas (Sanabria, 1983; Ávalos-García & Pérez-Urria, 2009; López-Casamayor, 2007).

Tienen acción protectora, por su capacidad antibiótica y repelente; son utilizados como antídotos en intoxicaciones por metales pesados o alcaloides, como cicatrizantes, antidiarreicos, antifúngicas, también se usa para problemas de piel, debido a su acción hemostática en heridas sangrantes (López-Casamayor, 2007).

3.4.3. Cumarinas

Se encuentran ampliamente distribuidas en el reino vegetal, se han identificado 1,500 compuestos en más de 800 especies, particularmente en las familias: Fabaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Asteraceae, Umbelíferae, Apocinaceae, Orquidaceae, Labiatae, Ericaceae y Myrtaceae (Sanabria, 1983; López-Casamayor, 2007; Ávalos & Pérez-Urria, 2009). Actúan como agentes antimicrobianos, anticoagulantes, estrogénicos, sedantes, vasodilatadoras, antihelmínticas, antifúngicas y como inhibidores de germinación. Algunas muestran fototoxicidad frente a insectos tras activarse por luz UV, acción llevada a cabo por bloqueo de la transcripción y de la reparación de ADN, provocando la muerte celular (Soine, 1964; Ávalos-García & Pérez-Urria, 2009).

3.4.4. Flavonoides

Son los responsables de la coloración de los vegetales y están ampliamente distribuidos, se han identificado cerca de 2,000 flavonoides abundantes en las familias: Polygonaceae, Rutaceae, Fabaceae, Umbelíferae y Compositae

(Harborne, 1977). Se caracterizan por tener dos anillos bencénicos, con estructura C₆-C₃-C₆ unidos por un puente de tres átomos de carbono.

Se forman en las plantas a partir de la vía del ácido Shiquímico (Sanabria, 1983) y se clasifican en función del grado de oxidación de la cadena de 3 átomos de carbono: las principales son las antocianinas (pigmentos), flavonas, flavonoles, isoflavonas, flavanonas, catequinas, leucoantocianinas, chalconas, auronas (López-Casamayor, 2007; Ávalos-García & Pérez-Urria, 2009).

Entre sus funciones se encuentra la defensa, actuando como señales producidas y secretadas por las raíces de las leguminosas para la bacteria *Rhizobium*, activan los genes de la nodulación de la bacteria. Su actividad frente a microorganismos se debe a que forman complejos con las proteínas solubles y extracelulares y con las células de la pared bacteriana (Domingo & López-Brea, 2003).

3.4.5. Terpenos

Son el grupo más numeroso de los metabolitos secundarios (más de 40,000 moléculas diferentes), biosintetizados a partir de la acetil CoA o de intermediarios glicolíticos y generalmente son insolubles en agua.

Dentro de estos se incluyen hormonas como giberelinas y ácido abscísico, pigmentos complementarios como carotenoides (carotenos y xantofilas) que protegen los tejidos fotosintéticos de la fotooxidación, esteroides (ergosterol, sitosterol, colesterol), derivados de los esteroides (glicósidos cardíacos), látex y aceites esenciales que proporcionan el olor y el sabor característico de las plantas y que se encuentran como componentes esenciales de la membrana celular (Taiz & Zeiger, 2006; Ávalos & Pérez-Urria, 2009; López-Casamayor, 2007).

3.4.6. Saponinas

Las saponinas, su nombre se debe a las propiedades detergentes cuando se agita en agua, se infiere que su toxicidad se debe a la capacidad de interferir con la absorción de esteroides en el aparato digestivo o romper las membranas celulares

una vez incorporadas en el torrente sanguíneo (Taiz & Zeiger, 2006). Se han relacionado con un efecto estimulante, tonificante y antiestrés, así como antimicrobiano, antivírico, antimicótico y molusquicida (López-Casamayor, 2007).

3.4.7. Alcaloides

Comprenden más de 15, 000 metabolitos secundarios que contienen nitrógeno y alrededor del 20% se encuentran en las plantas vasculares con propiedades medicinales, tóxicas y alucinógenas. Son los compuestos más conocidos por sus efectos contra la defensa natural en animales y hongos, en los vertebrados suele producir determinados efectos fisiológicos, actuando sobre el sistema nervioso, principalmente sobre el sistema nervioso central (Esteban, 2010; Taiz & Zeiger, 2006). El mecanismo de acción de los alcaloides parece ser mediante intercalación entre la pared celular y el ADN del microorganismo (Domingo & López-Brea, 2003).

3.5. Extracción de compuestos en plantas

La utilización de diferentes solventes durante la extracción influye en la naturaleza y la cantidad de metabolitos secundarios que se extraen en plantas. Por ejemplo, los solventes polares se usan para extraer compuestos fenólicos, sus glucósidos, saponinas y solventes no polares se usan para la extracción de ácidos grasos y esteroides) (Dirar *et al.*, 2019). Muchos estudios han reportado el impacto de los solventes en el contenido de metabolitos secundarios y/o su actividad biológica (Rebey *et al.*, 2012, Kchaou *et al.*, 2013, Ngo *et al.*, 2017). Además, las técnicas de extracción también tienen un efecto notable en la recuperación del contenido fitoquímico. Existen diferentes técnicas para la extracción de materiales vegetales, que se clasifican principalmente en métodos de extracción convencionales (Maceración, Soxhlet, percolación, infusión, entre otros) y métodos de extracción no convencionales o avanzados (extracción asistido por microondas (MAE), extracción asistida por ultrasonido (EAU) y extracción por fluido supercrítico (SFE), en la que estos avances tienen como objetivo aumentar el rendimiento en costo más bajo (Sultana *et al.*, 2009; Azmir *et al.*, 2013; Azwanida 2015; Belwal *et al.*, 2018).

3.6. Preparación previa a la extracción de muestras vegetales

El propósito de toda extracción es separar los metabolitos solubles de las plantas, dejando atrás el espacio celular insoluble (residuo). La etapa inicial en la extracción de compuestos vegetales es la preparación de las muestras de plantas para conservar las biomoléculas antes de la extracción. Las muestras de plantas como hojas, cortezas, raíces, frutas y flores se pueden extraer de material vegetal fresco o seco. Así como de materiales de plantas como la molienda y el secado también influye en la conservación de los fitoquímicos en los extractos finales (Azwanida 2015).

3.6.1. Muestras frescas vs muestras secas

Tanto la muestra fresca como la seca se utilizan en estudios de plantas. En la mayoría de los casos, se prefiere la muestra seca considerando el tiempo necesario para el diseño experimental. El intervalo entre la recolección y el trabajo experimental en un período máximo de 3 h para mantener la frescura de las muestras, ya que las muestras frescas son frágiles y tienden a deteriorarse más rápido que las muestras secas. En una comparación entre muestras frescas y secas, se encontró mayor contenido de flavonoides en la muestra seca (Vongsak *et al.*, 2013).

3.6.2. Muestras molidas vs en polvo

La reducción del tamaño de partícula aumenta el contacto superficial entre las muestras y los solventes de extracción. La molienda da como resultado muestras más pequeñas y gruesas; Mientras que las muestras en polvo tienen una partícula más homogeneizada y más pequeña, lo que lleva a un mejor contacto de la superficie con los solventes de extracción. Esta preparación previa en particular es importante, ya que para que se produzca una extracción eficiente, el disolvente debe hacer contacto con los analitos objetivo y un tamaño de partícula inferior a 0.5 mm es ideal para una extracción eficiente (Technical note, 2013).

3.7. Descripción de las fuentes botánicas

3.7.1. *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.

Árbol caducifolio de 30 a 50 m de altura y de 2 a 3 m de diámetro; fuste cilíndrico, corteza lisa a ligeramente fisurado, color gris, copa ancha. Las hojas son bipinnadas y alternas (Figura 1). Las inflorescencias son pequeñas, sésiles de color blanco a verde a claro, cáliz de 2.5 mm de largo, corola blanca, los estambres están unidos en forma de tubo. Los frutos están contenidos en vainas enroscadas, brillosas indehiscentes de color marrón, las semillas son ovoides y aplanadas.

De acuerdo con la zona agroecológica donde se desarrolla, varía la floración y fructificación. En América central inicia la floración de febrero a abril. El árbol necesita una estación seca de 1 a 6 meses (Pennington y Sarukhán, 2005).

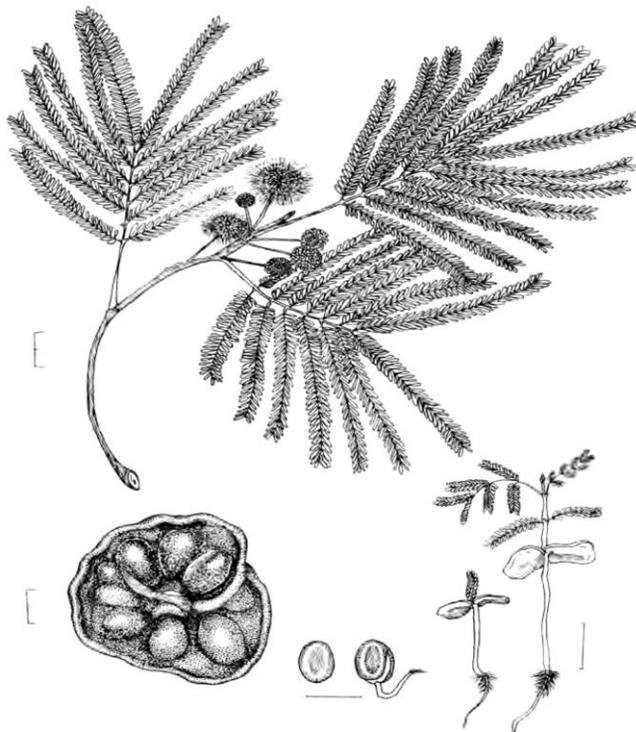


Figura 1. Morfología de *Enterolobium cyclocarpum*. Tomada de Vozzo (2002).

3.7.1.1. Origen y Distribución

Árbol nativo de América tropical, se distribuye desde el oeste y sur de México a través de Centroamérica hasta el norte de Sudamérica (Venezuela y Brasil). En México, se encuentra en la vertiente del Golfo desde el sur de Tamaulipas hasta la Península de Yucatán y en la vertiente del Pacífico desde Sinaloa hasta Chiapas, con altitudes que van de 0 hasta 800 msnm. Ha sido introducida en otras regiones tropicales, tales como las islas del Caribe, Cuba, Puerto Rico y Haití (Standley & Steyermark, 1946; Little *et al.*, 1988; Vozzo, 2002).

3.7.1.2. Taxonomía

Reino: Plantae

División: Fanerógama

Clase. Magnoliopsida

Orden. Fabales

Familia. Fabaceae

Género: *Enterolobium*

Especie: *E. cyclocarpum* (Jacq.) Griseb, 1860.
Tomado de (Trópicos, 2018).

3.7.1.3. Análisis fitoquímico y algunos efectos biológicos de *E. cyclocarpum*.

Las características fitoquímicas y nutricionales de *E. cyclocarpum* varían de acuerdo con las condiciones ambientales, geográficas y edafológicas a las que estuvieron expuestas durante su etapa fenológica de desarrollo (Barrientos *et al.*, 2015). En el cuadro 1 se muestran los compuestos del guanacastle.

Cuadro 1. Metabolitos encontrados en el Guanacastle (*Enterolobium cyclocarpum*).

Compuestos identificados	Parte del árbol utilizada	Actividad biológica	Referencia
Saponina triterpénico, veracruzol	Testa de la semilla (endocarpio) y el mesocarpio.	Bactericida, Ictiotóxico	Domínguez <i>et al.</i> , (1979); Johnson <i>et al.</i> (1986); Raya <i>et al.</i> (2012).
Inhibidores de tripsina, cianogénicos glucósidos, saponinas	Semillas y follaje	Biocida	Sotelo <i>et al.</i> (1980); Aguilar Contreras & Zolla (1982).
saponinas, reacción positiva a alcaloides y cumarinas	Frutos		Pizzani <i>et al.</i> (2006).
D-(+)-pinitol	Duramen	Antiviral	Raya González <i>et al.</i> (2008).
Aceites esenciales, fenoles, terpenos, acetofenonas	Duramen	Antialimentario y Antibacterial	Raya González <i>et al.</i> , (2012).
monoterpenos (D-limonene, terpineol y eugenol), fenoles y d-(+)-pinitol	Tallo		Wang <i>et al.</i> (2015).

3.7.2. *Equisetum myriochaetum* Schldl. & Cham

El más alto de todas las Hipócrates, *E. myriochaetum* alcanza hasta 8 m de altura. Son de hoja perenne, las vainas son ligeramente alargadas, pero están apretadas al tallo y parecen lisas y cilíndricas (Figura 2). Las crestas de las ramas tienen

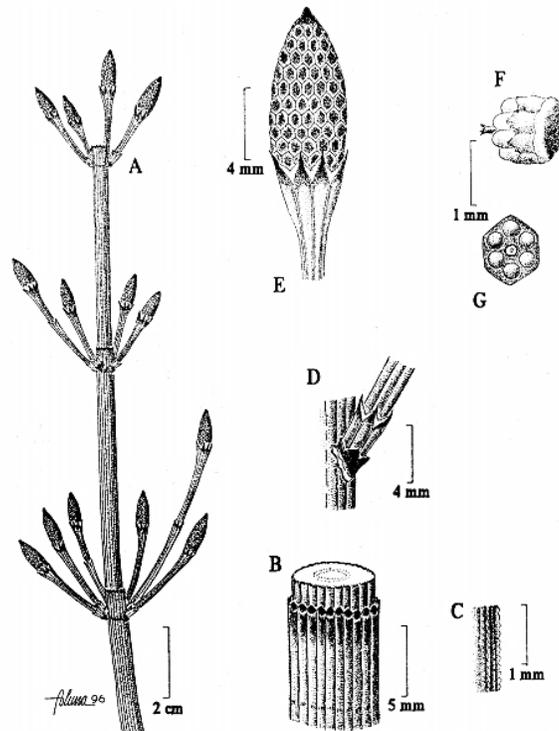


Figura 2. Morfología de *Equisetum hyemale* var. affine; A. hábito, B. nudo con la vaina de hojas persistentes. C. tallo. D. base de la rama. E. estróbilo. F y G. vista lateral e interna de un esporangióforo. Tomado de Riba & Lira (1996).

tubérculos de sílice que, a diferencia de los de cualquier otra especie, parecen dientes de sierra cuando se observan lateralmente. *E. ramosissimum* se aproxima a *E. myriochaetum* en apariencia general, pero difiere en su patrón endodérmico, y no alcanza el gran tamaño de esta última especie, ni tiene como verticilos regulares de ramas. En apariencia general, *E. myriochaetum* se parece a *E. giganteum* y a menudo se confunde con ella, pero las dos especies son realmente muy diferentes cuando se tienen en cuenta todos los caracteres (Hauke, 1962). Una característica del género *Equisetum* es la de tomar y acumular silicio en sus tejidos, principalmente en las células de guarda, dándole una textura áspera a la planta, y al parecer necesario para su crecimiento (Parsons y Cuthbertson, 2001; Sandhu & Chopra, 2010). Esta característica es la probable explicación de la no interacción con hongos e insectos (Hauke, 1969).

3.7.2.1. Origen y Distribución

El género *Equisetum* está ampliamente distribuido, consta de alrededor de 30 especies y es el único perteneciente a la familia Equisetaceae. En México se han reportado tres especies, una variedad y tres híbridos; *E. hyemale* se distribuye desde Alaska hasta Guatemala, *E. myriochaetum* y *E. schaffneri* ambas se encuentran desde México hasta Perú. En el estado de Chiapas, se encuentran las tres especies (Palacios-Ríos, 1992; Riba & Lira. 1996).

3.7.2.2. Taxonomía

Christenhusz *et al.* (2011) clasifican taxonómicamente al género *Equisetum*, como sigue:

Reino: Plantae

División: Monilopyta

Clase: Equisetopsida o Sphenopsida

Subclase: Equisetidae

Orden: Equisetales

Familia: Equisetaceae

Género: *Equisetum*

Especie: *E. myriochaetum* Schldl. & Cham

3.7.2.3. Análisis fitoquímico y algunos efectos biológicos del género *Equisetum*

En el cuadro 2 se muestran los compuestos encontrados en el género *Equisetum*.

Cuadro 2. Compuestos identificados y actividad biológica de la cola de caballo (*Equisetum* sp.)

Compuestos identificados	Actividad biológica	Referencia
Fenoles: onitina y onitin-9-O-glucósido; flavonoides: apigenina, luteolina, kaempferol-3-O-glucósido y quercetina-3-O-glucósido.		Oh <i>et al.</i> (2004)
Hexahidrofarnesil acetona, cis-geranil acetona, timol y trans-fitol.	Antimicrobiana: (bacterias: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Salmonella enteritidis</i> ; hongos: <i>Aspergillus niger</i> y <i>Candida albicans</i>).	Radulović <i>et al.</i> (2006)
Flavonoides, alcaloides, minerales, petrosinas fenólicas, triterpenoides, saponinas y fitoesteroles.	Antimicrobiano	Sandhu <i>et al.</i> (2010)
alcaloides, fitosteroles, saponinas, esteroides, ácido silícico, fenol, flavonoides, taninos triterpenoides, alcaloides, cristales de sílice	Antibacterial, anticancerígeno, sedante, ansiolítico, dermatológico, inmunológico, antinociceptivo, antiinflamatorio, antidiabético, diurético,	Dos Santos <i>et al.</i> (2005); Mimica-Dukic <i>et al.</i> (2008); Sandhu <i>et al.</i> 2010; Sinha, 2012.
<i>Equisetum arvense</i> : flavonoide (isoquercitrina), fenoles; ácido giberélico, ácido ftálico, ácido Octadecanoico metil éster, ácido linolénico metil ester, Hexadecan-1-ol, 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen1-ol		Mimica-Dukic <i>et al.</i> (2008); Bilal <i>et al.</i> (2014).

3.7.3. *Calophyllum brasiliense* Cambess.,

Calophyllum brasiliense es un árbol que mide de 20 hasta 50 m de altura. Con un diámetro a la altura del pecho de 40 a 60 cm (hasta 1.8 m) de tronco recto, cilíndrico y con ramas ascendentes de copa redondeada, extendida y densa. La corteza con 10 a 20 mm de grosor, está longitudinalmente fisurada, de color pardo a café, áspero, amargo con un exudado lechoso amarillo; el duramen de color rosa claro a café rojizo. Las hojas son simples coriáceas, decusadas, elípticas u oblongas, opuestas, glabras, con el margen entero, ápice agudo (Figura 3); haz verde y brillante, envés verde opaco; venas secundarias numerosas y paralelas; láminas de 6x2.5 cm a 14x5.5 cm.

Las flores son pequeñas, numerosas y blancas, ligeramente perfumadas, actinomorfas, cuatro sépalos, crema-amarillos, redondas y cóncavas; dioicas. Los frutos son drupas de 1 a 3 cm de largo, ovoides o esféricos, verde-amarillos, en la madurez de olor fragante, con el endocarpio duro, y una semilla grande por fruto. El endocarpio contiene fibras que se contraen y arrugan cuando se seca. Contienen semillas esféricas u ovoides de 1 a 2.3 cm de largo y ancho, testa color crema-café, suave, esponjosa de 1 mm de grosor (García-Zebadúa *et al.*, 2014).

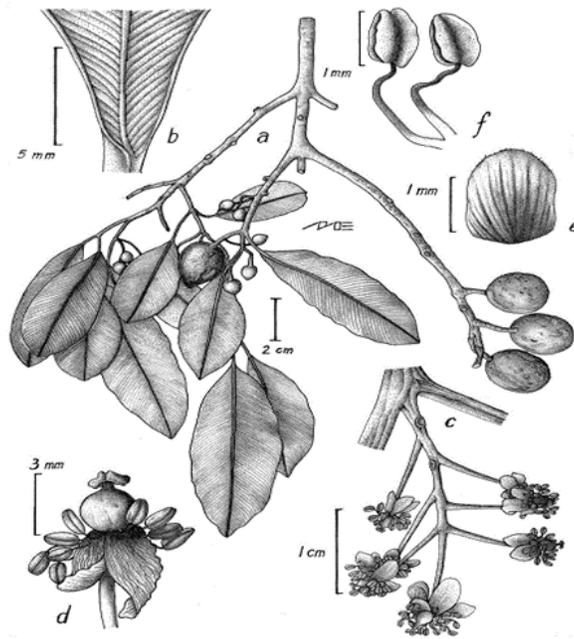


Figura 3. Morfología de *Calophyllum brasiliense*. a, rama con frutos; b, base de la hoja; c, inflorescencia; d, flor; e, pétalo; f, estambres. Ilustración de Manuel Escamilla basada en los ejemplares G. Ibarra M. 1742 y J.V. LaFrankie 1315

3.7.3.1. Origen y distribución

Se extiende desde México, Centroamérica, Venezuela, Colombia, Perú, Bolivia, Brasil y las Guayanas. En México crece en los estados de Campeche, Chiapas, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz y Yucatán (Velázquez *et al.*, 2009).

3.7.3.2. Clasificación taxonómica

Calophyllum brasiliense es compleja y ha sido difícil de clasificar, actualmente es el único representante de este género.

Los taxónomos experimentan confusión para caracterizarla. El Missouri Botanical Garden indica la siguiente clasificación taxonómica:

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Superorden: Rosanae Takht.

Orden: Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl

Familia: Calophyllaceae J. Agardh

Subfamilia: Kielmeyeroideae

Tribu: Calophylleae

Género: *Calophyllum* L.

Especie: *C. brasiliense* Cambess.

3.7.3.3. Análisis fitoquímico y algunos efectos biológicos de *C. brasiliense*

Los principales compuestos aislados en la fuente botánica de *C. brasiliense* se muestran en el cuadro 3.

Cuadro 3. Compuestos identificados y actividad biológica de *Calophyllum brasiliense*

Compuestos identificados	Actividad biológica	Referencia
Dipiranocumarinas tetracíclicas	Antiviral (vs TR VIH-1) y contra la bacteria	Huerta Reyes <i>et al.</i> (2004).
(+)-Calanólido A		
(-)-Calanólido (Costatólido)	B <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	
(+)-Calanólido C		
Soulatrólido		
Triterpenos	Inhibición de tumores y analgesia	Pretto <i>et al.</i> (2004); Reyes-Chilpa <i>et al.</i> (1997).
Friedelina		
Compuestos fenólicos	Inhibición de <i>S. agalactiae</i> ,	
Ácido protocatechuico	<i>Candida</i>	García-Zebadúa <i>et al.</i> (2014).

albicans, *B. cereus*, *S.*
aureus, *S. saprophyticus*,

Flavonoides

Brasixantonas A-D y Inhibición de tumores,
Cudraxantona F, 1,3,5,6- Tripanocida (*T. cruzi*/ García-Zebadúa *et al.*
tetrahidroxi-2-(3-metil-2- Chagas), analgesia, (2014); Lemos *et al.*
butenil)-xantona y Gastroprotección (2016).

Jacareubina Antibacterial
6-desoxi-jacareubina, (*Helicobacter pylori*, *B.*
Epicatequina, *cereus* y *S. epidermis*)

Cromanonas

Ácidos de cromanona

Cumarinas tipo Mammea Antileshmaniasis,
Mammea A/BA, Mammea citotóxico,
A/BB, Isomammeigina, antiespamódica/relajante, Reyes-Chilpa *et al.*
Mammea B/BA, B/BB Antibacterial, Citotóxico (2004); Yasunaka *et al.*
Mammea B/BA ciclo F en líneas tumorales (2005); Domeneghetti *et*
Mammea B/BB ciclo F, humanas, Bactericida y *al.* (2018).
Mammea C/OA y C/OB, citotóxicas, Bactericida
Mammea A/BA+A/BB (enterobacterias): *S.*
Mammea C/OA+C/OB *aureus*, *S. epidermidis* y
B. subtilis,

3.7.4. Descripción de *Piscida piscipula* (L.) Sarg.

Conocido como barbasco o árbol venenoso para peces, es un árbol de hoja caduca que crece hasta 15 m de altura y un diámetro de 46 a 118 cm. La corteza es de color gris oscuro a marrón con crestas finas, longitudinales y transversales con un grosor de 3-6 mm y está agrietada, arrugada y áspera, tiene un sabor acre y amargo y un olor desagradable que causa sensación de ardor en la boca. La planta presenta

flores de color azul a blanco con rayas blancas que dan paso a vainas con cuatro alas longitudinales que florece en mayo. Las hojas son alternas (Figura 4), pinnadamente compuestas y tienen una longitud de 9-23 cm. Cada hoja posee 11 folíolos de 4-8 cm de largo que son de color verde oscuro en el haz y verde pálido a gris en el envés (Macfadyen, 1837).



Figura 4. Rama de *Piscidia erythrina* mostrando hojas y flores. Tomado de Kohler's Medicinal Pflanz, Banda III, pág. 196.

3.7.4.1. Origen y Distribución

El árbol es nativo de América Central y del norte de Sudamérica. Se encuentra comúnmente en el sur de la Florida, EUA, el sur de México y las Antillas (Northeast School of Botanical Medicine, 2017).

3.7.4.2. Taxonomía

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Superorden: Rosanae Takht.

Orden: Fabales Bromhead

Familia: Fabaceae Lindl.

Género: *Piscidia* L.

Basónimo: *Erythrina piscipula* L.

Otros nombres con *Erythrina piscipula* L. como basónimo:

Ictiomethia piscipula (L.) Hitchc.

***Ichthyomethia piscipula* (L.) Kuntze (Trópicos, 2019).

3.7.4.3. Análisis fitoquímico y algunos efectos biológicos

La planta tiene una larga historia de uso por los nativos de Jamaica como hipnótico y veneno para peces. El sabor o la comestibilidad del pescado no se ven afectados de ninguna manera por este proceso (Costello & Butler, 1948; Auxence, 1953) El interés por esta especie ha surgido en gran medida por sus propiedades como analgésicos e insecticidas, especialmente de la corteza de la raíz (Moore, & Eng, 1956). En el cuadro 4 se muestran los principales compuestos.

Cuadro 4. Compuestos aislados en *Piscidia piscipula* (= *P. erythrina*). La mayoría son compuestos neutros y fenólicos altamente oxigenados.

Compuestos identificados	Actividad biológica	Referencia
Corteza de raíz; ácido p-idroxibenoziltartárico		Bridge <i>et al.</i> (1948).
Isoflavonas (jamaicina, ictinona piscidona, pisceritrona, 2'-deoxipisceritrone, 6'-prenilpisceritrone y 3',5'-diprenilgenisteína, cinco rotenoides afines (deguelina, sumatrol, miletona, isomilletona y deshidromilletona) y la lisetina de cumaronocromona		Moore & Eng (1956).
En raíz: Isoflavonoides (rotenona e ictinona)	Ictiotóxico	Ingham <i>et al.</i> (1989).
Isoflavonas: 3'-(A2- isopentenil) genisteína pisceritrinetina (lo), 2'-hidroxipisceritrinina durmillona, junipegenina A piscigenina,		Tahara <i>et al.</i> (1993).

eritgenina, alolicoisoflavona A, piscicogenina, piscidanona, isopisceritrona, piscisoflavonas A-C, Pisceritramina e isopisceritramina					
Sesquiterpenos:	α -humulene	y	β -	Citotóxico	Legault <i>et al.</i> (2003); Schmidt <i>et al.</i> (2007).
	caryophyllene				
Taninos				<i>Rhipicephalus</i> (<i>Boophilus</i>) <i>microplus</i> ,	Fernández-Salas <i>et al.</i> , (2011).

3.7.5. Descripción del género *Salmea scandens* (L.) DC.

Conocido como bejuco de Chile, Chilemecate, chilmecate, chilmécatl o hierba del pescado. Es un arbusto erecto o trepador de hasta 9 m de largo; a veces procumbente de 4 m de altura. Ramas fuertemente estriadas, glabras o ligeramente pilosas. Hojas ovaladas o lanceoladas (Fig. 5), agudas o acuminadas, redondeadas o angostadas en la base, denticuladas o enteras, de papel o finamente coriáceas. Las inflorescencias de muchas cabezas, más bien abiertas, de hasta 10 cm. de diámetro; pedúnculos de 5-15 mm, raramente más glabro o puberal. Cabezas en forma de copa, de 5-7 mm de ancho, blancas. Escamas involucradas 2-3-seriadas, oblongas, agudas u obtusas, de unos 4 mm. Receptáculo cónico de hasta 5 mm de altura; escamas agudas, 5 mm. Corolas 2 mm. Aquenios oblongo, con un estrecho margen pálido (Fawcett & Rendle, 1936).



Figura 5. Morfología de *Salmea scandens* (L.) DC. A, Parte superior de la planta. B, inflorescencia completa. C, corte longitudinal de la inflorescencia. D, flor con escama, E, Estambres y estilo. F, Aquenio maduro. Tomado de Fawcett & Rendle, (1936).

3.7.5.1. Origen y Distribución

El género *Salmea* consta de 10 especies, divididas en tres grupos. En el primer grupo se encuentran *S. scandens* que se encuentra desde México hasta Argentina y Brasil, pasando por Centroamérica y en las islas del Caribe. Está estrechamente relacionado con *S. ortocephala* de América Central y un poco más distante en relación con las especies de *S. oligocephala* y *S. palmeri* de las zonas central y occidental de México. El grupo dos, Pseudocalea tiene cinco especies estrechamente relacionadas (*S. glaberrima*, *S. caleoides*, *S. montana*, *S. insipida* y *S. pauciceps*) que son endémicas de Cuba. El tercer grupo Serrano (*S. petrobioides*) se encuentra en las Bahamas y en la costa de Cuba (Bolick, 1991).

3.7.5.2. Taxonomía

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Superorden: Asteranae Takht.

Orden: Asterales Link

Familia: Asteraceae Bercht. & J. Presl

Género: *Salmea* DC.

Otros nombres. *Bidens scandens* L. Basionimia: *Fornicaria scandens* (L.) Raf. (Trópicos, 2019).

3.7.5.3. Análisis fitoquímico y algunos efectos biológicos

En el cuadro 5 se muestran algunos de los compuestos aislados de *S. scandens*.

Cuadro 5. Compuestos aislados de la fuente botánica de *Salmea scandens*.

Compuestos identificados	Actividad biológica	Referencia
Amidas, Las partes aéreas contienen gertnacreno D, escualeno, nerolidol, spathulenol y la isobutilamida, feniletilamidas, epóxido y aldehído.		Bohlmann <i>et al.</i> (1985).
Raíz; costunolida y las isobutilamidas de 2E,4E,8Z,10Z- y 2E,4E,8Z,10E-dodeca-2,4,8,10-tetraenoico		Herz & Kulanthaivel (1985).
amidas de poliacetileno.		Bolick (1991).
Hojas: germacreno D y elemol. Tallo: isómeros de N-isobutil-(2E,4E,8Z,10E/Z)-dodecatetraenamida	Insecticida, Bactericida, fungicida	Villa-Ruano <i>et al.</i> (2015).

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

- Determinar el efecto antifúngico de los extractos vegetales de *Enterolobium cyclocarpum*, *Equisetum myriochaetum*, *Calliophyllum brasiliense*, *Piscidia piscipula* y *Salmea scandens* para el control de *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*, *in vitro* e *in vivo* en frutos de jitomate (*Solanum lycopersicum*).

4.2. Objetivos específicos

- Evaluar tres métodos de extracción (Soxhlet, maceración, ultrasonido asistido) con tres solventes (agua, acetona, éter etílico) en las fuentes botánicas de *E. cyclocarpum*, *E. myriochaetum*, *C. brasiliense*, *P. piscipula* y *S. scandens*.
- Determinar la efectividad antifúngica de los extractos vegetales contra *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*, *in vitro* e *in vivo* en frutos de jitomate (*Solanum lycopersicum*).
- Identificar los principales grupos funcionales de compuestos presentes en los diferentes extractos mediante espectroscopía infrarroja con Transformación de Fourier (FTIR).

V. HIPÓTESIS

Los extractos de *E. cyclocarpum*, *E. myriochaetum*, *C. brasiliense*, *Piscidia p.* y *S. scandens*, extraídos con diferentes solventes (agua, acetona y éter etílico) inhiben el desarrollo micelial de *F. oxysporum* y *A. solani*, *in vitro* e *in vivo* en el jitomate.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Extractos Vegetales

6.1.1. Recolecta de las fuentes botánicas

Las plantas fueron recolectadas durante los meses de enero-marzo del 2018, en los municipios de Copainalá y Villa Corzo, Chiapas, México, localizada en 17°7'34"N; 93°12' 45" O a 980 msnm, y 16° 5' 21" N; 93° 19' 9" O a 650 msnm, se depositaron en bolsas de papel para su traslado al Laboratorio de Fisiología de Poscosecha, Patología vegetal y Control biológico del Centro de Investigación en Desarrollo y Alimentación (Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua). En el laboratorio se lavaron con agua corriente por 1 min, después se desinfectaron en NaClO al 2% por 1 min, seguido de dos lavados con agua destilada estéril por 3 min cada uno, respectivamente. Para *E. cyclocarpum* y *C. brasiliense* se utilizaron la corteza del tallo, de *E. myriochaetum* se utilizaron tallos y hojas, de *P. piscipula* se utilizó las raíces y de *S. scandens* sus hojas y tallo. Posteriormente se secaron en un horno (FinePCR Combi-SV12DX) a 40 °C por 48 h, en seguida, se pulverizaron en un molino Ika M20 y se tamizaron en una malla número 20 (0.84 mm). El pulverizado se colocó en bolsas de plástico ziploc selladas herméticamente y se almacenó a temperatura ambiente sin luz hasta su utilización (López-Benítez *et al.*, 2005).

6.1.2. Identificación morfológica de las fuentes botánicas

Para la identificación morfológica de las especies vegetales, se procedió a depositar los ejemplares en el Herbario CHIP, en el cual a través de claves taxonómicas-dicotómicas se lograron identificar. Las especies identificadas fueron *E. cyclocarpum*, *E. myriochaetum*, *C. brasiliense*, *P. piscidia* se identificó mediante claves pictóricas ya que se no se contaba con material fértil, y para Chilemecate (*S. scandens*), una especie poco común y que solo se conoce su nombre local, se hizo mediante registros en campo y una revisión exhaustiva de la bibliografía existente para determinar el género *Salmea*; también, se realizaron ilustraciones y se tomaron

imagenes de las estructuras que demuestran las características morfológicas, utilizando los conceptos de las definiciones sobre los distintos caracteres morfológicos de Font Quer (1953) y Moreno (1984).

La descripción macromorfológica de la planta fresca, se realizó a simple vista y con ayuda de un microscopio estereoscopio Bausch & Lomb ASZ30L3 Binocular. En las hojas de la especie se determinaron las características siguientes: forma del limbo, borde, ápice, base, peciolo, venación, consistencia y color (ver anexo 1). A los tallos e inflorescencia se les analizó: forma y color (Manzano *et al.*, 2014) (ver anexo 2;3).

6.1.2.1. Preparación de los extractos de plantas

Los compuestos bioactivos se extrajeron mediante tres métodos de extracción 1) Extracción Asistida por Ultrasonido, 2) Soxhlet y 3) Maceración, utilizando tres solventes de distinta polaridad, éter etílico, acetona y agua. 1.- Extracción asistida por ultrasonido. Se utilizaron 40 g de muestra del pulverizado de cada fuente botánica, se mezcló con 200 mL de solvente y se incubó en un baño de ultrasonido (20 kHz, 45 min). El extracto se filtró (papel filtro Melitta Super Premium #2) y se incubó a 40 °C para eliminar el solvente (Huie, 2002; Chen *et al.*, 2011). 2.- Extracción Soxhlet. Se utilizaron 40 g del pulverizado y se extrajo secuencialmente con 200 mL de cada solvente (éter etílico 34.6°C, acetona 56°C y agua 100°C), posteriormente los solventes se eliminaron usando un horno a 40 °C (Gao, 2005). 3.- Extracción por maceración. El pulverizado del material vegetal se mezcló con los diferentes solventes (éter etílico, acetona y agua) en proporción 1:4, por 24 h con agitación a 200 rpm a 25° C. Se filtró y se eliminó el solvente en un horno a 40 °C (Huie, 2002; Chen *et al.*, 2011). Los extractos obtenidos se almacenaron en viales color ámbar a 4 °C hasta su uso (Montes-de-Oca-Márquez, 2017). Todas las extracciones se llevaron a cabo por triplicado.

6.1.2.2. Rendimiento de los extractos vegetales

Para determinar el rendimiento de cada uno de los extractos se realizó de acuerdo con Garrido (2013) mediante la fórmula siguiente:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{[\text{ES}(\text{g}) \times 100]}{\text{M}(\text{g})}$$

Dónde: ES = masa del extracto seco y M = masa del material vegetal de partida

6.1.2.3. Preparación de los extractos vegetales para los bioensayos

Para evaluar la efectividad biológica de los extractos fueron resuspendidos en dimetilsulfóxido (DMSO) (Chamorro *et al.*, 2018), y se prepararon diluciones a concentraciones de 1000-5000 ppm.

6.2. Actividad fungistática *in vitro* de los extractos contra *F. oxysporum*

El hongo *F. oxysporum* se obtuvo de la colección de hongos del Laboratorio de Patología Vegetal, Control Biológico y Poscosecha del Centro de Investigación en Alimentación Desarrollo (CIAD-Cd. Cuauhtémoc, Chihuahua). El efecto fungistático de los extractos se evaluó contra *F. oxysporum* en medio papa dextrosa agar (PDA) suplementado con diferentes concentraciones, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 ppm (De Rodríguez *et al.*, 2015), los extractos probados fueron los que mostraron mejor efecto en los ensayos preliminares (Cuadro 6), siendo las fuentes botánicas de *E. cyclocarpum*, *P. piscipula* y *S. scandens*, utilizando como control positivo Imazolil 44.65%. suspensión en capsula CS, 4 ml/L y como control absoluto PDA-DMSO.

Cuadro 6. Tratamientos empleados para determinar la actividad antifúngica *in vitro* de las fuentes botánicas contra *Fusarium oxysporum*.

Extractos	
Fuente botánica	Técnica-solvente
<i>S. scandens</i>	Maceración-acetona
<i>P. piscipula</i>	Maceración-agua
<i>E. cyclocarpum</i>	Maceración-agua

<i>S. scandens</i>	Soxhlet-acetona
<i>P. piscipula</i>	Soxhlet-Éter etílico
<i>S. scandens</i>	Ultrasonido asistido-agua

Se inocularon 13.8 µl de 6.5×10^6 conidias/mL de *F. oxysporum* suspendidas en Tween 60 al 0.05% (Davicino *et al.*, 2007), en cada uno de los tratamientos (cuatro repeticiones), se incubaron a 28 °C y el crecimiento radial se midió cada 24 h, hasta que el crecimiento del micelio testigo cubrió la superficie del medio (Churata-Oroya *et al.*, 2016; Montes-de-Oca-Márquez *et al.*, 2017). Para determinar el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR), se calculó mediante la fórmula de Ezziyani *et al.* (2004). $PICR = [(R1 - R2) / R1] \times 100$

Donde R1 es el diámetro del patógeno testigo y R2 es el diámetro del patógeno con los extractos de las plantas.

6.3. Bioensayo de efectividad biológica de los extractos contra *A. solani* en poscosecha

La cepa de *A. solani* se aisló de frutos de jitomate dañado por este patógeno, se mantuvo en papa dextrosa agar (PDA) a 25°C por 7-14 d. Para la identificación del hongo, se realizaron montajes de micelio en porta y cubreobjetos y se tiñeron con azul de lactofenol para su observación en un microscopio (Carl Zeiss, Jena Alemania) a 1000x magnificaciones y se identificó mediante claves taxonómicas (Watanabe, 2010). Las conidias se cosecharon con agua estéril con 0.05% de Tween 20, y se ajustaron a 10^6 conidias/mL (Zhang *et al.*, 2014).

Para este bioensayo se partió del extracto que tuvo mayor inhibición contra el patógeno *F. oxysporum*, utilizando solo los obtenidos por maceración-acetona, a una concentración de 5000 ppm (Cuadro 7).

Cuadro 7. Tratamientos empleados para determinar la efectividad biológica de las fuentes botánicas contra *Alternaria solani*.

Extractos	
Fuente botánica	Técnica-solvente-concentración
<i>E. cyclocarpum</i>	
<i>Equisetum sp</i>	
<i>C. brasiliense</i>	Maceración-acetona 5000 ppm
<i>S. scandens</i>	
<i>P. piscipula</i>	

Los frutos de jitomate Saladette, procedentes del supermercado de Villa Corzo, Chiapas con madurez comercial, fueron seleccionados por sanidad y tamaño medio, se lavaron con agua destilada estéril y se desinfectaron en etanol al 70% por 30 s, se dejaron secar a temperatura ambiente sobre papel absorbente en una campana de flujo laminar (Pane *et al.*, 2016). En cada fruto se realizaron tres lesiones longitudinalmente de 2 mm de diámetro y 2 mm de profundidad con un punzón de acero inoxidable previamente estéril. Las lesiones se inocularon con 20 µl de los extractos extraídos por maceración-acetona, a una concentración de 5000 ppm. Posteriormente cada lesión se inoculó con 10 µl de suspensión de esporas de *A. solani* (10⁶ esporas/ml), utilizando como testigos Hymexazol y DMSO, respectivamente. Los frutos inoculados se colocaron en charolas de plástico (marca baquelita® de 25×13×10 cm) cerradas herméticamente suplementada con algodón húmedo e incubadas a 26 ± 2 °C y un fotoperiodo 14 h luz:10 h de oscuridad por 5 d (Masmoudi *et al.*, 2017; Pane *et al.*, 2016). Se utilizaron tres repeticiones con 10 frutos por repetición en un diseño de bloques al azar. Se determinó la incidencia del patógeno de acuerdo con Karim *et al.* (2015) donde la incidencia de la enfermedad (%) = (número de frutos dañados /número de frutos totales) × 100, y la severidad fue calculada a partir del porcentaje observado en las frutas infectadas no tratadas,

con la fórmula: Lesión por podredumbre de *A. solani* %= $100 \times (\text{diámetro de la lesión en frutos tratados} / \text{diámetro de frutos control no tratados})$ (Pane *et al.*, 2016).

El tamaño de la lesión fue calculado midiendo 5 frutos al azar de cada charola para cada tratamiento utilizando la fórmula, Tamaño de lesión (mm^2) = $\pi \times a/2 \times b/2$, a: la longitud de la mancha de la enfermedad (mm), b: el ancho de la mancha de la enfermedad (mm) Li Q *et al.*, (2015).

El porcentaje de inhibición del hongo en los tratamientos se calculó utilizando la siguiente fórmula: % inhibición= $(A-B) / A \times 100$, donde A es el diámetro del patógeno control y B el diámetro del patógeno con tratamiento (Ravikumar *et al.*, 2013; Silva-Cruz, 2015).

Las observaciones microscópicas se realizaron a los 5 d para identificar el tipo de interacción hifal entre el fitopatógeno y los extractos vegetales, tales como: morfología del micelio y desarrollo de conidias (Reaves y Crawford, 1994). Los montajes microscópicos se hicieron a partir de muestras de los frutos ensayados, y utilizando azul de lactofenol como colorantes, observadas a 1000X magnificaciones (Sánchez, 2004).

6.4. Identificación de grupos funcionales por Espectroscopía Infrarroja con Transformación de Fourier (FTIR)

Se utilizó un instrumento FTIR modelo Perkin Elmer Spectrum 400®. Se procedió a limpiar el cristal contenido en el equipo con alcohol isopropílico y papel absorbente de forma suave, se ajustaron a las condiciones en el rango espectral de 4000–400 cm^{-1} con 24 barridos, siguiendo la metodología de Dos Santos Grasel *et al.* (2016). Se realizó un blanco para cada muestra con el equipo limpio. Finalmente se colocó una muestra de los extractos puros que tuvieron mayor efectividad contra los patógenos del jitomate, y se depositó en el cristal del equipo y se cubrió con la tapa metálica que provee el mismo equipo, para proteger a la muestra de posibles contaminaciones ambientales, aplicando una presión de 60 Pa, los análisis se

realizaron por triplicado y se obtuvieron los espectros, finalmente las gráficas se realizaron en el programa SigmaPlot 14.

6.5. Análisis estadístico

Los datos obtenidos se normalizaron por la función arcoseno $(x / 100)^{1/2}$ y $(x + 0.5)^{1/2}$, y se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de separación de medias de Tukey ($p < 0.05$) utilizando el programa minitab.

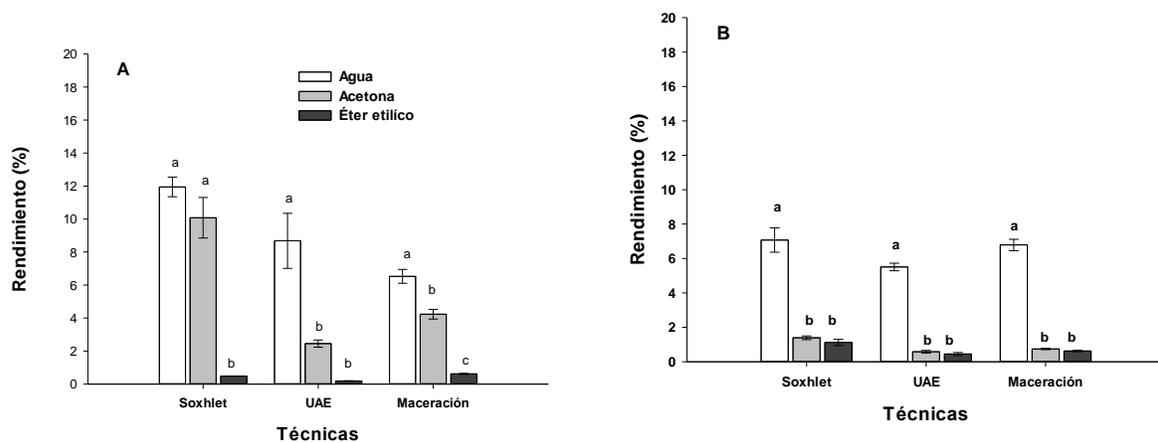
VII. RESULTADOS

7.1. Rendimientos de los extractos vegetales

Se encontró que el mayor rendimiento de los extractos fueron los siguientes; *E. cyclocarpum* y *E. myriochaetum* con la técnica del Soxhlet y el solvente agua (11.95 y 7.0%) (Figura 6 A; B), con *C. brasiliense* el mayor rendimiento fue con Soxhlet-acetona (15.64%) (Figura 6C), para *P. piscipula* con Soxhlet-agua (6.09%) (Figura 6D) y *S. scandens* con Soxhlet-agua (3.94%) (Fig. 6E).

De las cinco fuentes botánicas estudiadas, se observaron mayores rendimientos de los extractos usando la técnica Soxhlet y usando agua como solvente, a excepción de *C. brasiliense* que se recuperó mayor cantidad con Soxhlet-acetona.

El menor rendimiento se obtuvo por Ultrasonido asistido (UAE)-EE en *E. cyclocarpum* (0.18%), seguido de *S. scandens* UAE-EE (0.39%) y Maceración-Éter etílico (0.40%).



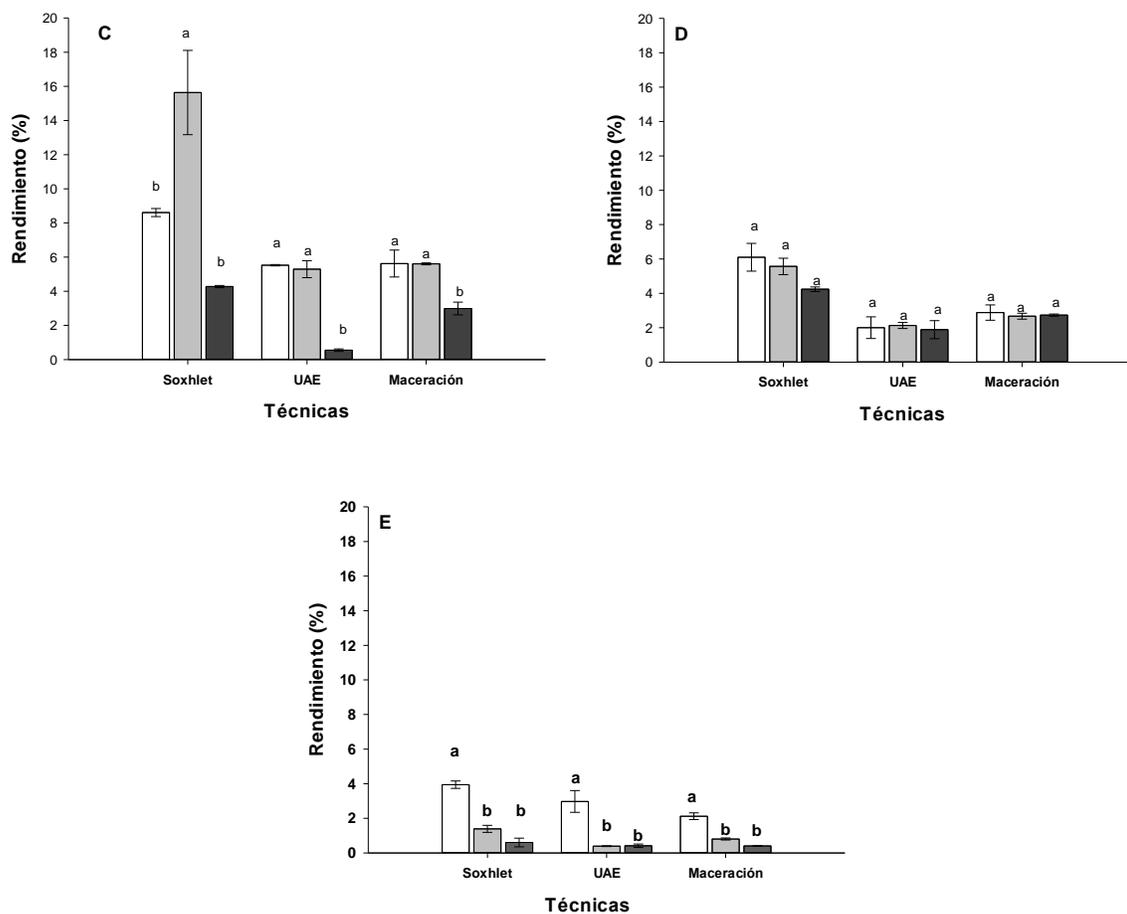


Figura 6. Porcentaje de rendimiento de los extractos vegetales obtenido con tres técnicas de extracción Soxhlet, Ultrasonido asistido y maceración, con tres diferentes solventes (agua, acetona, éter etílico) A: *Enterolobium cyclocarpum*, B: *Equisetum myriochaetum*, C: *Calophyllum brasiliense*, D: *Piscidia piscipula* y *Salmea scandens*. Las medias que comparten la misma literal en técnicas y en cada solvente son estadísticamente iguales de acuerdo con Tukey ($p \leq 0,05$).

7.2. Actividad fungistática *in vitro* de los extractos sobre el crecimiento de *F. oxysporum*

En este experimento se probaron los extractos que presentaron inhibición del crecimiento radial del patógeno (PICR) en los bioensayos preliminares.

Se encontró que los extractos de *E. cyclocarpum* y *P. piscipula* obtenidos mediante la técnica de maceración-agua inhibió el crecimiento radial del patógeno con valores de 2.0 a 8.96 y 0.8 a 21.51%, *S. scandens* de 7.04 a 76.72% con maceración-acetona (Figura 7A).

Los extractos de la fuente botánica de *P. piscipula* obtenidos mediante la técnica Soxhlet-Éter etílico mostraron valores de PICR de un rango de 6.23 a 49.45% y alrededor de 2.30 a 56.86% con *S. scandens* mediante Soxhlet-acetona (Figura 7B).

En la técnica de ultrasonido asistido se observó una ligera inhibición de 4.39 a 11.83% con *S. scandens* usando agua como solvente (Figura 7C).

Mientras que el extracto obtenido por maceración y usando agua como solvente de la fuente botánica *P. piscipula* presentó el valor más bajo de PICR del patógeno con un rango de 0.3 % a 1000 ppm. Es importante mencionar que el resto de las combinaciones de técnicas de extracción con diferentes solventes no mostraron inhibición.

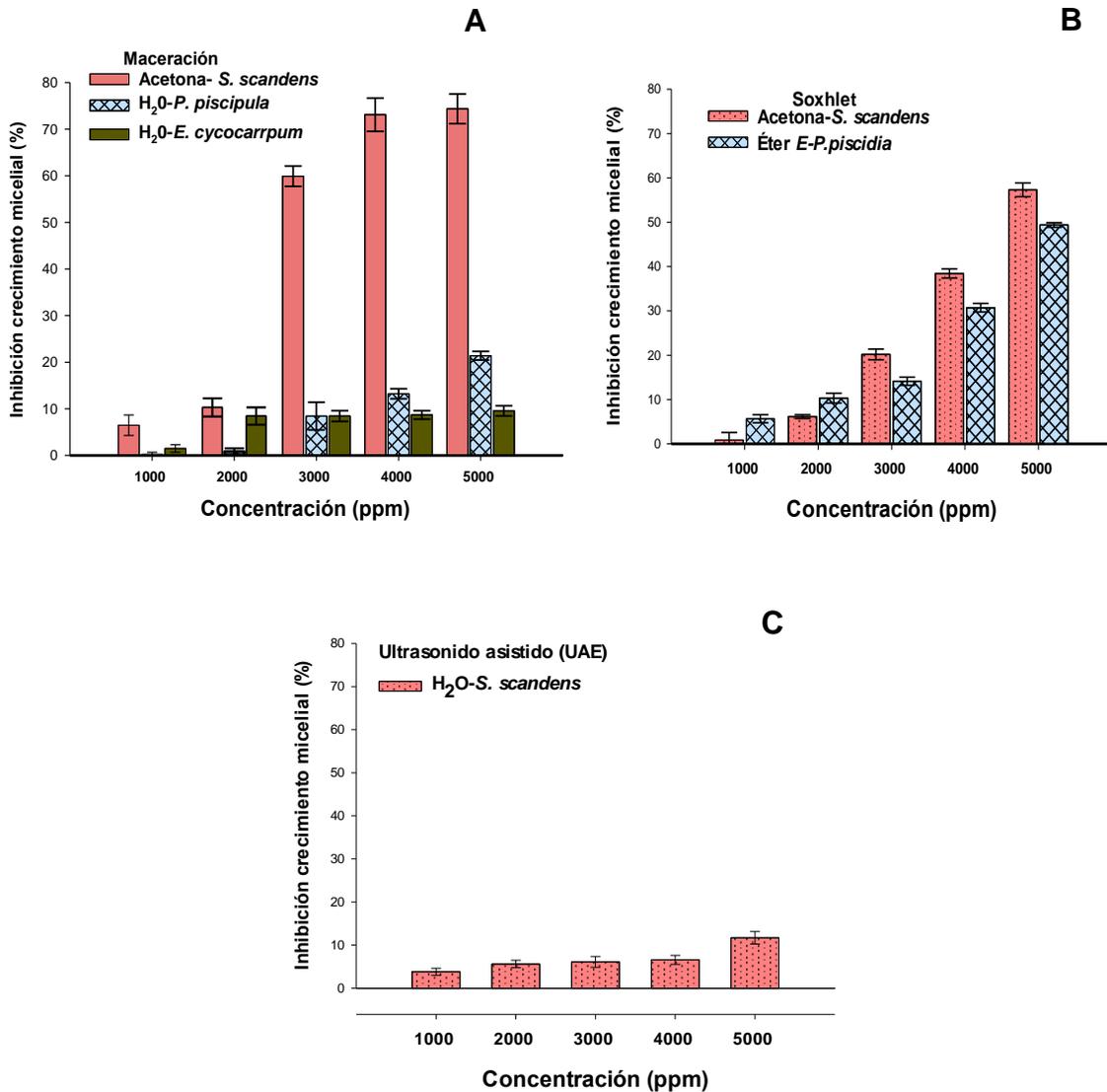


Figura 7. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Fusarium oxysporum* por diferentes concentraciones de extractos, obtenidos con diferentes técnicas de extracción y solventes. A. Maceración-acetona *S. scandens*, Maceración-agua *P. piscipula* y *E. cyclocarpum*; B. Soxhlet-acetona *S. scandens*, Soxhlet-Éter etílico *P. piscipula*; C. UAE-Ultrasonido asistido-Agua *S. scandens*, después de 12 d de interacción.

Se observó que el efecto de los diferentes extractos contra *F. oxysporum* fue fungistático (Figura 8), ya que no logró el 100% de inhibición.

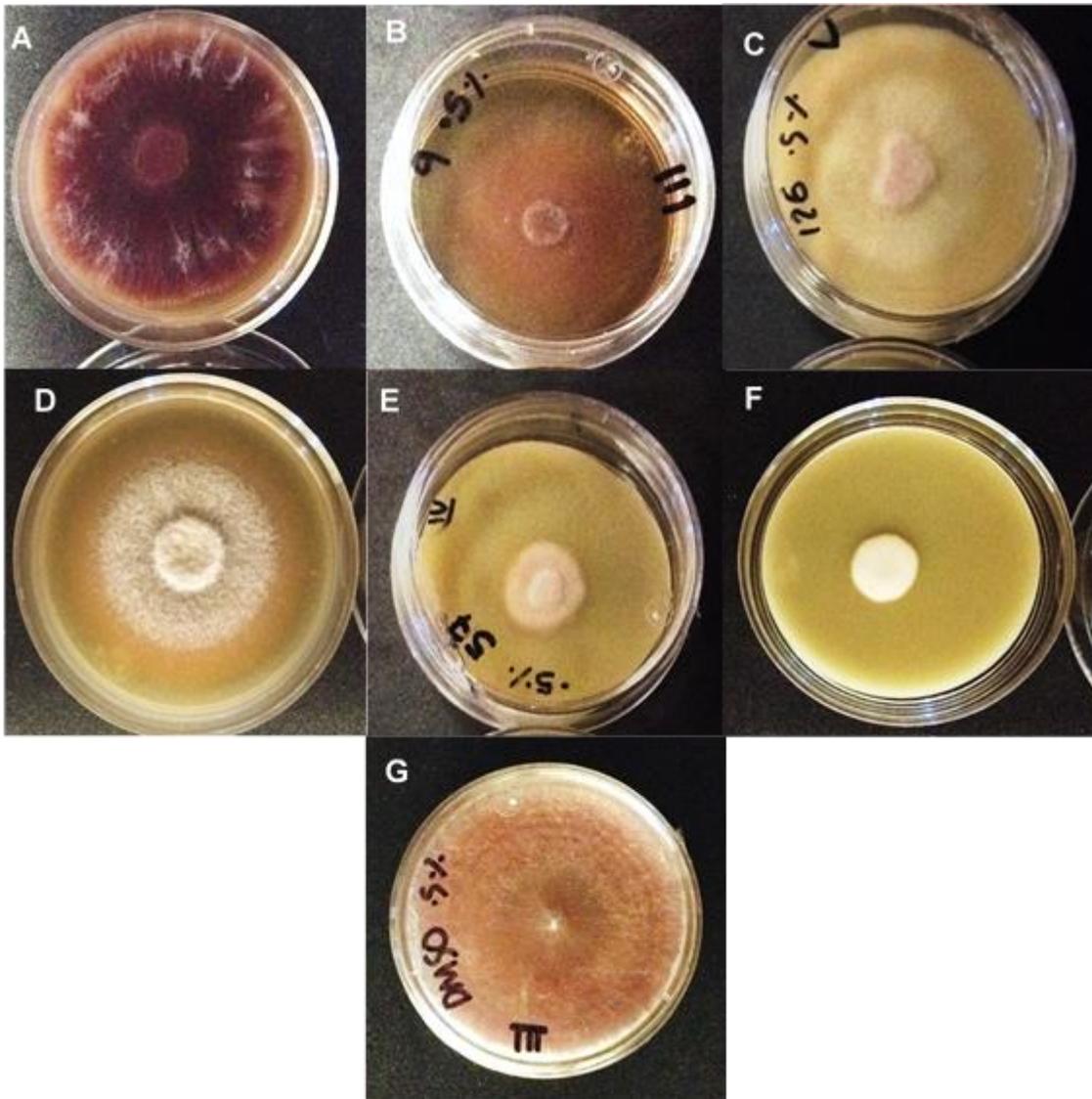


Figura 8. Representación esquemática del efecto de los extractos vegetales sobre el crecimiento radial de *Fusarium oxysporum* en medio envenenado a 5000 ppm después de 13 d de interacción. A: Maceración-agua *Enterolobium cyclocarpum*; B: Ultrasonido asistido (UAE)-agua *Salmea scandens*; C: Soxhlet-Éter E *Piscidia piscipula*; D: Maceración-agua *P. piscipula*; E: Soxhlet-acetona *S. scandens*; F: Maceración-acetona *S. scandens*; G: Testigo absoluto.

7.3. Extractos de plantas inhiben el crecimiento de *Alternaria solani* en frutos de jitomate

A continuación, se presentan los resultados de cada una de las variables medidas en este experimento; diámetro de lesión, tamaño de lesión severidad, incidencia y porcentaje de inhibición.

7.3.1. Diámetro y tamaño de lesión

En el cuadro 8, se observa que los frutos tratados con los extractos contrarrestaron los efectos del patógeno inhibiendo su crecimiento en cada una de las variables evaluadas con los siguientes valores; diámetro de la lesión 0.48, 1.40 y 2.54 mm² con *P. piscipula*, *E. myriochaetum* y *S. scandens*, así como el tamaño de la lesión 2.79, 5.47, 11.71 mm², respectivamente. Las lesiones de menor tamaño alrededor de 0.48, 1.40 y 2.54 mm² con *P. piscipula*, *E. myriochaetum* y *C. brasiliense*, respectivamente.

También se aprecia en la figura 9, que el daño ocasionado por el patógeno es similar a los frutos testigo (Figura 9A) y tratadas con el fungicida comercial (Figura 9B), el orden de efectividad de los extractos es la siguiente, primero fue *E. Cyclocarpum* (Figura 9 C), *C. brasiliense* (Figura 9 D) y *S. scandens* (Figura 9 E). En la figura 9F, se observó una inhibición significativa del diámetro de la lesión, siendo los extractos de *E. myriochaetum* y *P. piscipula* los más efectivos (Figura 9G; H)

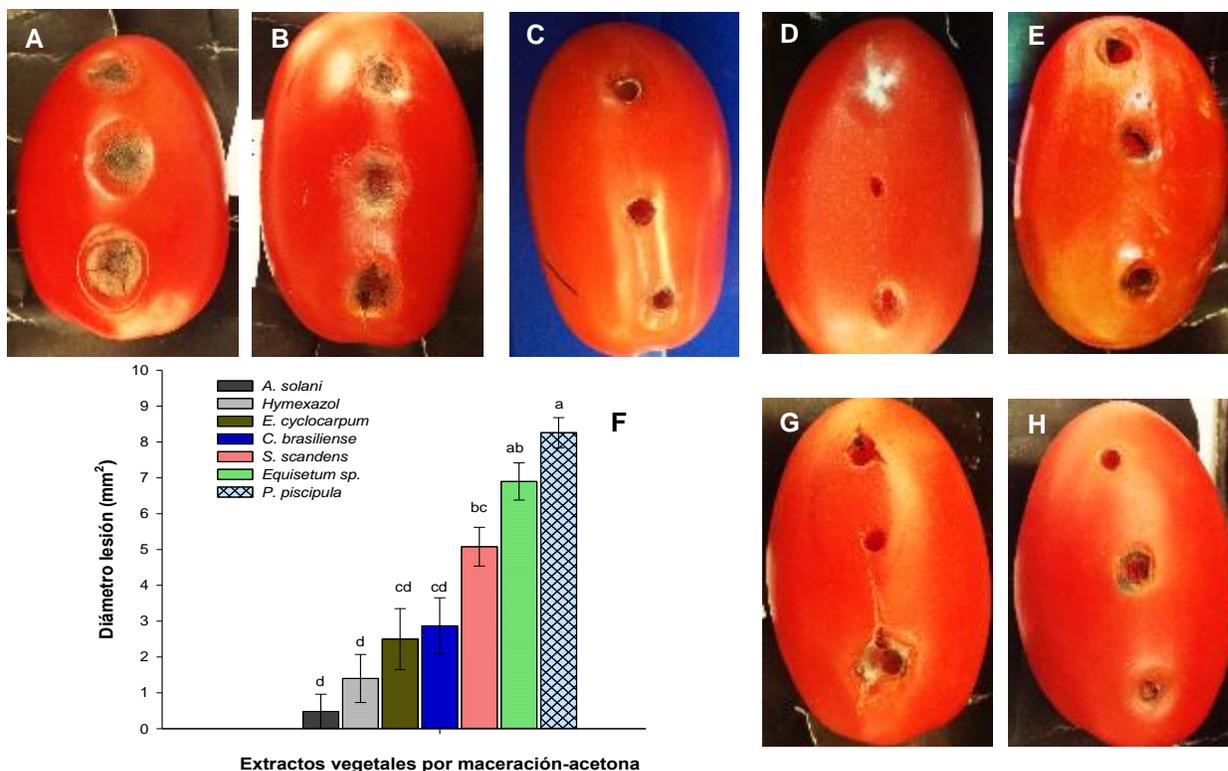


Figura 9. Representación esquemática de los efectos de los extractos vegetales obtenidos por maceración-acetona a 5000 ppm sobre el diámetro de la lesión causada por *Alternaria solani* (después de 5 d). (A): Frutos inoculados con DMSO-*A. solani*, (B): frutos con *A. solani* y el fungicida comercial (Himexazol); (C): Extracto de *Enterolobium cyclocarpum*; (D) Extracto de *Calophyllum brasiliense*; (E) extracto de *Salmea scandens*; (F) Grafica del tamaño del diámetro de la lesión, (G) extracto de *Equisetum myriochaetum* y (H) extracto de *Piscidia piscipula*, las medias \pm errores estándar marcados con letras diferentes en el histograma indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

7.3.1. Severidad

Los extractos vegetales obtenidos por maceración acetona a 5000 ppm de las cinco fuentes botánicas evaluadas presentaron efectos de control contra el patógeno inhibiendo significativamente la severidad y el daño interno de la enfermedad respecto a los testigos (Cuadro 8, Figura. 10 A; B).

La severidad de la lesión se inhibió al aplicarle los extractos de *E. cyclocarpum*; *S. scandens*, *C. brasiliense*, *E. myriochaetum* y *P. piscipula*, con 43.9, 33.7, 32.4, 15.66 y 5.69%, respectivamente (Figura 10 C; G).

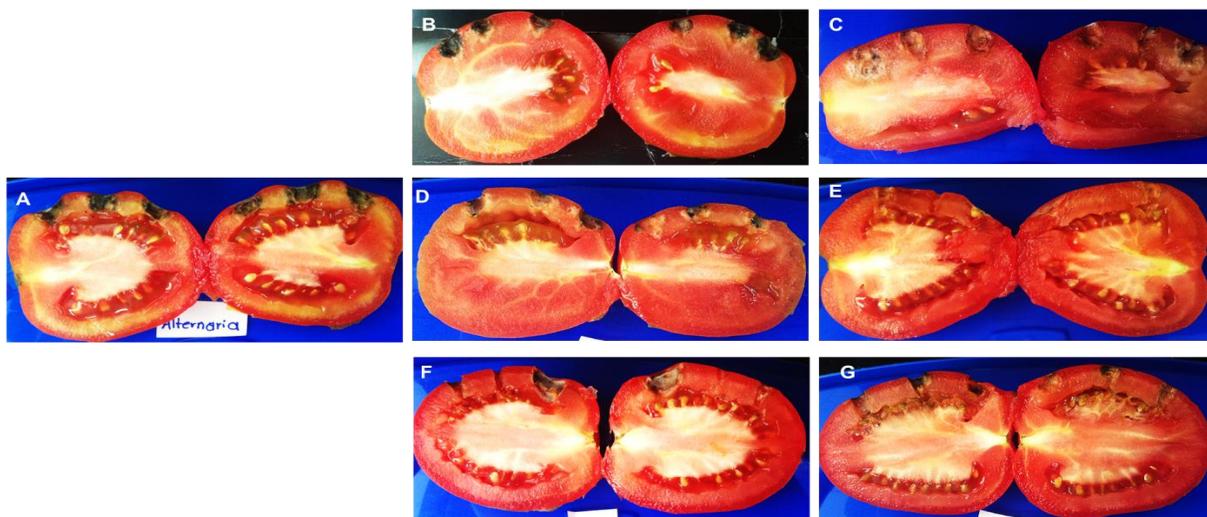


Figura 10. Representación esquemática de la severidad y el daño interno por *Alternaria solani* en frutos de jitomate tratadas con diferentes extractos a 5000 ppm obtenidos por maceración-acetona después de cinco días de interacción. (A): Frutos inoculados con DMSO-*A. solani*, (B): frutos con *A. solani* y el fungicida comercial (Himexazol); (C): frutos con extracto de *Enterolobium cyclocarpum*; (D) frutos con extracto de *Calophyllum brasiliense*; (E) frutos con extracto de *Salmea scandens*; (F) frutos con extracto de *Equisetum myriochaetum* y (G) frutos con extracto de *Piscidia piscipula*.

7.3.2. Incidencia

En esta evaluación, la incidencia de los daños en frutos de jitomate fue significativamente mayor en los testigos y no difirió con el extracto de *E. cyclocarpum* (Cuadro 8). Sin embargo, los niveles de daño con los extractos de *C. brasiliense*, *E. myriochaetum*, *S. scandens* y *P. piscipula* fueron significativamente menores ($p < 0.05$), siendo el más efectivo el extracto de *P. piscipula* logrando inhibir hasta el 80% de daños.

Cuadro 8. Efectividad biológica de los extractos vegetales obtenidos por maceración-acetona a concentración de 5000 ppm contra *Alternaria solani* en frutos de jitomate después de cinco días de interacción.

Variables	Tratamientos						
	Maceración-acetona 5000 ppm						
	DMSO + <i>A. solani</i>	Hymexazol + <i>A. solani</i>	<i>E. cyclocarpum</i>	<i>E. myriochaetum</i>	<i>C. brasiliense</i>	<i>P. piscipula</i>	<i>S. scandens</i>
Tamaño lesión (mm ²)	58.19±7.06 a	40.53±3.67 a	22.27±2.88 b	5.47±1.89 bc	11.71±2.38 bc	2.79±2.79 c	12.99±2.47 bc
Diámetro lesión (mm ²)	8.2±0.42 a	6.9±0.52 ab	5.08±0.54 bc	1.40±0.6 d	2.87±0.78 cd	0.48±0.48 d	2.54±0.85 cd
Severidad lesión (%)	100 a	86.58±8.3 a	43.95±7.41 b	15.66±7.39 bc	32.41±8.17 bc	5.69±5.69 c	33.7±12.2 bc
Incidencia (%)	100	100	100	50	75	20	40
(%) de inhibición	0.0±0.0 c	15.65±6.44 c	53.70±7.72 b	82.78±8.24 ab	64.90±9.61 ab	94.05±5.95 a	68.9±10.5 ab

Diferentes letras entre columnas significan diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$)

7.3.3. Efectividad de los extractos

Los extractos presentaron efectos inhibitorios sobre el crecimiento de *A. solani* comparado con el fungicida químico (Hymexazol) y el testigo absoluto DMSO, los resultados indican que, los extractos de *P. piscipula*, *E. myriochaetum* y *S. scandens* fueron más eficaces en el control de podredumbre del jitomate sobre los extractos de *E. cyclocarpum* y *C. brasiliense* (Cuadro 8).

En la figura 11 se muestra una representación esquemática de los frutos tratados con el extracto de *P. piscipula*, donde se observa la inhibición del crecimiento de *A. solani* hasta en un 94.05%, seguida de *E. myriochaetum* con 82.78% y *S. scandens* con 68.9%, respectivamente. Por otro lado, los extractos de *E. cyclocarpum* y *C. brasiliense* lograron reducir la incidencia de la podredumbre mostrando valores de 53.7 y 64.90%.

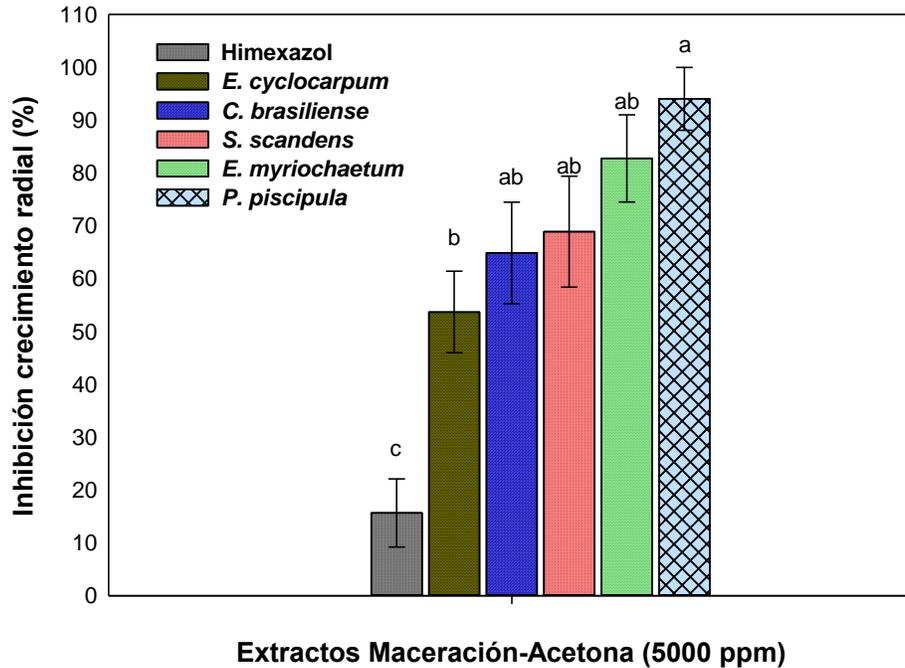


Figura 11. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Alternaria solani* a concentraciones de 5000 ppm de extractos obtenido con la técnica de maceración-acetona después de cinco días de interacción. Las medias que comparten la misma literal en técnicas y en cada solvente son estadísticamente iguales de acuerdo con Tukey ($p \leq 0,05$).

7.3.4. Micromorfología de *A. solani*

En la Figura 12 se muestran imágenes observadas en un microscopio a 1000X magnificaciones del desarrollo de micelio y producción de conidias de *A. solani* bajo los efectos de los diferentes extractos de *E. cyclocarpum*, *E. myriochaetum*, *C. brasiliense*, *P. piscipula* y *S. scandens* a concentraciones de 5000 ppm. En las figuras se observaron cambios morfológicos del hongo por el efecto de los extractos respecto al testigo, nótese una estructura homogénea con el testigo negativo, un desarrollo claro de las conidias tratadas con Hymexazol (testigo positivo), la reducción de conidias con el extracto de *E. myriochaetum*, ausencia clara de

producción de conidias con *C. brasiliense*, modificaciones observadas en la forma de la conidia con el extracto de *E. cyclocarpum*. El extracto de *P. piscipula*, mostró conidias pocos teñidas. El efecto de *S. scandens*, mostró una clara reducción en el tamaño de las conidias.

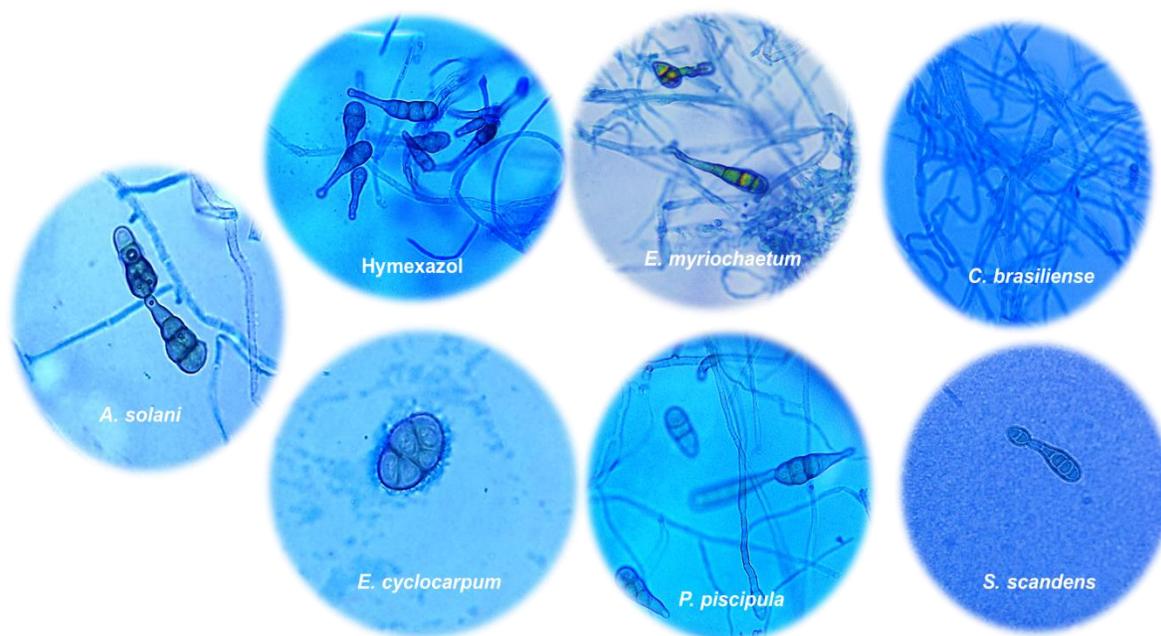


Figura 12. Representación con microfotografías de cambios morfológicos en el desarrollo del micelio y producción de conidias de *Alternaria solani* por el efecto de los extractos observadas a 1000X magnificaciones.

7.4. Caracterización química por Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) de los extractos vegetales

En este experimento se identificaron los grupos funcionales de los componentes activos en la muestra de extractos de las plantas basándose en el valor máximo en la región de radiación infrarroja utilizando la técnica de espectro FTIR. Los extractos dieron los siguientes picos de absorción característicos:

7.4.1. *E. cyclocarpum*

Se encontró que los extractos de *E. cyclocarpum* presentaron espectros de absorción en picos de entre 3353-815 cm^{-1} con los solventes de agua, acetona y éter etílico en los tres métodos de extracción (maceración, Soxhlet y ultrasonido asistido) (Figura 13). Por otro lado, el extracto obtenido por maceración-éter etílico mostró bandas anchas a 3353 cm^{-1} (Figura 13A), mientras que con la técnica de Soxhlet- no se observó ninguna banda marcada con ningún solvente, pero si se encontraron bandas débiles similares con Soxhlet-Éter etílico entre 2918 cm^{-1} (Figura 13B). En su caso el extracto obtenido con Soxhlet-agua fue el único que exhibió dos bandas, débiles entre 1600 y 1051 cm^{-1} en las tres técnicas. Asimismo, el extracto obtenido por la técnica de ultrasonido-acetona se observó una banda ancha a 3553 cm^{-1} (Figura13C). La mayoría de las bandas exhibidas fueron por el solvente éter etílico y acetona. Los espectros FTIR encontrados se muestran en el cuadro 9.

Cuadro 9. Valores espectrales de pico FTIR y grupos funcionales obtenidos para el extracto de *E. cyclocarpum*.

Longitud de onda en cm^{-1}	Rango frecuencia (cm^{-1})	de Grupos funcionales
3353	3300-3400	Alcohol (OH)
2911, 2918	2850-3000	Alcano, ácido carboxílico (COOH)
2842, 2849	2850-3000	Alcanos, C-H
1707, 1714	1720-1750	Ester (COO), aldehído (COH), carbonilos (C=O)
1600, 1608, 1615	1550-1640	Amida (N-H), C-C
1455, 1471, 1448	1450-1600	Aromáticos (C-H, CH=CH) C=C, Nitrocompuestos (NO ₂),
1364, 1356	1345-1480	Estiramiento éster (C-O)
1051, 1151, 1234	1000-1400	Aminas (NH), ésteres (C-O, COO), halogenuros alquílicos (C-F)
891, 815	660-1000	ésteres (COO), aminas (NH ₂) aromáticos, alquil halogenuro (-X), alcanos, alquenos (R=R)

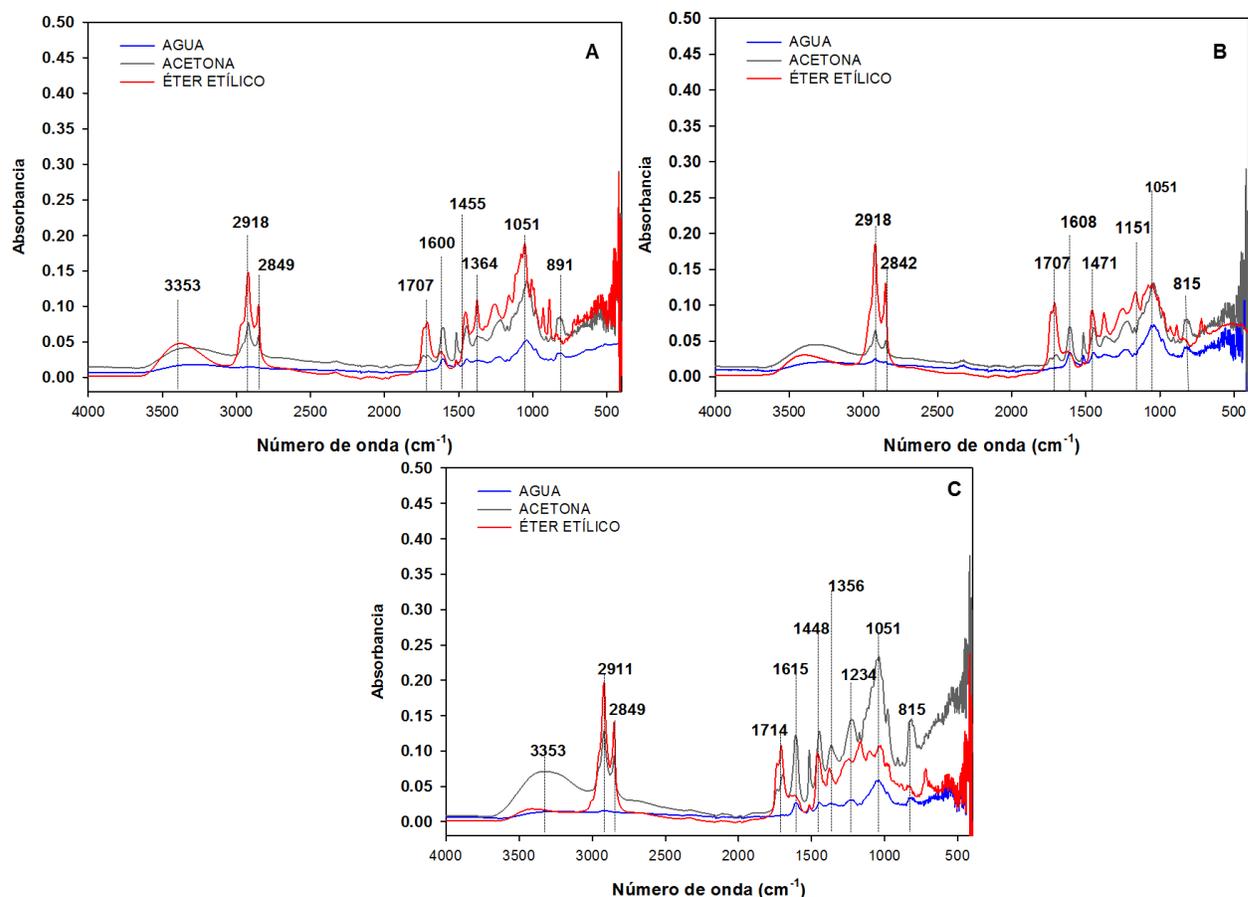


Figura 13. Espectros del extracto de *Enterolobium cyclocarpum* obtenidos por espectroscopía infrarroja por transformación de Fourier mediante reflectancia total atenuada universal. (A): Maceración (B). Soxhlet; (C) Ultrasonido asistido.

7.4.2. *E. myriochaetum*

En los extractos de esta planta se encontraron bandas similares a 2932, 1700, 1462, 1370, 722 cm^{-1} con maceración usando los solventes acetona y éter etílico, (Figura 14A). Con el Soxhlet-agua se observó una banda ancha y débil a 3278 cm^{-1} , mientras que a 1022 cm^{-1} se observó una banda muy fuerte con Soxhlet-acetona (Figura 14B), mientras que con la técnica de ultrasonido asistido las bandas observadas usando el solvente acetona y éter etílico fueron similares entre 2918-716 cm^{-1} , por otro lado, con el solvente agua solo se observó una banda débil a 1585 cm^{-1} (Figura 14C) a diferencia de las dos técnicas anteriores (maceración y Soxhlet) donde se observan más bandas usando este solvente.

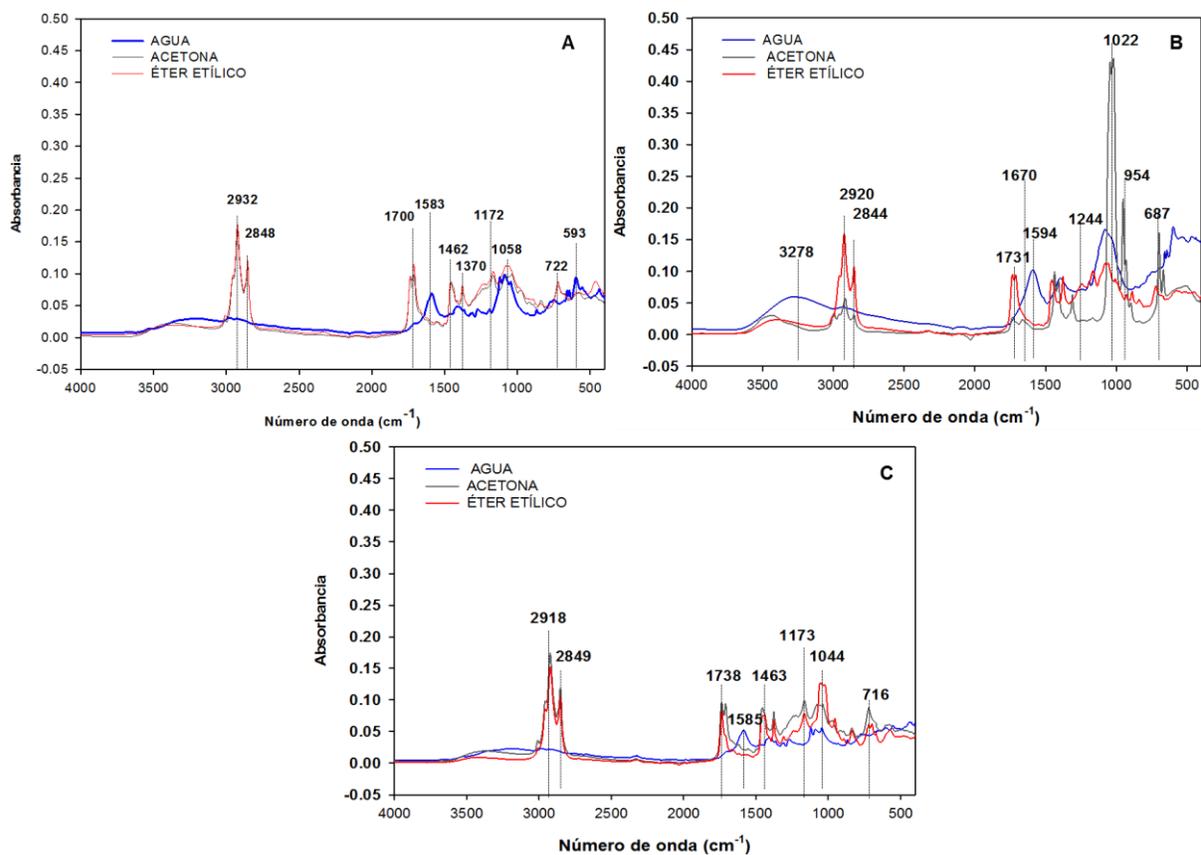


Figura 14. Espectros de los extractos de *Equisetum myriochaetum* obtenidos por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier mediante reflectancia total atenuada universal. (A): Maceración (B). Soxhlet; (C) Ultrasonido asistido.

En el cuadro 10 se observan los grupos funcionales encontrados en los extractos de *E. myriochaetum*.

Cuadro 10. Valores espectrales de pico FTIR y grupos funcionales obtenidos para el extracto de *E. myriochaetum*.

Longitud de onda en cm^{-1}	Rango de frecuencia (cm^{-1})	de Grupos funcionales
3278	3200–3600	Alcoholes (OH) y Fenoles enlazados con hidrógeno
2918, 2920, 2932	2850–2970	Aromáticos (C-H), sustituto de metilo
2844, 2848, 2849	2850-3000	Aromáticos (C-H)
1700, 1731, 1738	1720–1750	éster (COO), aldehído (COH), carbonilos (C=O)
1670	1644	Alquenos (R=R), Aromáticos (C=C)
1583, 1585, 1594	1550-1640	Amida (N-H)
1462, 1463	1450–1600	Aromáticos (C=H)
1370, 1244	1300–1370	Compuestos Nitro (NO_2)
1172, 1173, 1058, 1022, 1044, 954	1000–1400	C-O (ésteres), ácidos carboxílicos (COOH), fenol, alcohol (OH), Compuestos fluorados alifáticos (C-F)
716, 722, 687	660–1000	Alcanos aromáticos (C-H), Anillos de benceno
593		Halogenuros de alquilo (C-F), metilo (CH_3)

7.4.3. *C. brasiliense*

En el espectro de este extracto se observaron bandas similares con maceración éter etílico y acetona entre 2918-533 cm^{-1} , a diferencia del solvente agua que mostró una banda muy débil a 1036 cm^{-1} (Figura 15A). Con el Soxhlet-agua se observó una banda muy ancha de transmitancia a 3253 cm^{-1} (Figura 15B). Respecto a la técnica de ultrasonido asistido-agua también mostró una banda ancha, similar al encontrado con el Soxhlet-agua (Figura 15C). En el cuadro 11. Se muestran los valores espectrales y grupos funcionales obtenidos encontrados.

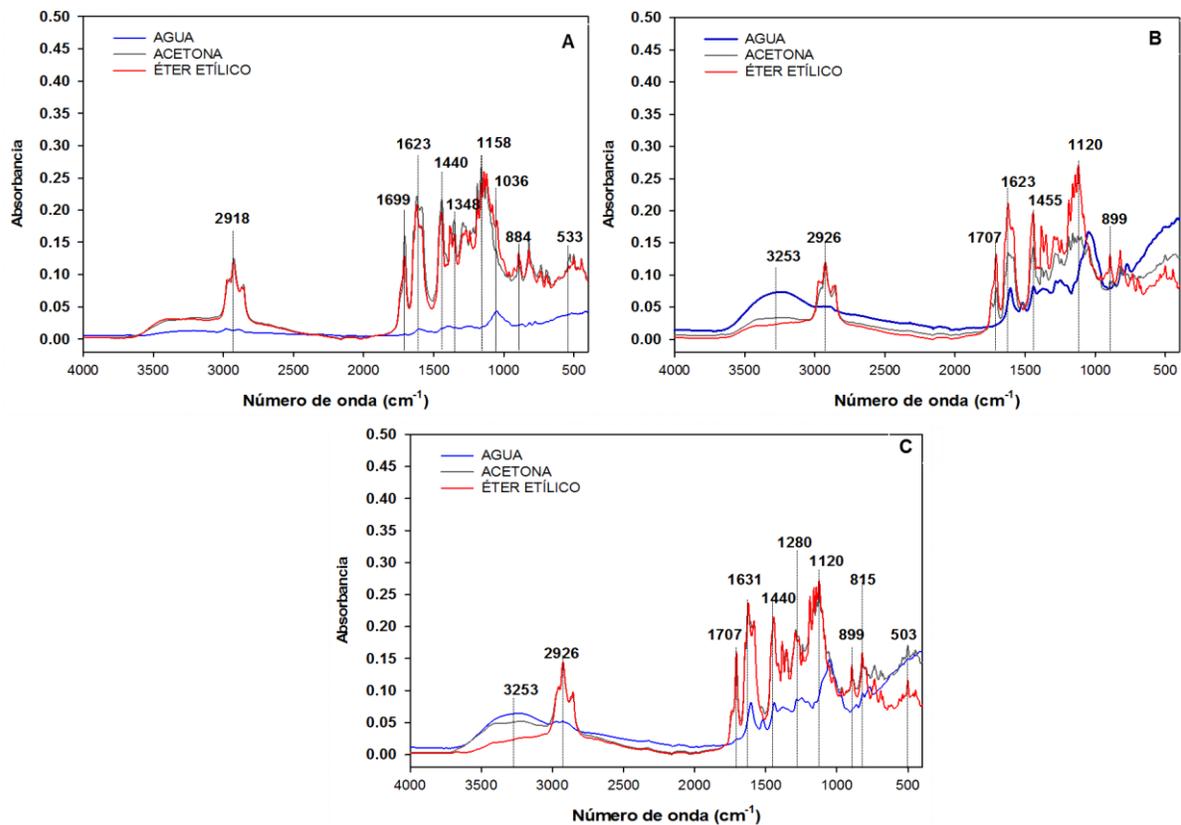


Figura 15. Espectros de los extractos de *Calophyllum brasiliense* obtenidos por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier mediante reflectancia total atenuada universal. (A): Maceración (B). Soxhlet; (C) Ultrasonido asistido.

Cuadro 11. Valores espectrales de pico FTIR y grupos funcionales obtenidos para el extracto de *C. brasiliense*.

Longitud de onda en cm^{-1}	Rango frecuencia (cm^{-1})	de Grupos funcionales
3253	3200–3600	Alquenos y sus hidrógenos unidos (C=C-H), alcohol (OH)
2918, 2926	2850–2970	Alcanos aromáticos (C-H)
1707	1720–1750	Éster (COO), aldehído (COH), carbonilos (C=O)
1623, 1631, 1699	1644	Alquenos C=C, amida (NH ₂)
1440, 1455	1450–1600	Aromáticos (C=C)
1348	1300–1370	Nitrocompuestos (NO ₂)
1036, 1120, 1158, 1280	1000–1400	Ésteres (COO), Alcohol primario C-O, Fenoles
815, 884, 899	660–1000	Alcanos aromáticos (C-H), Anillos de benceno
503, 533		Halogenuros de alquilo (C.F)

7.4.4. *P. piscipula*

En el espectro IR del barbasco (*P. piscipula*) con la técnica maceración-acetona se encontraron picos de transmitancia entorno a 3337 cm^{-1} (Figura 16A). Con la técnica del Soxhlet-agua se encontraron bandas más fuertes a 534 cm^{-1} y 1040 cm^{-1} (Figura 16B), mientras que en la técnica de ultrasonido asistido las bandas más marcadas fueron con acetona y éter etílico, mostrando resultados similares entre $694\text{-}2926 \text{ cm}^{-1}$ (Figura 16C). En el cuadro 12 se observan los grupos funcionales.

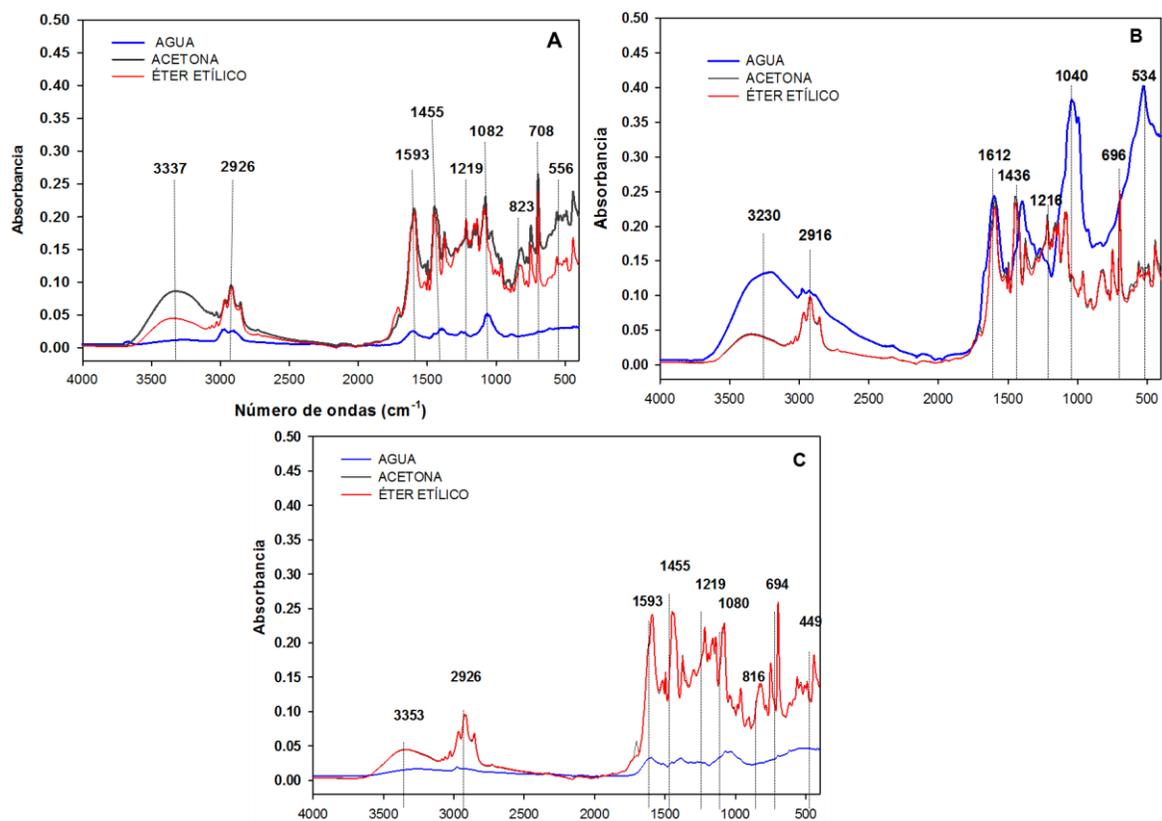


Figura 16. Espectros de extractos de *Piscidia piscipula* obtenidos por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier mediante reflectancia total atenuada universal. (A): Maceración (B). Soxhlet; (C) Ultrasonido asistido.

Cuadro 12. Valores espectrales de pico FTIR y grupos funcionales obtenidos para el extracto de *P. piscipula*.

Longitud de onda en cm^{-1}	Rango de frecuencia (cm^{-1})	Grupos funcionales
3220, 3337, 3353	3200–3600	alqueno y sus hidrógenos unidos (C=C-H), OH
2916, 2926	2850–2970	Alcanos aromáticos (C-H)
1612	1644	Alquenos aromáticos (C-C, C=C), amina (NH_2)
1436, 1455, 1593	1450–1600	Aromáticos (C=C, CH=CH, C-H), nitrocompuestos (NO)
1040, 1082, 1216, 1219	1000–1400	Ésteres (COO), Alcohol primario (C-O), Fenoles, aminas (NH), alifáticos, alquenos
696, 694, 816	660–1000	Alcanos (C-H), Anillos de benceno
449, 534, 556		Halogenuros de alquilo (C-F)

7.4.5. *S. scandens*

El espectro IR del Chilemecate con maceración-agua las bandas fueron más fuertes respecto al resto de los solventes (acetona y éter etílico) (Figura 17A). Respecto a la técnica de Soxhlet con el solvente agua se exhibieron bandas más fuertes entre 1593, 1051 y 518 cm^{-1} (Figura 17B). Con Ultrasonido asistido los solventes acetona y éter etílico mostraron bandas similares a 2918-724 cm^{-1} (Figura 17C). En el cuadro 13 se muestran los valores espectrales de pico FTIR y grupos funcionales.

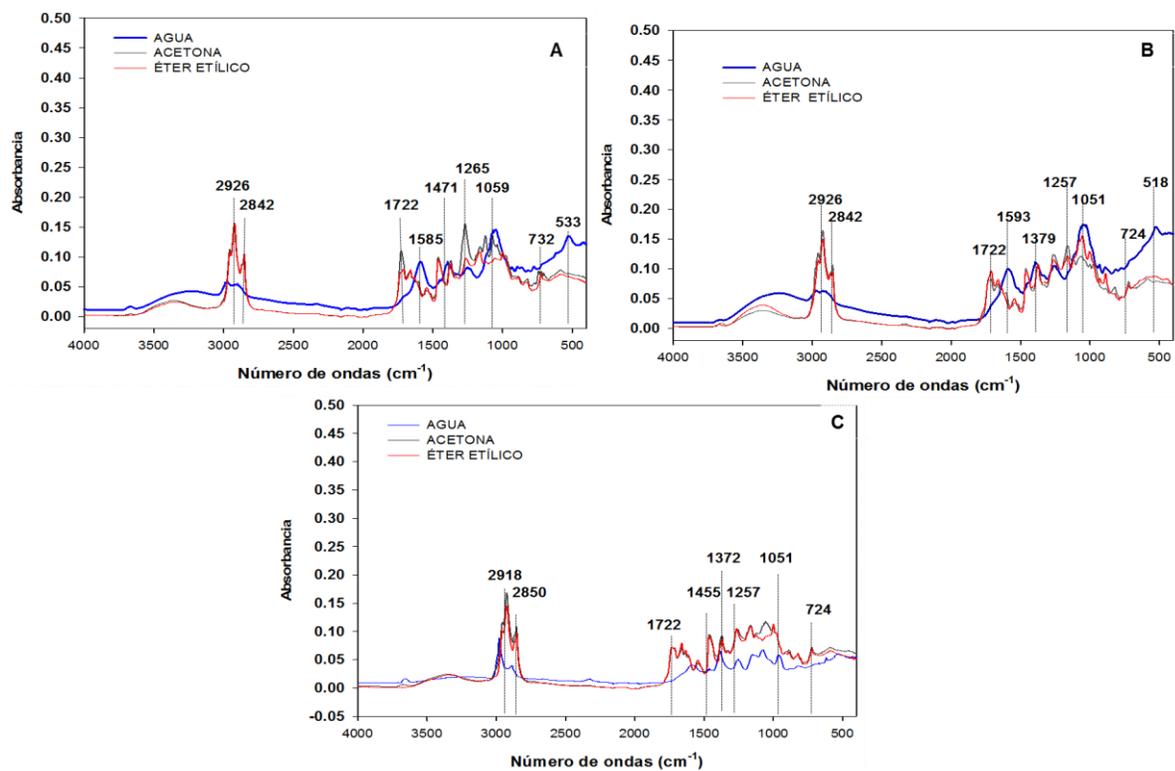


Figura 17. Espectros de extractos de *Salmea scandens* obtenidos por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier mediante reflectancia total atenuada universal. (A): Maceración (B). Soxhlet; (C) Ultrasonido asistido.

Cuadro 13. Valores espectrales de pico FTIR y grupos funcionales obtenidos para el extracto de *S. scandes*.

Longitud de onda en cm^{-1}	Rango frecuencia (cm^{-1})	de Grupos funcionales
2918, 2926	2850–2970	Alcanos aromáticos (C-H)
2842, 2850	2850-3000	Alcanos aromáticos (C-H)
1722	1720–1750	Éster (COO), aldehído (COH), carbonilos (C=O)
1585, 1593	1450–1600	Aromáticos C=H, compuestos nitro (NO ₂), aromáticos(C-C), alcohol primario (C-O)
1455, 1471	1450–1600	Compuestos Nitro (NO ₂)
1372, 1379	1300–1370	Compuestos Nitro NO ₂
1265, 1257	1000–1400	Ésteres (COO), Alcohol primario (C-O) Fenoles, aminas (NH ₂) alifáticos, alquenos, aldehído (COH)
1051, 1059	660–1000	Alcanos (C-H), Anillos de benceno
724, 732	660–1000	Alcanos (C-H), Anillos de benceno
518, 533		Halogenuros de alquilo (C-F)

VIII. DISCUSIONES

8.1. Rendimiento de los extractos vegetales

En este trabajo se reporta que, de las cinco fuentes botánicas evaluadas, *E. cyclocarpum*, *E. myriochaetum*, *C. brasiliense*, *P. piscipula* y *S. scandens*, las extracciones con Soxhlet presentaron mayores rendimientos respecto al resto (maceración y ultrasonido asistido), y con el solvente orgánico acetona se logró mayor recuperación total superior a los obtenidos con éter etílico o agua en *C. brasiliense* (15.64%), seguido de *E. cyclocarpum* (11.95%) con el solvente agua y 10.08% con acetona. Resultados similares obtuvieron Reyes-Chilpa *et al.*, (1997), con *C. brasiliense* utilizando solventes como hexano, metanol, acetona y agua, logrando obtener mayores rendimientos con acetona (4.81%), de igual manera Gonçalves *et al.* (2013), obtuvieron rendimientos altos en extracción de *C. brasiliense* utilizando Soxhlet-diclorometano (4.3%), este comportamiento puede deberse al aumento de la temperatura, la recirculación de solvente y las interacciones solución-solvente que se encuentran en el método de extracción Soxhlet. Dado que el extracto está compuesto por diferentes clases de compuestos, su solubilidad también puede ser diferente para las diferentes condiciones de temperatura y presión.

Aunque el rendimiento de los extractos es afectado por la temperatura de ebullición también intervienen la forma de preparación de la muestra, los métodos y el tiempo de extracción, así como por la naturaleza específica del compuesto bioactivo (Cos *et al.*, 2006; Turkmen *et al.*, 2006; Hayouni *et al.*, 2007). En este sentido se ha reportado que para extraer compuestos hidrófilicos de las plantas son más utilizados los solventes agua y acetona (Sun y Ho, 2005). Por lo que, los compuestos polares son más fáciles de extraer mientras que con los solventes de baja polaridad se obtienen mayores concentraciones de compuestos bioactivos (Bimakr *et al.*, 2011). Aunque las técnicas de extracción con maceración y Ultrasonido Asistido presentaron menos rendimiento que el Soxhlet, tienen más ventajas por la baja temperatura de operación ya que se reduce el uso de solvente, no se degradan los compuestos, es más rápido y selectivo a la extracción de compuestos objetivo

(Bimakr *et al.*, 2011; Zhao *et al.*, 2006; Dobiáš *et al.*, 2010). Por otro lado, para *P. piscipula* (6.09%), *S. scandens* (3.94%) y *E. myriochaetum* los mayores rendimientos fueron con Soxhlet-agua (7.07%). Vieito *et al.* (2018) evaluando la técnica del Soxhlet con diferentes solventes en rendimientos de corteza de *Pinus pinaster* subsp. Atlántica obtuvieron los mayores rendimientos con agua/etanol y etanol solo (17.55% y 17.08%, respectivamente), mientras que Do *et al.* (2014), en la extracción de *Limnophila aromatica* con fenol, utilizando varios disolventes, también observaron que el etanol-agua al 50 % mostró el mayor rendimiento de extracción, sin embargo, se obtuvieron mejores resultados con un 100 % de agua en lugar de un 100 % de etanol. Por lo que, los disolventes orgánicos de mayor polaridad son más eficaces en la recuperación cuantitativa de componentes de naturaleza fenólica que los disolventes no polares (Oreopoulou, 2003). Esto concuerda con nuestros resultados ya que la mayoría de las extracciones con Soxhlet-agua se obtuvieron los mayores rendimientos. Michielin *et al.* (2005) compararon solventes y técnicas para evaluar la eficiencia del proceso de *Equisetum giganteum* L., obteniendo mayores rendimientos con extracción de fluidos supercríticos-diclorometano (1.44%, p/p), a lo que justifican que el aumento en el rendimiento del proceso con presión constante, es dado por el aumento de la densidad del disolvente con la presión. A lo que mencionan que la temperatura también es un factor en el rendimiento de la oleorresina de la cola de caballo (*E. giganteum*), ya que a medida que aumenta la temperatura, disminuye el rendimiento, y esto a su vez aumenta al incrementar la presión de 15 MPa -25 MPa. En nuestro estudio se obtuvo lo contrario ya que al aumentar la temperatura se obtuvieron mayores rendimientos de los extractos. Así mismo, Uslu *et al.* (2013) observaron que la principal diferencia entre los parámetros de extracción también está influenciada por temperatura, velocidad de agitación, el porcentaje del solvente (etanol) y la relación sólido-líquido. Esto es sabido y aceptado que a medida que la temperatura aumenta, la transferencia de masa también aumenta. Uslu *et al.* (2013) también encontró que a medida que el porcentaje del solvente etanol disminuye, el rendimiento aumentó, añadiendo que la polaridad de los solventes es un tema importante en el proceso de extracción, donde los ingredientes polares de la planta

podrían disolverse mucho mejor en una alta proporción de agua. La razón principal para usar solventes de diferentes polaridades fue determinar si alguno de estos extractantes podía extraer selectivamente compuestos antifúngicos. De acuerdo a la literatura revisada, este es el primer estudio comparativo de diferentes técnicas de extracción con diferentes solventes orgánicos y acuosos para la obtención de compuestos bioactivos de *E. cyclocarpum*, *P. piscipula* y *S. scandens*.

8.2. Actividad biológica contra *F. oxysporum*

De los 45 extractos evaluados preliminarmente, solo seis extractos de las fuentes botánicas fueron capaces de inhibir el crecimiento radial de *F. oxysporum*, en comparación con el testigo no tratado. La eficiencia de los extractos podría deberse a la presencia de alcaloides, flavonoides, saponinas, y terpenos, que son conocidos como compuestos bioactivos contra bacterias y hongos (Ajayi *et al.*, 2017). Los mecanismos de acción aún no están claros, *S. scandens* fue el que mostró mayor inhibición, pertenece a la familia de las Asteráceas, una familia con buena fuente de flavonoides, terpenos, saponinas, taninos y glucósidos (Gobbo-Neto *et al.*, 2017; Camacho-Campos *et al.*, 2019). Villa-Ruano *et al.* (2015) demostraron que el aceite esencial del extracto de *S. scandens* contiene altos niveles de germacreno D (47.1%) y elemol (15.3%) en las hojas, mientras que el de la corteza del tallo contiene los isómeros de N-isobutil-(2E,4E,8Z,10E/Z)-dodecatetraenamida (39,7%) y que además este extracto inhibe el crecimiento micelial de *F. oxysporum* y *P. infestans* con aceite esencial de la corteza del tallo. Sin embargo, encontraron que, *P. infestans* eran ligeramente más sensibles al aceite esencial de la corteza del tallo que *F. oxysporum*. El germacreno D corresponde a los sesquiterpenos, algunos autores consideran que los sesquiterpenos inhiben significativamente el crecimiento micelial y la germinación de esporas de *F. oxysporum*, y esta actividad antifúngica se basa en la permeabilidad de las paredes celulares de los hongos. Por otro lado, estudios sobre la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de las hojas de plantas de Asteráceas que contienen germacreno D como compuesto principal, mostraron una actividad similar a nuestros resultados. También se sabe que la

bioactividad de sesquiterpenos se debe principalmente a sus reacciones con -Grupo SH de aminoácidos, proteínas y enzimas (Rongai *et al.*, 2015).

La clara correlación positiva encontrada entre los seis extractos evaluados y la actividad antifúngica podría deberse también al tipo de solvente utilizado, la acetona utilizada en la extracción, un solvente polar capaz de extraer muchos compuestos polifenólicos de las plantas (Złotek *et al.*, 2016), la actividad antifúngica podría deberse, al menos en parte, a la presencia de compuestos polifenólicos que suelen ser los principales compuestos antifúngicos de la mayoría de las plantas (Rongai *et al.*, 2015).

Por otro lado, la alta actividad antifúngica del extracto de *P. piscipula* podría deberse a los compuestos fenólicos (taninos) (Burgos *et al.*, 2006). Estos compuestos bioactivos polifenoles, solos o en combinación, interfieren con el proceso de vida de los hongos al unir sus moléculas proteicas, actuando como agentes quelantes, alterando la síntesis de componentes estructurales, debilitando o destruyendo la barrera de permeabilidad de la membrana de la célula y cambiando el estado fisiológico de las células (Rongai *et al.*, 2015). El grupo fenólico OH conocido por ser reactivo y capaz de formar enlaces de hidrógeno con grupos -SH en los sitios activos de las enzimas diana, resultando en la desactivación de las enzimas fúngicas (Velluti *et al.* 2003; Alam *et al.* 2007; Pramila *et al.* 2012). Morton (1981) menciona que *P. piscipula* también se ha utilizado como veneno para peces y contiene los tóxicos isoflavonoides ichtinona y rotenona. Setzer *et al.* (2015) demostraron que el extracto acetónico de corteza de *P. piscipula* tiene efectos contra *Bacillus cereus*. Así mismo reportaron que los aceites esenciales de *P. longipes* contiene sesquiterpenos (α -humulene y β -caryophyllene), (1,8-cineole y α -terpineol), como responsables de actividades citotóxicas.

Estas discusiones coinciden con algunas afirmaciones de estudios previos de Rongai *et al.*, (2015) y Złotek *et al.*, (2016) donde recalcan que la actividad antifúngica al menos se debe a la presencia de compuestos polifenólicos. Sin embargo, los efectos de los flavonoides sobre hongos fitopatógenos no están bien documentados. Pocos estudios indican que los flavonoides no están

correlacionados con actividad antifúngica (Rongai *et al.*, 2015) o puede estimular la germinación de esporas (Ruan *et al.*, 1995), mientras que otros autores mencionan que los extractos de algunas especies de plantas son capaces de inhibir hongos y bacterias y que su capacidad se debe a los flavonoides (Rhouma *et al.*, 2009; El Hadrami *et al.*, 2011), especialmente a pisatina y medicarpina que son activos contra *F. oxysporum* (Rongai *et al.*, 2015).

Enterolobium cyclocarpum es otra fuente botánica que destaca por la presencia de una variada gama de metabolitos secundarios; saponinas, taninos condensados y esteroides (Babayemi, 2006). Raya-Gonzalez *et al.* (2008) mencionan que el D-(+)-Pinitol, es el principal componente del duramen de *E. Cyclocarpum*, esto explica la baja actividad antifúngica del extracto de *E. Cyclocarpum*, que podría deberse al predominio de otros flavonoides que pueden estimular el crecimiento de hongos. El D-pinitol (1D-3-O-metilchiroinositol) está más relacionado con el efecto antihiper glucémico (Bates *et al.*, 2000). Estos resultados concuerdan con De Oliveira *et al.* (2010) y Oraki *et al.* (2011) donde encontraron que los efectos de inhibición eran mayores cuando los polifenoles estaban en combinación con ácidos orgánicos. Sin embargo, todavía faltan estudios fitoquímicos para encontrar los compuestos bioactivos en extractos acuosos del duramen de este árbol tropical.

Piscidia piscipula y *S. scandens* parecen tener el mejor efecto inhibitorio contra *F. oxysporum*. Los extractos vegetales con una buena actividad antifúngica generalmente tienen altas concentraciones de contenido polifenólico total y altos niveles de acidez titulable (Rongai *et al.*, 2015). Se necesitan más estudios para poder purificar y caracterizar los compuestos presentes en las especies de plantas probadas y promover su uso en la agricultura para reducir las aplicaciones de fungicidas. Este trabajo permitió seleccionar el mejor extracto que puede ser utilizado como biofungicida para controlar las enfermedades de los cultivos, con el objetivo final de desarrollar una alternativa verde a los fungicidas sintéticos. Así mismo, los resultados obtenidos pueden explicarse por las diferencias en el tipo de compuesto bioactivo en cada especie vegetal, por los métodos de extracción, por las diferencias en la proporción de compuestos responsables de la actividad

antifúngica en los tres tipos de solventes de los extractos (polares-apolares). De hecho, es bien sabido que las actividades antifúngicas de los extractos de plantas dependen de una serie de factores como la composición química, la solubilidad en diferentes disolventes orgánicos, el período de cosecha, las condiciones geográficas, los métodos de extracción y el microorganismo de ensayo (Al-Reza *et al.*, 2010; Obeidat *et al.*, 2012). Esto explica, porque algunas fuentes botánicas (*E. myriochaetum* y *C. brasiliense*) no tuvieron efectos inhibitorios en *F. oxysporum*, Tolosa & Cañizares, (2017) le atribuye que la capacidad de inhibir depende de la fuente botánica, la parte vegetal, la concentración del compuesto, el organismo objetivo (blanco) y de la técnica de bioensayo.

8.3. Actividad biológica contra *A. solani*

Los compuestos de las plantas tienen actividad antimicrobiana contra una variedad de patógenos y plagas de origen alimentario, humano y vegetal (Leontopoulos *et al.*, 2017). Varios estudios han explorado el potencial de los extractos de plantas como agentes antifúngicos (Eloff *et al.*, 2018; Amadioha y Chidi, 2019). La aplicación de extractos vegetales es un método atractivo para controlar las enfermedades poscosecha de frutas y hortalizas. En este estudio, se evaluaron cinco extractos acetonicos contra *A. solani*, patógeno para las plantas y responsable de la descomposición del fruto del jitomate durante el transporte y el almacenamiento (Abdolahi *et al.*, 2010).

El ensayo *in vivo* mostró que *A. solani* es más susceptible a los extractos de *P. piscipula*, *E. myriochaetum* y *S. scandens* controlando la enfermedad en promedio de 94.05, 82.78 y 68.9%, respectivamente, siendo el control químico menos eficiente con un promedio de 15.65%. Estos resultados coinciden con los obtenidos de los extractos de gobernadora *Larrea tridentata*, los cuales fueron extraídos con cloroformo, etanol y metanol, en donde se evaluaron concentraciones similares a las de este trabajo, y a una dosis mayor de 8000 mg/L, la cual inhibió el crecimiento micelial de *A. solani* en un 100% (Saldívar *et al.*, 2003). Por otro lado, Ravikumar y

Garampalli (2013) evaluaron extractos acuosos de 39 plantas contra *A. solani* en medio envenenado, a una concentración del 4%, logrando no más de 40% de inhibición con *Crotalaria trichotoma* (36.6%), *Citrus aurantifolia* (27.3%), *Azadirachta indica* (23.7%), *Polyalthia longifolia* (23.3%), *Datura metel* (21.3%), *Muntingia calabura* (20.09%) y *Oxalis latifolia* (20.09%). Es importante mencionar que en nuestro estudio se lograron inhibiciones mayores al 53%, estos resultados indican que los extractos de plantas con acetona contienen compuestos activos que son responsables, al menos en parte de la actividad antifúngica. Esta observación sugiere que la acetona como medio de extracción disolvió más compuestos activos presentes en los materiales vegetales que el agua y éter etílico, que probablemente disolvió principios o compuestos menos activos. Anteriormente se ha demostrado que la acetona es el mejor extractor para la actividad antibacteriana en diferentes plantas (Kotze *et al*, 2002). Estos resultados coincidieron con los de Eloff *et al.* (2018), quienes reportaron que los extractos de acetona de *Melianthus comosus* presentan una actividad antimicótica contra *F. oxysporum*, *Penicillium janthinellum*, *Colletotrichum gloeosporioide*, *Penicillium expansum*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus niger*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum* y *Phytophthora nicotiana*. En otro estudio extractos de maceración-etanol con una concentración del 25%, *Syrian marjoram* (*Majorana syriaca*), e *Hibiscus sabdariffa* mostraron una inhibición en el crecimiento micelial alrededor del 75-85% y 70-90% contra *A. solani* (Goussous *et al.*, 2010).

La actividad antifúngica del género *Equisetum* sp. solo ha sido estudiado contra *Aspergillus niger* y *Candida albicans* (Al-Snafi, 2017). Por otro lado, extractos de *Equisetum myriochaetum* no presentaron toxicidad en moscas *Drosophila* y en humanos (Téllez *et al.*, 2007). Almeida *et al.* en el 2018 demostraron que el efecto del extracto de *E. giganteum* contra *C. albicans*, se debe a la presencia de flavonoides, que son capaces de inactivar las proteínas responsables de la adhesión de las células fúngicas al sustrato y del crecimiento, y alteran la permeabilidad de las membranas de las células fúngicas (Calderón Montano *et al.*, 2011; Kumar y Pandey 2013) y causan estrés oxidativo en la matriz de *C. albicans*, dificultando así su crecimiento (Peralta *et al.*, 2015). Sharma y Tripathi (2007) mostraron que los

extractos de *Citrus sinensis* causa bifurcación de las hifas apicales, brotación profusa en las hifas vegetativas, pérdida completa del citoplasma de las hifas y en última instancia, de la muerte del micelio. Por otro lado, la actividad antifúngica de los aceites esenciales también puede deberse a la sinergia entre sus propiedades, este sinergismo estaría beneficiando la protección poscosecha de frutas y hortalizas porque el patógeno no produciría fácilmente razas resistentes contra los componentes (Edris y Farrag, 2003; Bagamboula *et al.*, 2004). En la incidencia y severidad de la enfermedad del jitomate también se registraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$). La aplicación de los extractos registró una menor incidencia y severidad de la enfermedad. El menor porcentaje de incidencia y severidad de la pudrición se registró con extracto acetónico de *P. piscipula*, lo que sugiere que los extractos podrían ser utilizados como protectores para inhibir el desarrollo y la propagación de los patógenos en frutos de jitomate. Estas observaciones coinciden con los estudios de Umana *et al.* (2016) sobre el control de la pudrición poscosecha de naranjas con extractos de plantas. El patógeno de ensayo también causó necrosis de los tejidos del fruto, lo que probablemente es una función de las toxinas producidas por los patógenos durante la patogénesis (Amadioha y Chidi, 2019). Pane *et al.* (2016) evaluaron la actividad antifúngica de los extractos foliares crudos de un *Capsicum annum* contra *A. alternata*, logrando inhibir el crecimiento micelial y la germinación de las conidias de una manera dependiente de la dosis. Además, redujeron significativamente la severidad de la enfermedad de la podredumbre.

Aunque algunos estudios han informado sobre la actividad antifúngica de los aceites esenciales, el mecanismo o mecanismos de acción de dichos aceites son poco conocidos (Abdolahi *et al.*, 2010). Según Faid *et al.* (1996), la actividad antimicrobiana de los principales compuestos de las plantas está en el siguiente orden: fenoles (actividad más alta) > alcoholes > aldehídos > cetonas > éteres > hidrocarburos. La actividad antifúngica de nuestros extractos puede ser atribuida a su alto contenido de fenoles, estos resultados son similares a los reportados por (Burgos *et al.*, 2006; Fernández-Salas *et al.*, 2011) donde evaluó los taninos de *P. piscipula*, así mismo Oh *et al.* (2004) donde reportan que el *Equisetum* sp. contiene los siguientes compuestos fenólicos; onitina y onitin-9-O-glucósido; flavonoides:

apigenina, luteolina, kaempferol-3-O-glucósido y quercetina-3-O-glucósido. *Calophyllum brasiliense* también presenta ácidos fenólicos, ácido gálico (Kashman *et al.*, 1992), ácido protocatechuico (Reyes-Chilpa *et al.*, 2004) y ácido shikímico (Brenzan *et al.*, 2008). El ácido protocatechuico se ha encontrado en extractos de flores, raíces y tallos (Pretto *et al.*, 2004). *Calophyllum brasiliense* ha tenido aplicaciones biotecnológicas en temas más estudiados sobre sus actividades farmacológicas, donde reportan que el aceite no comestible de sus semillas es una fuente de biodiesel de segunda generación. La investigación farmacológica y biológica sobre *C. brasiliense* ha ido en aumento en los últimos años debido a su potencial como fuente importante de compuestos farmacológicamente activos contra el VIH-1, parásitos intracelulares, líneas celulares cancerosas, especialmente leucemia, entre otros, pero no se han realizado estudios sobre su actividad contra hongos fitopatógenos en poscosecha, siendo el único trabajo contra hongos de la madera el de Reyes-Chilpa *et al.* (1997), donde consiguieron la inhibición del crecimiento micelial de *Postia placenta* en un 83.6%. Por otro lado, el menor porcentaje de inhibición del crecimiento micelial fue observada con el extracto de *E. cyclocarpum*, lo que muestra que *A. solani* patógeno causante de la podredumbre del jitomate muestra diferencias en sus tasas de resistencia frente a los extractos de plantas, siendo menos susceptible por el control químico. Los únicos reportes acerca de la actividad biológica de *E. cyclocarpum* contra hongos patógenos son los reportados por Rutiaga-Quiñones *et al.*, (1995) donde evaluaron diferentes solventes con extracciones Soxhlet frente a *Trametes versicolor*, *Coniophora puteana*, *Chaetomium globosum* y *Trichoderma viride*. Encontrando que sólo el extracto obtenido con etanol mostró un efecto fungistático, incluso a bajas concentraciones, caso contrario con el extracto obtenido con el agua como solvente donde no hubo inhibición en el crecimiento del patógeno. Además, Raya González *et al.* (2008; 2012) demostraron que el extracto del duramen de *E. cyclocarpum* extraído con acetona tuvo actividad inhibitoria contra el crecimiento fúngico de *C. albicans*. Generalmente, se asume que los triterpenos o los compuestos fenólicos son los principales compuestos bioactivos de esta fuente botánica (El-Din *et al.*, 2018)

En este trabajo se encontró que los extractos de *E. cyclocarpum*, *C. brasiliense*, *S. scandens*, *E. myriochaetum* y *P. piscipula* son efectivos para inhibir el crecimiento y desarrollo de *A. solani* en frutos de jitomate, y es la primera vez que se reporta su actividad biológica frente a este patógeno. Estos extractos preseleccionados en la inhibición de patógenos tienen potencial para ser desarrollados como fungicidas potentes en la agricultura ecológica.

8.4. Grupos funcionales encontrados en los extractos por Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

El espectro FTIR se utilizó para identificar los grupos funcionales de los componentes activos en las muestras de los extractos basándose en el valor máximo en la región de radiación infrarroja (Gupta *et al.*, 1977).

Blanco y Alfaro, (2014) identificaron en *C. brasiliense* y *E. cyclocarpum* picos de 3333 cm^{-1} y 3336 cm^{-1} , que son característicos de las vibraciones de estiramiento OH. De igual forma el espectro IR de *C. brasiliense* y *P. piscipula* se puede observar una banda muy ancha de transmitancia entre $3200\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$ que corresponde a las vibraciones del mismo (OH) (Figs. 18B, 19B). Esto significa una elevada concentración de polifenoles bioactivos en el extracto. Los taninos naturales exhiben una distribución del grado de polimerización que va desde monómeros individuales a oligómeros, hasta fracciones con altos grados de polimerización, lo que resulta en una banda ancha distribuida en la región espectral de $3700\text{ a }3000\text{ cm}^{-1}$. Estos picos fueron encontrados en extractos de *P. piscipula* y *E. cyclocarpum*. Altameme *et al.* (2015) identificaron también en *Equisetum arvense* un pico similar a los $3200\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$ que corresponde a los alcoholes y fenoles. Téllez *et al.* (2007) reportan que en *Equisetum myriochaetum*, los principales componentes son glicósidos de flavonol de ellos el principal es el Kaempferol, y que los flavonoides son compuestos polifenólicos que se encuentran en las porciones comestibles de muchas frutas y hortalizas.

Entre $2500\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$ se encuentran los alcanos (C-H) y ácidos carboxílicos (COOH) (Kassim *et al.*, 2011), y alrededor de $2970\text{ a }2929\text{ cm}^{-1}$ están los grupos metilo (Ajuong y Breese, 1998; Senvaitiene *et al.*, 2005), en *E. myriochaetum* con

maceración se observó un pico a 2932, y alrededor de 2920 a 2780 cm^{-1} para los sustitutos de metileno (Saayman y Roux, 1965; Luo *et al.*, 2010); Hoyos-Durán, (2018) mencionan que en *Equisetum* sp. el pico de 2932 cm^{-1} corresponde al enlace C-H, por otro lado el extracto de *E. cyclocarpum* dio los siguientes picos de absorción característicos en los espectros de absorción a 2918-2911 cm^{-1} indicando la presencia de alcano (estiramiento de CH) y ácido carboxílico. En todos los extractos encontramos estos picos característicos de CH (Hari y Nair, 2018). Sin duda, los enlaces anteriormente mencionados pueden deberse los ácidos fenólicos. Erjaee *et al.* (2017) también identificaron (C-H) en picos a 2929 cm^{-1} en extracto de *C. nobile* y Abbas *et al.* (2019), en *Passiflora caerulea* también encontró un pico a 2922 cm^{-1} , asignándole (C-H).

De igual forma, Erjaee *et al.* (2017) detectaron picos de entre 1707-1714 cm^{-1} asignados al grupo éster (estiramiento C-O) y aldehído (estiramiento C=O). El pico observado a 1617 cm^{-1} les asignó a grupos de aminas ligadas (-NH). En nuestro estudio se encontraron picos similares en extractos de *E. cyclocarpum*, *P. piscipula* y *C. brasiliense* (1615, 1612 y 1623 cm^{-1}), respectivamente. Por otro lado, Leouifoudi *et al.* (2014) y Subari *et al.* (2012) mencionan que la región espectral importante para la identificación de los compuestos fenólicos son las bandas en las regiones de 1700-1500 cm^{-1} y son características de las vibraciones aromáticas C=C, vibraciones de estiramiento C=O de los grupos de amidas, quininas y cetonas conjugadas. En nuestros resultados todos los extractos presentaron bandas en ese rango mencionado, además de bandas entre 1500 y 800 cm^{-1} que corresponden a la señal característica de los compuestos fenólicos y se deben a la vibración C=C y C=O de los compuestos fenólicos y flavonoides (Subari *et al.*, 2012). La región de 1800 a 1680 cm^{-1} es significativa para el análisis cualitativo, ya que presenta un pico distintivo en el rango de 1750 a 1740 cm^{-1} para el estiramiento carbonílico de taninos hidrolizables (Jensen *et al.*, 2008; Ragupathi *et al.*, 2011), mientras que con los compuestos condensados sólo se produce una señal débil, si la hay. En este último caso, una señal débil alrededor de 1750 a 1710 cm^{-1} suele indicar la presencia de flavonoles en la mezcla, o la oxidación de algunos grupos OH en las moléculas de flavanol como consecuencia de los procesos de extracción (Ogata *et al.*, 2005; Ping

et al., 2012). Entonces hay más probabilidad de tener este compuesto con *S. scandens*, *E. myriochaetum* y *E. cyclocarpum*. Villa-Ruano *et al.* (2015) demostraron que el aceite esencial de las hojas de *S. scandens* contienen altos niveles de germacreno D (47,1%) y elemol (15,3%), el cual corresponden a los Sesquiterpenos que, a su vez, tienen diversos grupos funcionales, entre ellos OH, C=O, C-C.

En estudios de *Equisetum arvense* han informado sobre sus componentes antioxidantes (flavonoides y ácidos fenólicos en extractos acuosos) (Mimica-Dukic *et al.*, 2008). El pico máximo de absorción del grupo característico C=O se observó en 1748 cm^{-1} . En extractos de *P. piscipula*, *E. cyclocarpum* y *C. brasiliense* se observaron picos de entre $1612\text{-}1440$. Sócrates, (2004) les atribuyó a estas regiones de 1620 a 1400 cm^{-1} a movimientos vibratorios de grupos C=C en los anillos aromáticos con varios picos fuertes a medios. Por otro lado, Abbas *et al.* (2019) a 1614 cm^{-1} encontraron N-H en *Passiflora caerulea*. En los taninos condensados se produce un doblete o una banda fuerte que lleva un hombro entre 1620 y 1610 cm^{-1} . La primera señal se atribuye a las vibraciones de estiramiento de los enlaces C-C y a las vibraciones en el plano del anillo de benceno. Estas bandas solo fueron encontradas en *P. piscipula* y *E. cyclocarpum* (1612 y 1615 cm^{-1}) extraídos con Soxhlet y Ultrasonido. Lal Kapoor (1957) encontraron en *Piscidiae Erythrinae* (*P. piscipula*) una curva de absorción de IR con banda de cetonas conjugada con sistema aromático a 1611 cm^{-1} y 1512 cm^{-1} (bandas aromáticas). La fuerte banda de 1620 cm^{-1} se puede atribuir al sistema aromático. Otras bandas aromáticas fuertes se observan a 1510 cm^{-1} y a 1490 cm^{-1} , estos resultados corresponden a los que se encontraron en nuestros extractos de *P. piscipula*.

El pico en $1448\text{-}1455$ muestra la presencia de aromáticos (C=C). En 1362 , 1471 representan la presencia de nitro (NO) y alcano (-C-H) (Hari y Nair, 2018). En 1455 cm^{-1} es referente al estiramiento de carbonos unidos por un doble enlace (-CH=CH-) en aromáticos se observó en extractos de maceración de *P. piscipula* y *E. cyclocarpum*. Altameme *et al.* (2015) identificaron también en *E. arvense* a 1370 cm^{-1} compuestos nitrogenados, Khakestani *et al.* (2017) mencionan que los picos característicos de *E. arvense* se observaron en 1405 y 2925 cm^{-1} y corresponden a

estiramiento de C-H y los picos de vibraciones de flexión C-H se observaron en 1379 y 1451 cm^{-1} . Bandas muy fuertes se encontraron en los extractos de *P. piscipula*, *E. myriochaetum* y *C. brasiliense* entre 1448 y 899 cm^{-1} . La región de 1450 a 900 cm^{-1} , con su compleja estructura, puede considerarse la más importante, para la descripción de los sustitutos de anillos. Se suele caracterizar por una envoltura de bandas fuertes resultado de la combinación de la flexión aromática de C-H, el estiramiento de C-O y C-OH (Thompson, 1964; Socrates, 2000; Kassim *et al.*, 2011). Erjaee *et al.* (2017) les asignaron a los picos que se encuentran entre 1408 cm^{-1} y 1258 cm^{-1} a grupos fenólicos de taninos, lo que indica que *S. scandens* puede contener fenoles ya que se encontró un pico similar en 1257 cm^{-1} con Ultrasonido asistido.

Las bandas de 1250 cm^{-1} y 1120 cm^{-1} señalan vibraciones de estiramiento de C-O (lal Kapoor, 1957). Blanco y Alfaro, (2014) en *C. brasiliense* y *E. cyclocarpum* asignaron grupos funcionales en la región de las huellas dactilares del estiramiento de la unión a C-O-C de los éteres a 1157 cm^{-1} y la vibración de C-O a alcoholes primarios de celulosa y hemicelulosa a 1030 cm^{-1} . Una banda muy similar se observó en *C. brasiliense* a 1158 cm^{-1} en maceración con éter etílico y acetona. Ampofo y Waterman, (1986); Patil *et al.*, (1993) informaron que el duramen de las especies de *Calophyllum* contienen xantonas y neoflavonoides, mientras que las hojas poseen cumarinas, benzopiranos, y triterpenos. Molina-Botero *et al.* (2019) menciona que *E. cyclocarpum* contiene fenoles (taninos), taninos condensados y saponinas. A 1260 cm^{-1} (estiramiento fenil-O) y 1182 (deformación por flexión C-OH) cm^{-1} (Nyquist, 2001), un pico similar se encontró en *S. scandens* a 1257 cm^{-1} . Altameme *et al.* (2015) en *E. arvense* asignó grupos funcionales de C-F a 1029, 1050-1300 (Alcoholes, Éteres, ácidos Carboxílicos, Esteres). Khakestani *et al.* (2017) mencionan que los picos característicos de *E. arvense* a 1064 cm^{-1} de vibración está relacionado con la unión de C-O existente en alcoholes, éteres, ácidos carboxílicos y ésteres, y 1045, 1084, 1126 y 1183 cm^{-1} con C-O. Además de dos picos característicos de nHA que se relacionaron con los grupos $-\text{PO}_4$ y $-\text{OH}$ en 1014 y 633 cm^{-1} . García-Dávila *et al.* (2017) identificaron en *Jatropha curcas* picos 1160 cm^{-1} que corresponden a (C-O). Esto corresponde a lo que menciona Hari y

Nair, (2018) donde muestran picos entre 1051-1364 relacionándolo con la presencia de aminas (C-N), ésteres (estiramiento C-O) y halogenuros alquílicos (C-F). De igual manera Ayorinde *et al.* (2018) a 1234-1230 cm^{-1} le asignaron al grupo funcional (C-O).

Hari y Nair (2018) mencionan que entre 660 –1000 cm^{-1} se encuentran los ésteres (COO), aminas (NH_2), alquil halogenuros (-X) y alquenos (R=R). Khakestani *et al.* (2017) mencionan que los picos característicos de *E. arvese* se describen de la siguiente manera: las bandas de absorción en 664 y 771 cm^{-1} se asignaron a enlaces C-H en alquenos y anillo de benceno, respectivamente. Gomare y Mishra, (2018) encontraron picos a 604.94 (R-X), 548.04 (CH_3) y compuestos azufrados a 533.63 (S-S), 764.89 (S-OR) y 877.03 (S-OR) en extracto de *Hibiscus rosa-sinensis*. Estos resultados también son similares a los de Sithara (2017) donde encontró picos de 894. 97 cm^{-1} que corresponden a aminas aromáticas en *Andrographis paniculata*.

IX. CONCLUSIONES

- Los resultados de esta investigación sugieren que los solventes y las técnicas de extracción influyen en el rendimiento de los extractos vegetales, debido a las condiciones a las que son sometidas.
- Con la técnica de extracción Soxhlet-acetona se obtuvo el mayor rendimiento del extracto de *Calophyllum brasiliense* (15.64%), y para *E. cyclocarpum* (11.95%), *Enterolobium myriochaetum* (7.0%), *Piscidia piscipula* (6.09%) y *Salmea scandens* (3.94%) fue Soxhlet-agua.
- Los extractos que menor rendimiento presentaron se obtuvieron por Ultrasonido asistido (UAE)-EE en *E. cyclocarpum* (0.18%), seguido de *S. scandens* UAE-EE (0.39%) y Maceración-Éter etílico (0.40%).
- Los extractos con una mejor actividad inhibitoria del desarrollo micelial de *Fusarium oxysporum* fueron el chilamecate (*S. scandens*) por maceración-acetona (76.72%) y barbasco (*P. piscipula*) con 49.45% por Soxhlet-éter etílico.
- Los extractos *P. piscipula*, *E. myriochaetum* y *S. scandens* por maceración-acetona a 5000 ppm mostraron los mayores porcentajes de inhibición contra *Alternaria solani* en frutos de jitomate, así como la disminución del tamaño, diámetro de lesión y severidad.
- El extracto de *P. piscipula* por maceración-acetona a 5000 ppm disminuye hasta el 80% de daños en frutos de jitomate.
- En general, los resultados indican que, los extractos de *E. cyclocarpum*, *E. myriochaetum*, *C. brasiliense*, *P. piscipula*, y *S. scandens* inhiben el desarrollo micelial de *Aternaria solani in vivo* y solo los extractos de *S.*

scandens, *P. piscipula* y *E. cyclocarpum* mostraron algún grado de inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum in vitro*.

- La técnica FTIR representa una primera opción viable para la identificación de grupos funcionales en la caracterización de extractos vegetales.
- Se demostró que *E. cyclocarpum* contiene grupos de OH, ácidos carboxílicos (COOH), C-C, COO, saponinas. *E. myriochaetum* bandas que corresponden a fenoles (flavonoides) y C-C, COO, COOH. *C. brasiliense* contiene Alcoholes Polifenoles (OH), ésteres (COO), y compuestos aromáticos (C-C). *P. piscipula* OH (Polifenoles), C-C, cetonas (CO), nitrocompuestos. *S. scandens*, ésteres, aldehídos, taninos, flavonoides, ácidos fenólicos.
- Estos resultados son el primer reporte que evidencia el efecto del extracto de *P. piscipula*, *C. brasiliense* y *S. scandens* contra *A. solani* y puede ser una alternativa para el control de este patógeno en poscosecha. Por otro lado, la utilización del extracto de hojas de *P. piscipula* y *E. myriochaetum* parecen ser una buena alternativa para el control de antracnosis en poscosecha, debido que el uso indiscriminado de productos químicos ha generado resistencia en muchos hongos.

X. LITERATURA CITADA

- Abbas, F. M., Shnawa, A. F., & Hameed, I. H. (2019). *Daucus carota*: *In vitro* Antimicrobial activity and bioactive compounds of methanolic fruit extract using FTIR spectroscopic analysis. *Indian Journal of Public Health Research & Development*, 10(1), 948-953.
- Abdolahi, A., Hassani, A., Ghosta, Y., Javadi, T., & Meshkatalasadat, M. H. (2010). Essential oils as control agents of postharvest *Alternaria* and *Penicillium* rots on tomato fruits. *Journal of food safety*, 30(2), 341-352.
- Ahmed, S., Hasan, M. M., & Mahmood, Z. A. (2017). Antiurolithiatic plants of family Fabaceae: A memoir of mechanism of action, therapeutic spectrum, formulations with doses. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(3), 592-596.
- Ajayi, O. E., Awala, S. I., Olalekan, O. T., & Alabi, O. A. (2017). Evaluation of Antimicrobial Potency and Phytochemical Screening of *Persea americana* Leaf Extracts against Selected Bacterial and Fungal Isolates of Clinical Importance. *Microbiology Research Journal International*, 1-11.
- Ajuong, E. M., & Breese, M. C. (1998). Fourier transform infrared characterization of Pai wood (*Afzelia africana* Smith) extractives. *Holz als Roh-und Werkstoff*, 56(2), 139.
- Alam, M. S., Kaur, G., Jabbar, Z., Javed, K., & Athar, M. (2007). *Eruca sativa* seeds possess antioxidant activity and exert a protective effect on mercuric chloride induced renal toxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 45(6), 910-920.
- Almeida, N. L. M., Saldanha, L. L., da Silva, R. A., Pinke, K. H., Da Costa, E. F., Porto, V. C., Dokkedal A. L & Lara, V. S. (2018). Antimicrobial activity of denture adhesive associated with *Equisetum giganteum*-and *Punica granatum*-enriched fractions against *Candida albicans* biofilms on acrylic resin surfaces. *Biofouling*, 34(1), 62-73. DOI: <https://doi.org/10.1080/08927014.2017.1407408>

- Al-Reza, S.M., Rahman, A., Ahmed, Y. and Kang, S.C. (2010). Inhibition of plant pathogens *in vitro* and *in vivo* with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. Pestic Biochem Physiol 96, 86–92.
- Al-Snafi, A. E. (2017). The pharmacology of *Equisetum arvense*-A review. IOSR Journal of Pharmacy, 7(2), 31-42.
- Altameme, H. J., Hameed, I. H., & Abu-Serag, N. A. (2015). Analysis of bioactive phytochemical compounds of two medicinal plants, *Equisetum arvense* and *Alchemilla vulgaris* seed using gas chromatography-mass spectrometry and fourier-transform infrared spectroscopy. Malaysian. Applied Biology Journal, 44(4), 47-58.
- Amadioha, A. C., & Chidi, K. P. (2019). Efficacy of extracts of some plants against post harvest fungal deterioration of cassava root (*Manihot esculenta* Crantz) in Nigeria. Microbiology Research Journal International, 27(1) 1-9.
- Ampofo, S. A., & Waterman, P. G. (1986). Xanthenes and neoflavonoids from two Asian species of *Calophyllum*. Phytochemistry, 25(11), 2617-2620.
- Auxence, E. G. (1953). A pharmacognostic study of *Piscidia erythrina*. Economic Botany, 7(3), 270-284.
- Avalos-García A, y Perez-Urria E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. REDUCA. 2(3): 119-145
- Ayorinde, J. O., Effiong, D. E., & Odeniyi, M. A. (2018). Design and Evaluation of Oral Dissolving Films of Chlorpheniramine From Native and Modified *Enterolobium Cyclocarpum* Gum. African Journal of Biomedical Research, 21(2), 175-182.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. Journal of Food Engineering, 117(4), 426-436. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>

- Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med Aromat Plants*, 4(196), 2167-0412.
- Babayemi, O. J. (2006). Antinutritional factors, nutritive value and in vitro gas production of foliage and fruit of *Enterolobium cyclocarpum*. *World Journal of Zoology*. 1(2):113-117.
- Bagamboula, C. F., Uyttendaele, M., & Debevere, J. (2004). Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology*, 21(1), 33-42. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(03\)00046-7](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(03)00046-7)
- Barkemeyer, R., Holt, D., Preuss, L., & Tsang, S. (2014). What happened to the 'development' in sustainable development? Business guidelines two decades after Brundtland. *Sustainable Development*, 22(1), 15–32.
- Bates, S. H., Jones, R. B., & Bailey, C. J. (2000). Insulin-like effect of pinitol. *British Journal of Pharmacology*, 130(8), 1944-1948.
- Bautista–Baños, S., Hernández–Lauzardo, A.N., Velázquez–del Valle, M.G., Hernández–López, M., Ait Barka, E., Bósquez–Molina, E., and Wilson, C.L. (2006). Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection* 25:108–118.
- Belwal, T., Ezzat, S. M., Rastrelli, L., Bhatt, I. D., Daglia, M., Baldi, A & Anandharamakrishnan, C. (2018). A critical analysis of extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, industrial uses and optimization strategies. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 100, 82-102. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.12.018>
- Blanco, E., & Alfaro, J. (2014). Chemical modification of *Calophyllum brasiliense* Cambess and *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. *WOOD. Colombia Forestal*, 17(1), 125-132.

- Bohlmann, F., Hartono, L., & Jakupovic, J. (1985). Highly unsaturated amides from *Salmea scandens*. *Phytochemistry*, 24(3), 595-596. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)80774-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)80774-8)
- Bolick, M. R. (1991). Systematics of *Salmea* DC. (Compositae: Heliantheae). *Systematic Botany*, 16(3), 462-477.
- Bolívar, K., Sanabria, M. E., Rodríguez, D., de Camacaro, M. P., Ulacio, D., Cumana, L. J., & Crescente, O. (2009). Potencial efecto fungicida de extractos vegetales en el desarrollo *in vitro* del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. y de la antracnosis en frutos de mango. *Revista Científica UDO Agrícola*, 9(1), 175-181.
- Brenzan, M. A., Piloto Ferreira, I. C., Campana Lonardoní, M. V., Honda, P. A., Filho, E. R., Nakamura, C. V., Días F. B. P., Nakamura, T. U & Garcia Cortez, D. A. (2008). Activity of Extracts and Coumarins from the Leaves of *Calophyllum brasiliense*. on *Leishmania braziliensis*. *Pharmaceutical biology*, 46(6), 380-386. DOI: <https://doi.org/10.1080/13880200802055818>
- Briceño G, García J, Maselli A, Rosales LC. Efecto de extractos etanólicos de ruda y nim sobre el control de bacterias fitopatógenas del género “*Erwinia*”. *Agron Trop* 2011; 61(2):141-8.
- Bridge, W., Coleman, F., & Robertson, A. (1948). 61. Constituents of “Cortex *Piscidiæ erythrinæ*.” Part I. The structure of piscidic acid. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 257-260. ????
- Burgos, A. A., Góngora, R. C., Leal, C. C., Campos, C. Z., & Castro, C. S. (2006). Composición química-nutricional de árboles forrajeros. Universidad Autónoma de Yucatán. Yucatán, México. 56 p.
- Burketova, L., Trda, L., Ott, P. G., & Valentova, O. (2015). Bio-based resistance inducers for sustainable plant protection against pathogens. *Biotechnology advances*, 33(6), 994-1004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.01.004>

- Cabral, R. N. (2012). Progreso temporal da Septoriose em tomateiro orgânico em distintos sistemas e níveis de irrigação. Brasília. 31p.
- Caceres, A., Lopez, B. R., Giron, M. A., & Logemann, H. (1991). Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 1. Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 31(3), 263-276.
- Calderon-Montano, J. M., Burgos-Morón, E., Pérez-Guerrero, C., & López-Lázaro, M. (2011). A review on the dietary flavonoid kaempferol. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 11(4), 298-344.
- Camacho-Campos, C., Pérez-Hernández, Y., Valdivia-Ávila, A., Ramírez-Pérez, H. L., & Gómez-Brisuela, L. (2019). Propiedades fitoquímicas y antibacterianas de extractos de *Tagetes erecta* L. (Asteraceae). *Revista Cubana de Química*, 31(1), 5364.
- Carabias, J. (2019). Políticas económicas con sustentabilidad ambiental. *economíaunam*, 16(46).
- Carmona, M., & Sautua, F. (2017). La problemática de la resistencia de hongos a fungicidas. Causas y efectos en cultivos extensivos. *Agronomía & Ambiente*, 37(1).
- Carnevali Fernández-Concha, G., Tapia-Muñoz, J. L., Duno de Stefano, R. & Ramírez Morillo, I. M. (Eds. Grales.). 2010. Flora Ilustrada de la Península de Yucatán: Listado Florístico. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C., Mérida Yucatán, México. 328 p.
- Catao, H. C. R. M; Sales, N. L. P; Menezes, J. B. C; Soares, E. P. S; Silva, P. A. P; Costa, C. A. (2011). Caracterização epidemiológica e resistência de genótipos de tomateiro cereja a *Alternaria solani*. *Horticultura Brasileira*. 29(2), p. 1405-1413.

- Celis, Á., Mendoza, C., Pachón, M., Cardona, J., Delgado, W., & Cuca, L. E. (2008). Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 26(1), 97-106.
- Četojević-Simin, D. D., Čanadanović-Brunet, J. M., Bogdanović, G. M., Djilas, S. M., Četković, G. S., Tumbas, V. T., & Stojiljković, B. T. (2010). Antioxidative and antiproliferative activities of different horsetail (*Equisetum arvense* L.) extracts. *Journal of Medicinal Food*, 13(2), 452-459. DOI: <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0159>
- Chowdappa, P., & Lakshmi, M. J. (2013). Identification of *Alternaria* species associated with leaf blights of fruit, vegetable and oil seed crops based on protein and multi-locus enzyme finger prints. *Pest Management In Horticultural Ecosystems*, 19(1), 45-56.
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad). 2019. Disponible en <http://enciclovida.mx/especies/184134> consultado 02 septiembre 2019.
- Costa, M. J.N., V.P. Campos, D.F. Oliveira y Pfenning, L. H. (2001). Toxicidad de extratos vegetais e de estorcos a *Meloidogyne incógnita*. *Summa. Phytopathologica*. 27 (2): 245-250.
- Costello, C. H., & Butler, C. L. (1948). An investigation of *Piscidia erythrina* (Jamaica dogwood). *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 37(3), 89-97.
- Cruz-Reyes, A., & Pickering-López, J. M., 2006. Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years. A Review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 101(4): 345-354.
- De Oliveira, C. E. V., Stamford, T. L. M., Neto, N. J. G., & de Souza, E. L. (2010). Inhibition of *Staphylococcus aureus* in broth and meat broth using synergies of phenolics and organic acids. *International Journal of Food Microbiology*, 137(2-3), 312-316.

- De Queiroz, G. M., Politi, F. A., Rodrigues, E. R., Souza-Moreira, T. M., Moreira, R. R., Cardoso, C. R., Santos L & Pietro, R. C. (2015). Phytochemical characterization, antimicrobial activity, and antioxidant potential of *Equisetum hyemale* L. (Equisetaceae) extracts. *Journal of Medicinal Food*, 18(7), 830-834.
- Del Puerto Rodríguez, A. M., Suárez Tamayo, S., & Palacio Estrada, D. E. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 372-387.
- Díaz Solares, M., Lugo Morales, Y., Fonte Carballo, L., Castro Cabrera, I., LópezVigoa, O., & Montejo Sierra, I. L. (2017). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos frescos de hojas de *Morus alba* L. *Pastos y Forrajes*, 40(1), 43-48.
- Dill, A. (2009). Extratos vegetais no controle da pinta preta (*Alternaria solani*) em tomateiro. 2009. 52f (Doctoral dissertation, Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria).
- Dirar, A. I., Alsaadi, D. H. M., Wada, M., Mohamed, M. A., Watanabe, T., & Devkota, H. P. (2019). Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 120, 261-267. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.07.003>
- Dixon, R. (2001). Natural Products and Plant Disease Resistance, *Nature* 411:843-847.
- Do Q. D., Angkawijaya A. E., Tran-Nguyen P. L., Huynh L. H., Soetaredjo F. E., Ismadji S., Ju Y.-H., 2014, Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*, *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296-302.
- Domeneghetti, L., Demarchi, I. G., Caitano, J. Z., Pedroso, R. B., Silveira, T. G. V., & Lonardoní, M. V. C. (2018). *Calophyllum brasiliense* modulates the immune

response and promotes *Leishmania amazonensis* intracellular death. Mediators of Inflammation. v. 2018, p.1-9, <https://www.hindawi.com/journals/mi/2018/6148351/abs/>

Domingo, D., & López-Brea, M. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. Rev Esp Quimioterap, 16(4), 385-393.

Edris, A. E., & Farrag, E. S. (2003). Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase. Food/Nahrung, 47(2), 117-121.

El Hadrami, A., Adam, L. R., & Daayf, F. (2011). Biocontrol treatments confer protection against *Verticillium dahliae* infection of potato by inducing antimicrobial metabolites. Molecular Plant-Microbe Interactions, 24(3), 328-335.

El-Din, M. I. G., Eldahshan, O. A., Singab, A. N. B., & Ayoub, N. A. (2018). Genus *Enterolobium*: traditional uses, chemistry and biological activities.

Eloff, J. N., Angeh, I. E., & McGaw, L. E. (2018). Solvent-solvent fractionation can increase the antifungal activity of a *Melianthus comosus* (Melianthaceae) acetone extract to yield a potentially useful commercial antifungal product. Industrial crops and products, 111, 69-77.

Espinoza-Madrigal R- M., Flores-García A., Del Río-Torres R.E.N y MartínezPacheco M.M. (2016). Componentes de *Enterolobium cyclocarpum* inhiben la dihidrofolato reductasa de hongos y Oomicetos. Instituto de investigaciones Químico-Biologicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Planta Año 11 No. 22.

Esteban, S. S. (2010). Química y cultura científica. Universidad nacional de educación a distancia. UNED. Madrid. https://books.google.com.mx/books?id=z09Vyr9DBEC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Ezziyyani, M., Pérez Sánchez, C., Requena, M. E., Rubio, L., & Candela, M. E. (2004). Biocontrol por *Streptomyces rochei* –Ziyani–, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. *Anales de Biología*, 26, 69–78.

FAOSTAT (Estadísticas de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2017. Base de datos, disponible en línea: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>

Fawcett, W., Rendle, A.B., Flora of Jamaica, vol. 7 (1936) id_publication not set number of illustrations in this volume: 102. http://plantillustrations.org/volume.php?id_volume=7262

Fernández-Salas, A., Alonso-Díaz, M. A., Acosta-Rodríguez, R., Torres-Acosta, J. F. J., Sandoval-Castro, C. A., & Rodríguez-Vivas, R. I. (2011). *In vitro* acaricidal effect of tannin-rich plants against the cattle tick *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, 175(1-2), 113-118.

FIRA (Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura).2019. Panorama Agroalimentario: Tomate rojo, 2016. Disponible en línea: <https://www.inforural.com.mx/fira-panorama-agroalimentario-tomate-rojo-2019/>. Consultado mayo 2019

Font Quer P. (1953). *Diccionario de Botánica*. 2a ed. Península. Barcelona. <https://es.scribd.com/document/127554885/Diccionario-Botanica-Pio-Font-Quer>

Garcia, D., Ramos, A. J., Sanchis, V., & Marín, S. (2012). Effect of *Equisetum arvense* and *Stevia rebaudiana* extracts on growth and mycotoxin production by *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides* in maize seeds as affected by water activity. *International Journal of Food Microbiology*, 153(1-2), 21-27.

García-Dávila, J., Ocaranza-Sánchez, E., Sánchez, C., Ortega-Sánchez, E., Tlecuitl-Beristaín, S., & Martínez-Ayala, A. L. (2017). FTIR analysis of

- hydrotreated *Jatropha curcas* L. seed oil over Ni-Mo catalyst for biofuel production. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(2), 337-345.
- Garrido, G., Ortiz, M., & Pozo, P. (2013). Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de *Lampaya medicinalis* F. *Phil. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 1(1), 30-38.
- Gobbo-Neto, L., Bauermeister, A., Sakamoto, H. T., Gouvea, D. R., Lopes, J. L. C., & Lopes, N. P. (2017). Spatial and temporal variations in secondary metabolites content of the *Brazilian Arnica* leaves (*Lychnophora ericoides* Mart., Asteraceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 28(12), 2382-2390.
- Gomare, K. S., & Mishra, D. N. (2018). FTIR spectroscopic analysis of phytochemical extracts from *Hibiscus rosa-sinensis* L. used for hair disorder. *International Journal of Recent Trends in Science and Technology*, 70-75.
- Gonçalves, R., Lemos, C., Leal, I., Nakamura, C., Cortez, D., da Silva, E., & Cardozo-Filho, L. (2013). Comparing conventional and supercritical extraction of (-)-Mammea A/BB and the antioxidant activity of *Calophyllum brasiliense* extracts. *Molecules*, 18(6), 6215-6229.
- González, I., Yailén, A., & Peteira, B. (2012). Aspectos generales de la interacción *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici-tomate. *Revista de Protección Vegetal*, 27(1), 1-7.
- Gordon, T. R. (2017). *Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* wilt syndrome. *Annual review of phytopathology*, 55, 23-39.
- Goussous, S. J., Abu el-Samen, F. M., & Tahhan, R. A. (2010). Antifungal activity of several medicinal plants extracts against the early blight pathogen (*Alternaria solani*). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 43(17), 1745-1757.
- Gupta O P., Ali MM., Ray Ghatak BJ, & Atal CK. (1977). Some pharmacological investigations of embelin and its semisynthetic derivatives. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*. 21(1).

- Hari, N., & Nair, V. P. (2018). FTIR Spectroscopic Analysis of Leaf Extract in Hexane in *Jasminum Azoricum* L. *Recent Research in Science and Technology*, 4 (8), 170-172.
- Hauke, R. L. (1962). A resume of the taxonomic reorganization of *Equisetum*, subgenus Hippochaete, II. *American Fern Journal*, 52(1), 29-35
- Hauschild, F. (1936). "Darstellung eines hochwirksamen Fischgiftes aus Cortex *Piscidiae Erythrinae*." *Archiv der Pharmazie* 274, 388-392.
- Hernández Lauzardo, A., Bautista Baños, S., & Velázquez del Valle, M. (2007). Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30 (2), 119-123.
- Hernández Martínez, R., López Benítez, A., Borrego Escalante, F., Espinoza Velázquez, J., Sánchez Aspeytia, D., Maldonado Mendoza, I. E., & López Ochoa, L. A. (2014). Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici en predios tomateros en San Luis Potosí. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(7), 1169-1178.
- Herz, W., & Kulanthaivel, P. (1985). An amide from *Salmea scandens*. *Phytochemistry*, 24(1), 173-174.
- Houicher, A., Hamdi, M., Hechachna, H., & Özogul, F. (2018). Chemical composition and antifungal activity of *Anacyclus valentinus* essential oil from Algeria. *Food Bioscience*, 25, 28-31.
- Hursh, D., Henderson, J., & Greenwood, D. (2015). Environmental education in a neoliberal climate. *Environmental Education Research*, 21(3), 299–318.
- Ingham, J. L., Tahara, S., Shibaki, S., & Mizutani, J. (1989). Isoflavonoids from the Root Bark of *Piscidia erythrina* and a Note on the Structure of Piscidone. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 44(11-12), 905-913.
- Isman, M. B., & Machial, C. M. (2006). Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. *Advances in Phytomedicine*, 3, 29-44.

- IUCN/UNEP/WWF (1991). Caring for the Earth: A Strategy for Sustainable Living Gland, Switzerland: published in partnership by IUCN - The World Conservation Union, UNEP - United Nations Environment Program, WWF - World Wide Fund for Nature.
- Jensen, J. S., Egebo, M., & Meyer, A. S. (2008). Identification of spectral regions for the quantification of red wine tannins with Fourier transform mid-infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(10), 3493-3499.
- Jiménez, G. S., Ducoing, H. P., & Sosa, M. R. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3), 355-363.
- Juárez-Maldonado, A., K. de Alba R., A. Zermeño G., H. Ramírez y A. Benavides M. 2015. Análisis de crecimiento del cultivo de tomate en invernadero. *Revista Mexicana de Ciencia. Agrícolas*. 6: 943-954.
- Kashman, Y., Gustafson, K. R., Fuller, R. W., McMahon, J. B., Currens, M. J., Buckheit, J. R., & Boyd, M. R. (1992). The calanolides, a novel HIV-inhibitory class of coumarin derivatives from the tropical rainforest tree, *Calophyllum lanigerum*. *Journal of medicinal chemistry*, 35(15), 2735-2743. DOI: 10.1021/jm00093a004
- Kassim, M. J., Hussin, M. H., Achmad, A., Dahon, N. H., Suan, T. K., & Hamdan, H. S. (2011). Determination of total phenol, condensed tannin and flavonoid contents and antioxidant activity of *Uncaria gambirextracts*. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 22(1), 50-59.
- Kchaou, W., Abbès, F., Blecker, C., Attia, H., & Besbes, S. (2013). Effects of extraction solvents on phenolic contents and antioxidant activities of Tunisian date varieties (*Phoenix dactylifera* L.). *Industrial crops and products*, 45, 262-269. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.12.028>
- Khakestani, M., Jafari, S. H., Zahedi, P., Bagheri, R., & Hajiaghaee, R. (2017). Physical, morphological, and biological studies on PLA/n HA composite nanofibrous webs containing *Equisetum arvense* herbal extract for bone tissue engineering. *Journal of Applied Polymer Science*, 134(39), 45343.

- Klein-Júnior, L. C., Zambiasi, D., Salgado, G. R., Delle Monache, F., Cechinel Filho, V., & de Campos Buzzi, F. (2017). The validation of *Calophyllum brasiliense* ("guanandi") uses in Brazilian traditional medicine as analgesic by *in vivo* antinociceptive evaluation and its chemical analysis. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 390(7), 733-739.
- Kopnina, H. (2014). Revisiting Education for Sustainable Development (ESD): Examining Anthropocentric Bias Through the Transition of Environmental Education to ESD. *Sustainable Development*, 22(2), 73–83.
- Kotze, M., Eloff, J. N., & Houghton, P. J. (2002). Extraction of antibacterial compounds from *Combretum microphyllum* (Combretaceae). *South African Journal of Botany*, 68(1), 62-67.
- Kumar, R., Pandey, A., & Varshney, V. K. (2019). Antifungal Activity of the Essential Oil of *Tagetes minuta* Against Some Fungi of Forestry Importance. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 9(1), 67-72. DOI: <https://doi.org/10.1080/22311866.2019.1576542>
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, 2013.
- Kurozawa, C.; Pavan, M.A. (2005). Doenças do tomateiro. In: KIMATI, H. (Ed.). *Manual de Fitopatología: doenças das plantas cultivadas*. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2, 607-626.
- lal Kapoor, A. (1957). Isolation and Chemistry of Some of the Active Principles of *Piscidia Erythrin* L. Diss. Nr. 2656 Naturwiss.
- Latorre BA, Lillo C, Rioja ME (2001) Eficacia de los tratamientos fungicidas para el control de *Botrytis cinerea* de la vid en función de la época de aplicación. *Ciencia e Investigación Agraria* 28:61-66.
- Legault, J., Dahl, W., Debiton, E., Pichette, A., & Madelmont, J. C. (2003). Antitumor activity of balsam fir oil: production of reactive oxygen species induced by

dhumulene as possible mechanism of action. *Planta medica*, 69(05), 402-407.

Leontopoulos, S., Skenderidis, P., Kalorizou, H., & Petrotos, K. (2017). Bioactivity Potential of polyphenolic compounds in human health and their effectiveness against various food borne and plant pathogens. A Review. *Journal of Food and Biosystems Engineering*, 7, 1-19.

Lombardo, P., Guimaraens, A., Franco, J., Dellacassa, E., Pérez Faggiani, E. (2015). Effectiveness of essential oils for postharvest control of *Phyllosticta citricarpa* (citrus black spot) on citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology* 121: 1-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.07.002>

López-Benítez, A.; S. López-Betancourt, M.E. Vázquez-Badillo, S.A. RodríguezHerrera, M. Mendoza-Elos, y E. Padrón-Corral. (2005). Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* SCHLECHTEND f. sp. lycopersici (SACC.) SNYDER Y HANSEN. *Rhizotocnia solani* KÜHN y *Verticillium dahliae* KLEB. mediante extractos vegetales acuosos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(2): 183-190.

López-Casamayor, E. (2007). Estudio fitoquímico y Aproximación genética en especies de la sección PLINTHINE del Género *Arenaria* (Caryophyllaceae). Tesis (Dr. Sc). Granada, ES: Universidad de Granada. Recuperado desde: <http://hera.ugr.es/tesisugr/16727216.pdf>

Luo, C., Grigsby, W., Edmonds, N., Easteal, A., & Al-Hakkak, J. (2010). Synthesis, characterization, and thermal behaviors of tannin steirates prepared from quebracho and pine bark extracts. *Journal of Applied Polymer Science*, 117(1), 352-360.

Ma, L. J., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F & Kazan, K. (2013). *Fusarium pathogenomics*. *Annual Review of Microbiology*, 67, 399-416.

Macfadyen, J. (1837). *The Flora of Jamaica; a Description of the Plants of that Island (etc.)*. Longman.

<https://books.google.com.mx/books?id=6dVUAAAACAAJ&pg=PA258&dq=piscidia+erythrina+DESCRIPTION&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj72Lqy3dDjAhVNLK0KHRXfDvkQ6AEIKDAA#v=onepage&q=piscidia%20erythrina%20DESCRIPTION&f=false>

Manzano, P. I., Miranda, M., Gutiérrez, Y., Santos, E., & Scull, R. (2014). Estudio morfo-anatómico e identificación genética de *Vernonanthura patens* (Kunth) H. Rob. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, 2(5), 119-128.

Martínez, M. 1994. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Edición reimpressa, Editor Fondo de Cultura Económica. 1247 pág.

Martínez-Ruiz, F. E., Cervantes-Díaz, L., Aíl-Catzím, C. E., Hernández-Montiel, L. G., Sánchez, C. L. D. T., & Rueda-Puente, E. O. (2016). Hongos fitopatógenos asociados al tomate (*Solanum Lycopersicum* L.) en la zona árida del noroeste de México: la importancia de su diagnóstico. European Scientific Journal, 12 (18), 232.

Mesén, R. (2005). Manejo integrado del Tizón tardío (*Phytophthora infestan*) con extractos naturales y fungicidas químicos en el ASA. I Congreso de Agricultura Conservacionista.

Methods Optimization in Accelerated Solvent Extraction in Technical note (2013) 208: 1-4.

Michielin, E. M., Bresciani, L. F., Danielski, L., Yunes, R. A., & Ferreira, S. R. (2005). Composition profile of horsetail (*Equisetum giganteum* L.) oleoresin: comparing SFE and organic solvents extraction. The Journal of Supercritical Fluids, 33(2), 131-138.

Mimica-Dukic, N., Simin, N., Cvejic, J., Jovin, E., Orcic, D., Bozin, B., 2008. Phenolic compounds in field horsetail (*Equisetum arvense* L.) as natural antioxidants. Molecules 13, 1455–1464.

- Michielse, C. B., & Rep, M. (2009). Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology*, 10(3), 311-324.
- Migliori, C.A., Salvati, L., Di Cesare, L.F., Lo Scalzo, R., Parisi, M. 2017. Effects of preharvest applications of natural antimicrobial products on tomato fruit decay and quality during long-term storage. *Scientia Horticulturae* 222, 193–202.
- Mimica-Dukic, N., Simin, N., Cvejic, J., Jovin, E., Orcic, D., Bozin, B., 2008. Phenolic compounds in field horsetail (*Equisetum arvense* L.) as natural antioxidants. *Molecules* 13, 1455–1464.
- Mojab F, Kamalinejad M, Ghaderi N, Vahidipour HR (2003). Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian Journal Pharmaceutical Research*, 2: 77-82.
- Monardes, H. (2009). Características botánicas. Manual de cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), nodo hortícola. VI región. Facultad de Ciencias Agronoómicas. Chile. p. 10.
- Montes B. R. (2009). Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Micología*, 29, 73-82.
- Moore, J. A., & Eng, S. (1956). Some New Constituents of *Piscidia erythrina* L. *Journal of the American Chemical Society*, 78(2), 395-398.
- Moreno, N. P. (1984). Glosario botánico ilustrado. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Xalapa, Veracruz. Versión electrónica:
- Morton, J. F. (1981). Atlas of medicinal plants of Middle America: Bahamas to Yucatan. Charles C. Thomas.
- Ngo, T. V., Scarlett, C. J., Bowyer, M. C., Ngo, P. D., & Vuong, Q. V. (2017). Impact of different extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant capacity from the root of *Salacia chinensis* L. *Journal of Food Quality*, 2017.
- Northeast School of Botanical Medicine. (2017). All rights reserved. Website Design And Development by Flourish Design Studio, Ithaca New York. DOI: <http://7song.com/jamaican-dogwood-piscidia-piscipula-2014/>

- Nyquist, R. A. (2001). Interpreting infrared, Raman, and nuclear magnetic resonance spectra. Academic Press.
[https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=6Hp7OX56y28C&oi=fnd&pg=PR9&dq=Nyquist,+R.+A.+\(2001\)+Alcohols+and+Phenols.+In+Interpretin+g+Infrared,+Raman,+and+Nuclear+Magnetic+Resonance+Spectra,+Ed.+Academic+Press:+San+Diego,+2001,+pp+125-141.&ots=amvoVKqQEA&sig=qFgedx-Zv5H466DZ0_mWqLoukJM#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=6Hp7OX56y28C&oi=fnd&pg=PR9&dq=Nyquist,+R.+A.+(2001)+Alcohols+and+Phenols.+In+Interpretin+g+Infrared,+Raman,+and+Nuclear+Magnetic+Resonance+Spectra,+Ed.+Academic+Press:+San+Diego,+2001,+pp+125-141.&ots=amvoVKqQEA&sig=qFgedx-Zv5H466DZ0_mWqLoukJM#v=onepage&q&f=false)
- Obeidat, M., Shatnawi, M., Al-Alawi, M., Al Zubi, E., Aldmor, H., Al Quadah, M., Al Quadah, J. and Otri, I. (2012). Antimicrobial activity of crude extracts of some plant leaves. *Research Journal of Microbiology*, 7, 59–67.
- Ogata, T., & Nakano, Y. (2005). Mechanisms of gold recovery from aqueous solutions using a novel tannin gel adsorbent synthesized from natural condensed tannin. *Water Research*, 39(18), 4281-4286.
- Oraki, H. H., Demirci, A. Ş., & Gümüş, T. (2011). Antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum* L. cv.) peel. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry*, 10(3).
- Ortega-Martínez, L.D., J. Sánchez-Olarte, R. Díaz-Ruiz y J. Ocampo-Mendoza. 2010. Efecto de diferentes sustratos en el crecimiento de plántulas de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.). *Ra Ximhai* 6(3), 365-372.
- Pane, C., Fratianni, F., Parisi, M., Nazzaro, F., & Zaccardelli, M. (2016). Control of *Alternaria* post-harvest infections on cherry tomato fruits by wild pepper phenolic-rich extracts. *Crop Protection*, 84, 81-87.
- Patil, A. D., Freyer, A. J., Eggleston, D. S., Haltiwanger, R. C., Bean, M. F., Taylor, P. B., Caranfa, M. J., Breen, A. L., & Bartus, H. R. (1993). The inophyllums, novel inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase isolated from the Malaysian tree, *Calophyllum inophyllum* Linn. *Journal of Medicinal Chemistry*, 36(26), 4131-4138.

- Patil, D. A. (2011). Ethnomedicine to modern medicine: genesis through ages. *Journal of Experimental Sciences*, 2(3), 25-29
- Peralta, M. A., da Silva, M. A., Ortega, M. G., Cabrera, J. L., & Paraje, M. G. (2015). Antifungal activity of a prenylated flavonoid from *Dalea elegans* against *Candida albicans* biofilms. *Phytomedicine*, 22(11), 975-980.
- Ping, L., Gambier, F., Pizzi, A., Guo, Z. D., & Brosse, N. (2012). Wood adhesives from agricultural by-products: lignins and tannins for the elaboration of particleboards. *Cellulose Chem. Technol*, 46(7-8), 457-462.
- Pramila, D. M., Xavier, R., Marimuthu, K., Kathiresan, S., Khoo, M. L., Senthilkumar, M., Sathya, K & Sreeramanan, S. (2012). Phytochemical analysis and antimicrobial potential of methanolic leaf extract of peppermint (*Mentha piperita*: Lamiaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(2), 331-335.
- Pretto, J. B., Cechinel-Filho, V., Noldin, V. F., Sartori, M. R., Isaias, D. E., & Cruz, A. B. (2004). Antimicrobial activity of fractions and compounds from *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae/Guttiferae). *Zeitschrift fuer Naturforschung C*, 59(9-10), 657-662.
- Quiñones, J. G. R., Windeisen, E., & Schumacher, P. (1995). Antifungal activity of heartwood extracts from *Dalbergia granadillo* and *Enterolobium cyclocarpum*. *Holz Als Roh- Und Werkstoff*, 53(5), 308.
- Radojević, I. D., Stanković, M. S., Stefanović, O. D., Topuzović, M. D., Čomić, L. R., & Ostojić, A. M. (2012). Great horsetail (*Equisetum telmateia* Ehrh.): Active substances content and biological effects. *EXCLI Journal*, 11, 59–67.
- Ragupathi Raja Kannan, R., Arumugam, R., & Anantharaman, P. (2011). Fourier transform infrared spectroscopy analysis of seagrass polyphenols. *Current Bioactive Compounds*, 7(2), 118-125.
- Ravikumar, M. C., & Garampalli, R. H. (2013). Antifungal activity of plants extracts against *Alternaria solani*, the causal agent of early blight of tomato. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 46(16), 1897-1903.

- Raya González D, Chávez Duran J, Urrutia Hernández SE, Castro Ortiz R, Martínez Muñoz RE, Ron Echeverría OA, del Río RE, Morales López ME, Cajero Juárez M, Martínez Pacheco MM. (2008). Estudio toxicológico del extracto acuoso obtenido del duramen de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. Revista Cubana de Plantas Medicinales 13: 11 - 17.
- Raya González D, Martínez Muñoz RE, del Río Rosa EN, Flores García A, Macías Rodríguez LI, Martínez-Pacheco MM. (2012). Volatile constituents of *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. with antitermite activity. Emirates Journal of Food & Agriculture
- Raya-Gonzalez, D., Pamatz-Bolanos, T., Rosa, E., Martinez-Munoz, R. E., RonEcheverria, O., & Martinez-Pacheco, M. M. (2008). D-(+)-pinitol, a component of the heartwood of *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. Zeitschrift für Naturforschung , 63(11-12), 922-924
- Reaves, J. y Crawford, R. (1994). *In vitro* colony interactions among species of *Trichoderma* with inference toward biological control. Portland, OR (USA): Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station, Research Paper, PNW-RP-474. p. 8.
- Rebey, I. B., Bourgou, S., Debez, I. B. S., Karoui, I. J., Sellami, I. H., Msaada, K & Marzouk, B. (2012). Effects of extraction solvents and provenances on phenolic contents and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. Food and Bioprocess Technology, 5(7), 2827-2836.
- Reid, A., and Scott, W. 2006. Researching education and the environment: Retrospect and prospect. Environmental Education Research. 12(3-4):571-587.
- Reyes-Chilpa, R., Estrada-Muñiz, E., Apan, T. R., Amekraz, B., Aumelas, A., Jankowski, C. K., & Vázquez-Torres, M. (2004). Cytotoxic effects of mammea type coumarins from *Calophyllum brasiliense*. Life Sciences, 75(13), 1635-1647.

- Reyes-Chilpa, R., Jimenez-Estrada, M., & Estrada-Muñiz, E. (1997). Antifungal xanthenes from *Calophyllum brasiliensis* heartwood. *Journal of Chemical Ecology*, 23(7), 1901-1911.
- Rhouma, A., Ben Daoud, H., Ghanmi, S., Ben Salah, H., Romdhane, M., & Demak, M. (2009). Antimicrobial activities of leaf extracts of *Pistacia* and *Schinus* species against some plant pathogenic fungi and bacteria. *Journal of Plant Pathology*, 339345.
- Robert, V., G. Stegehuis, J. Stalpers. (2005). The MycoBank engine and related databases. <http://www.mycobank.org>
- Rodriguez-Maturino, A., Troncoso-Rojas, R., Sánchez-Estrada, A., GonzálezMendoza, D., Ruiz-Sanchez, E., Zamora-Bustillos, R & Aviles-Marin, M. (2015). Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) en *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(1), 72-77.
- Rongai, D., Pulcini, P., Pesce, B., & Milano, F. (2015). Antifungal activity of some botanical extracts on *Fusarium oxysporum*. *Open Life Sciences*, 10, 10: 409–416.
- Ruan, Y., Kotraiah, V., & Straney, D. C. (1995). Flavonoids stimulate spore germination in *Fusarium solani* pathogenic on legumes in a manner sensitive to inhibitors of camp-dependent protein kinase. *MPMI-Molecular Plant Microbe Interactions*, 8(6), 929-938.
- Rutiaga Quiñones, J. G., Windeisen E., Shumacher P. 1995. Antifungal activity of heartwood extracts from *Dalbergia granadillo* and *Enterolobium cyclocarpum*. *Halz als Rho und Werstoff* 53, 308 -308.
- Saayman, H. M., & Roux, D. G. (1965). The origins of tannins and flavonoids in black-wattle barks and heartwoods, and their associated non-tannin'components. *Biochemical Journal*, 97(3), 794.
- SADER (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural), SIAP (Servicio de

Información Agroalimentaria y Pesquera). 2019.
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/464014/Boletin_avance_producto_Tomate_Rojo_abril_2019.pdf

- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2017. Monografía de Cultivos: Jitomate. Consultado 1 Julio 2019.
- Sanabria, G. A. (1983). Análisis fitoquímico preliminar. Metodología y su aplicación en la evaluación de 40 plantas de la familia Compositae. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Bogotá, Colombia. 113p.
- Sandhu, N. S., Kaur, S., Chopra, D (2010). *Equisetum aevens*: Pharmacology and Phytochemistry- A review. Asian J. Pharmaceut. Clin. Res., 3(3): 146-150.
- Sanger, F., Air, G. M., Barrell, B. G., Brown, N. L., Coulson, A. R., Fiddes, C. A., Smith, M. (1977). Nucleotide sequence of bacteriophage phi X174 DNA. Nature, 265(5596), 687–695.
- Sánchez, M. (2004). Nuevo método para microcultivo de hongos. México: Universidad Autónoma de México
- Schmidt, J. M., Noletto, J. A., Vogler, B., & Setzer, W. N. (2007). Abaco bush medicine: Chemical composition of the essential oils of four aromatic medicinal plants from Abaco Island, Bahamas. Journal of Herbs, Spices & Medicinal plants, 12(3), 43-65.
- Schneider-Orelli, O. 1947. Entomologisches praktikum. Einführung in die land- und forstwirtschaftliche Insektenkunde. Aarau, Sauerländer published. 237 p.
Disponibile en: <http://www.ehabsoft.com/ldpline/HschneiOrli.htm>
- Schoenborn, L., Yates, P. S., Grinton, B. E., Hugenholtz, P., & Janssen, P. H. (2004). Liquid serial dilution is inferior to solid media for isolation of cultures representative of the phylum-level diversity of soil bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 70(7), 4363–4366.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato, A.C. (CESAVEG). Secretaría de Desarrollo Agropecuario (SDA). (2017). Manual de Plagas y Enfermedades en Jitomate. Campaña Manejo Fitosanitario del

Jitomate.

- Senvaitiene, J., Beganskiene, A., & Kareiva, A. (2005). Spectroscopic evaluation and characterization of different historical writing inks. *Vibrational Spectroscopy*, 37(1), 61-67.
- Setzer, M. C., Newby, J. S., Moriarity, D. M., & Setzer, W. N. (2015). A phytopharmaceutical survey of Abaco Island, Bahamas. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 2(5), 10-17.
- Setzer, W. N., Noletto, J. A., & Vincent, M. A. (2007). Leaf Essential Oil Composition of *Psidium longipes* (O. Berg) McVaugh from Abaco Island, Bahamas. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 10(6), 486-489.
- Sinakou, E., Boeve-de Pauw, J., & Van Petegem, P. (2019). Exploring the concept of sustainable development within education for sustainable development: implications for ESD research and practice. *Environment, development and sustainability*, 21(1), 1-10.
- Sithara, N. V., Komathi, S., & Rajalakshmi, G. (2017). Identification of bioactive compounds using different solvents through FTIR studies and GCMS analysis. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 5(2), 192-194.
- Socrates, G. (2004). *Infrared and Raman characteristic group frequencies: tables and charts*. John Wiley & Sons. [https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=LDoAAjMnwEIC&oi=fnd&pg=PP21&dq=Socrates,+G.+\(2000\)+Infrared+and+Raman+characteristic+group+frequencies+:+tables+and+charts+/+George+Socrates.+3rd+ed.,+John+Wiley+%26+Sons:+Chichester,+N.Y.&ots=Cp52S_LvgD&sig=fNW_6PiRZNbjlrZRMhRZZ-943MM#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=LDoAAjMnwEIC&oi=fnd&pg=PP21&dq=Socrates,+G.+(2000)+Infrared+and+Raman+characteristic+group+frequencies+:+tables+and+charts+/+George+Socrates.+3rd+ed.,+John+Wiley+%26+Sons:+Chichester,+N.Y.&ots=Cp52S_LvgD&sig=fNW_6PiRZNbjlrZRMhRZZ-943MM#v=onepage&q&f=false)
- Soine, T. O. (1964). Naturally occurring coumarins and related physiological activities. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 53, 231-264
- Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14(6), 2167-2180.
- Tahara, S., Moriyama, M., Ingham, J. L., & Mizutani, J. (1993). Diverse oxygenated isoflavonoids from *Piscidia erythrina*. *Phytochemistry*, 34(1), 303-315.

- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). Fisiología Vegetal. Fisiología Vegetal, volumen I. universitat jaume, 529-558
- Téllez, M. G. O., Rodríguez, H. B., Olivares, G. Q., Sortibrán, A. N. C., Cetto, A. A., & Rodríguez-Arnaiz, R. (2007). A phytotherapeutic extract of *Equisetum myriochaetum* is not genotoxic either in the *in vivo* wing somatic test of *Drosophila* or in the *in vitro* human micronucleus test. *Journal of ethnopharmacology*, 111(1), 182-189.
- Thompson, H. W. (1964). Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy. Norman B. Colthup, Lawrence H. Daly, and Stephen E. Wiberley. Academic Press, New York, 511 pp.
- Tofoli, J.G., Domingues, R.J., Ferrari, J.T. (2015). *Alternaria* spp. em oleráceas: sintomas, etiologia, manejo e fungicidas. Instituto Biológico, São Paulo, 77(1). p.2134.
- Toledo, M. V., Stangarlin, J. R., & Bonato, C. M. (2009). Controle da pinta preta em tomateiro com preparados homeopáticos de própolis. *Revista Brasileira de Agroecologia*. 4:471-474.
- Tolosa, L., & Cañizares, E. (2017). Obtención, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de Campeche. *Ars Pharmaceutica*, 43(1-2), 187-204.
- Torelli, N. (1982). Estudio promocional de 43 especies forestales tropicales mexicanas. Reporte Técnico Programa de Cooperación Científica y Técnica MexicoYugoslavia. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Mexico.
- Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Consultado el 25 Jul 2019 <http://www.tropicos.org/Name/13012537>
- Umana, E. J., Markson, A. A., Udo, S. E., Okon, E. I., & Akwaji, P. I. (2016). Control of postharvest rot of sweet orange (*Citrus sinensis*) with extracts of plant origin. *Nigerian Journal of Biopesticides*, 1(1), 88-93.
- Uslu, M. E., Erdoğan, İ., Bayraktar, O., & Ateş, M. (2013). Optimization of extraction conditions for active components in *Equisetum arvense* extract. *Romanian Biotechnological Letters*. 18(2): 8115-8131.

- Vaillant Flores, D., Romeu, C. C., Ramos, R. E., González, G. M., Ramírez, O. R., & González, P. J. (2009). Efecto inhibitorio *in vitro* de cinco monoterpenos de aceites esenciales sobre un aislado de *Rhizoctonia solani* en papa (*Solanum tuberosum* L.). *Fitosanidad*, 13(3), 197-200.
- Vale FXR; Zambolim L; Paul PA; Costa H. (2000). Doenças causadas por fungos em tomate. In: Zambolim, L; Vale FXR; Costa, H (eds). Controle de doenças de plantas - Hortaliças. Viçosa, 2v. p. 699-755.
- Velluti, A., Sanchis, V., Ramos, A. J., Egidio, J., & Marín, S. (2003). Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. *International Journal of Food Microbiology*, 89(2-3), 145-154.
- Vieito, C., Fernandes, E., Velho, M. V., & Pires, P. (2018). The Effect of Different Solvents on Extraction Yield, Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Extracts from Pine Bark (*Pinus pinaster* subsp. atlantica). *Chemical Engineering Transactions*, 64, 127-132.
- Villacís-Aldaz, L. A., León-Gordon, O., Santana-Mayorga, R., Mangui-Tobar, J., Carranza, G., & Pazmiño-Miranda, P. (2017). Actividad anti fúngica (*in vitro*) de extractos vegetales para el control de antracnosis (*Colletotrichum acutatum*). *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 5(1), 59-64.
- Villa-Ruano, N., Pacheco-Hernández, Y., Rubio-Rosas, E., Lozoya-Gloria, E., Mosso-González, C., Ramón-Canul, L. G., & Cruz-Durán, R. (2015). Essential oil composition and biological/pharmacological properties of *Salmea scandens* (L.) DC. *Food Control*, 57, 177-184. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.04.018>
- Vongsak, B., Sithisarn, P., Mangmool, S., Thongpraditchote, S., Wongkrajang, Y., & Gritsanapan, W. (2013). Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial Crops and Products*, 44, 566-571

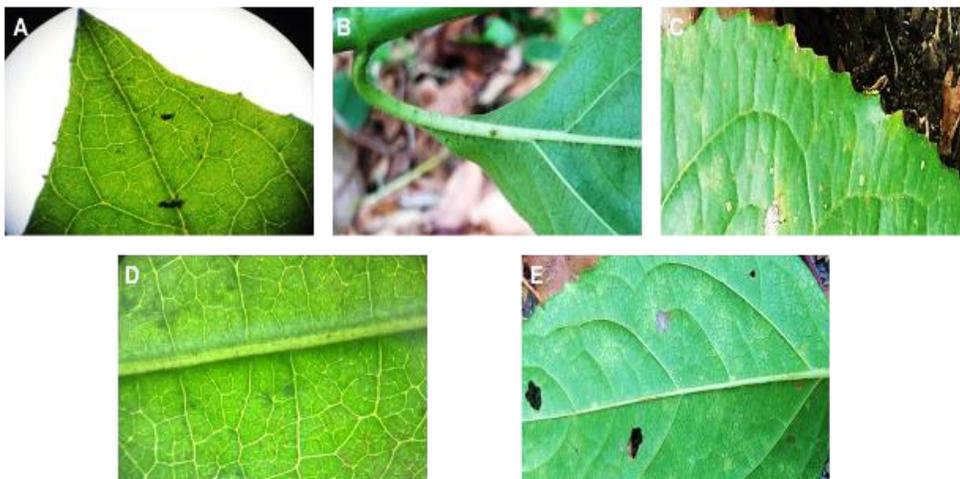
- Watanabe, T. (2010). Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species. CRC press.
- WCED (1987). Our Common Future. The United Nations World Commission on Environment and Development. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Yavuz, B. & Arslan, U., (2013). Antifungal activity of some plant extracts against phytopathogenic fungi. *Journal of Food, Agriculture & environment*, 11 (3&4): 704-709.
- Złotek, U., Mikulska, S., Nagajek, M., & Świeca, M. (2016). The effect of different solvents and number of extraction steps on the polyphenol content and antioxidant capacity of basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) extracts. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(5), 628-633.

XI. ANEXOS

11.1. Identificación morfológica de las fuentes botánicas

A partir de las observaciones de las características morfológicas de los ejemplares del herbario CHIP y mediante claves pictóricas-dicotómicas se determinaron las especies de las plantas utilizadas y se les asignó un número de registro; *E. cyclocarpum* 53108, *C. brasiliense* 53107, *S. scandens* 53106, *E. myriochaetum* 53105, a excepción de *P. piscipula* que solo se identificó, sin embargo, no se ingresó a la colección por falta de ejemplar fértil. Mientras que *S. scandens*, se identificó de acuerdo con los caracteres descritos por Fawcett y Rendle (1936).

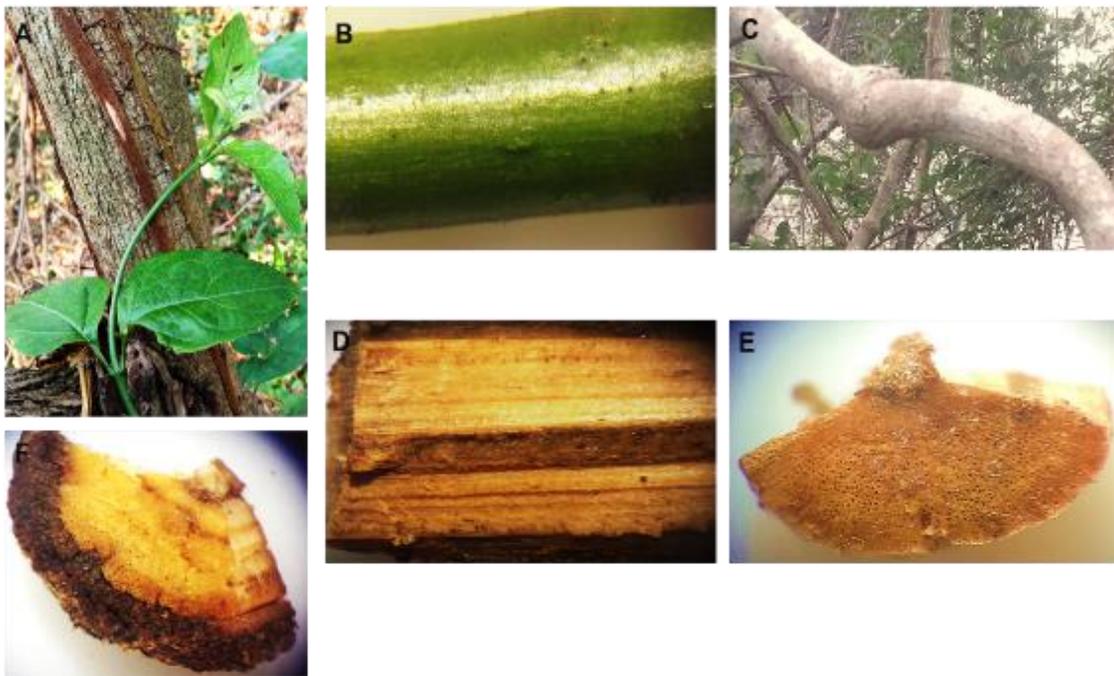
En la morfología de las hojas, *S. scandens* presentó hojas opuestas, dónde la lámina foliar exhibe un ápice acuminado (Anexo 1), peciolada con presencia de tricomas, dentada en los bordes, de base cuneada (Anexo1B; C), color verde claro más brillante por la parte adaxial, con superficie glabra; el envés pubescente de color verde claro opaco, forma lanceolada, penninervia (Anexo 1D; E). Los resultados obtenidos correspondieron con lo descrito por Fawcett y Rendle (1936).



Anexo 1. Características macromorfológicas de las hojas de *Salmea scandens*. A. ápice; B. Base; C. Borde; D. Superficie adaxial; E. Superficie abaxial.

11.2. Morfología del tallo de *S. scandens*

En la observación de las características macromorfológicas de los tallos que conforman las ramas del arbusto, se observa una consistencia semileñosa y coloraciones marrones. La forma es cilíndrica con superficie estriada (Anexo 2A; C). El corte longitudinal presenta una superficie interna de color amarillo, mientras que en el transversal se aprecia la corteza, la madera, se observa el floema y la médula (Anexo 2D; F).



Anexo 2. Características macromorfológicas del tallo de *Salmea scandens*. A. Rama del arbusto (hojas y tallo); B. Tallo poco desarrollo; C. Tallo desarrollado; D. Corte longitudinal; E; Corte transversal.

11.3. Inflorescencia de la fuente botánica *S. scandens*

Las inflorescencias de muchas cabezas, de color blanco cuando están inmaduras, axilar en cimas (Anexo 3 A-D), el receptáculo es algo cónico, Aquenios oblongo (Anexo 3 E.).



Anexo 3. Inflorescencia completa de *Salmea scandens* A. Inflorescencia inmadura. B. Inflorescencia madura; C. Inflorescencia seca. D, Inflorescencia completa; E. Aquenio maduro.