

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano**  
**Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria**  
**Ingeniería Agronómica**



**Proyecto Especial de Graduación**  
**Evaluación de la Capacidad Fungicida y Bactericida de Extractos**  
**Vegetales en Hongos Fitopatógenos, Bacterias Fitopatógenas y**  
**Bacterias Entéricas**

Estudiante

María Emilia Castillo Muñoz

Asesores

Carolina Avellaneda Barbosa, Ph.D.

Ludovic Bouilly, Ph.D.

Jose Fernando Tercero, M.Sc.

Honduras, agosto 2023

**Autoridades**

**SERGIO ANDRÉS RODRÍGUEZ ROYO**

Rector

**ANA M. MAIER ACOSTA**

Vicepresidente y Decana Académica

**CELIA O. TREJO RAMOS**

Directora Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria

**HUGO ZAVALA MEMBREÑO**

Secretario General

## Contenido

Índice de Cuadros .....	5
Índice de Figuras .....	7
Índice de Anexos .....	8
Resumen .....	9
Abstract .....	10
Introducción .....	11
Materiales y Métodos .....	14
Ubicación del Estudio .....	14
Elaboración de Extractos Vegetales .....	14
Recolección y Preparación del Material Vegetal .....	14
Secado y Molienda de Material Vegetal .....	15
Métodos de Extracción del Material Vegetal .....	16
Obtención del Extracto Etanólico .....	16
Tratamientos en Base a Extractos Vegetales .....	17
Aislamiento e Identificación de Hongos Fitopatógenos, Bacterias Entéricas y Bacterias Fitopatógenas .....	17
Observaciones Microscópicas de Microorganismos .....	18
Pruebas de Antagonismo .....	19
Antagonismo de Extractos Vegetales contra Hongos Fitopatógenos .....	19
Antagonismo de Extractos Vegetales contra Bacterias Fitopatógenas y Bacterias Entéricas .....	19
Diseño Experimental y Análisis Estadístico .....	20
Diseño y Establecimiento del Experimento .....	20

Procesamiento de Datos .....	21
Variables Evaluadas .....	21
Evaluaciones de los Extractos Vegetales .....	21
Resultados y Discusión .....	22
Hongos Fitopatógenos .....	22
Bacterias Fitopatógenas.....	28
Bacterias Entéricas.....	32
Conclusiones .....	38
Recomendaciones.....	39
Referencias.....	40
Anexos.....	45

## Índice de Cuadros

Cuadro 1 Material vegetal recolectado en estado de madurez fisiológica para realizar extractos vegetales, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.....	15
Cuadro 2 Microorganismos utilizados en la investigación para uso en bioensayos con extractos vegetales .....	18
Cuadro 3 Características de bacterias fitopatógenas y bacterias entéricas utilizadas para los bioensayos con extractos vegetales .....	18
Cuadro 4 Características de hongos fitopatógenos utilizados para los bioensayos con extractos vegetales .....	19
Cuadro 5 Tratamientos control según el microorganismo para los bioensayos con hongos fitopatógenos, bacterias fitopatógenas y Entéricas .....	20
Cuadro 6 Promedio de inhibición de crecimiento micelial (mm) de <i>Colletotrichum</i> spp. en medio de cultivo con extractos vegetales a diferentes concentraciones.....	23
Cuadro 7 Promedio de inhibición de crecimiento micelial (mm) de <i>Fusarium</i> spp. en medio de cultivo con extractos vegetales a diferentes concentraciones.....	24
Cuadro 8 Promedio de inhibición de crecimiento micelial (mm) de <i>Penicillium</i> spp. en medio de cultivo con extractos vegetales a diferentes concentraciones.....	25
Cuadro 9 Promedio de inhibición de crecimiento micelial (mm) de <i>Pestalotia</i> spp. en medio de cultivo con extractos vegetales a diferentes concentraciones.....	27
Cuadro 10 Promedio de halos de inhibición (mm) de <i>Erwinia</i> spp. como resultado de antibiograma por efecto de extractos vegetales a diferentes concentraciones.....	29
Cuadro 11 Promedio de halos de inhibición (mm) de <i>Pseudomonas</i> spp. como resultado de antibiograma por efecto de extractos vegetales a diferentes concentraciones .....	30
Cuadro 12 <i>Promedio de halos de inhibición (mm) de <i>Ralstonia</i> spp. como resultado de antibiograma por efecto de extractos vegetales a diferentes concentraciones.....</i>	31

Cuadro 13 Promedio de halos de inhibición (mm) de <i>Xanthomonas</i> spp. como resultado de antibiograma por efecto de extractos vegetales a diferentes concentraciones .....	32
Cuadro 14 Promedio de halos de inhibición (mm) de <i>Campylobacter jejuni</i> como resultado de antibiograma por efecto de extractos vegetales a diferentes concentraciones .....	33
Cuadro 15 Promedio de halos de inhibición (mm) de <i>Clostridium perfringens</i> como resultado de antibiograma por efecto de extractos vegetales a diferentes concentraciones .....	34
Cuadro 16 Promedio de halos de inhibición (mm) de <i>Salmonella Typhimurium</i> como resultado de antibiograma por efecto de extractos vegetales a diferentes concentraciones .....	35
Cuadro 17 Promedio de halos de inhibición (mm) de <i>Staphylococcus aureus</i> como resultado de antibiograma por efecto de extractos vegetales a diferentes concentraciones .....	36

### Índice de Figuras

Figura 1 Invernadero para secado material vegetal (Unidad de Cultivo de Tejidos).....	15
Figura 2 Maceración y filtración de extractos vegetales .....	16
Figura 3 Rotoevaporador®Buchi RII .....	16

## Índice de Anexos

Anexo A Colletotrichum spp. en extracto de cortez amarillo, marañón, neem, romero y zacate limón .....	45
Anexo B Penicillium spp. en extracto de marañón, romero y zacate limón .....	46
Anexo C Fusarium spp. en extracto de marañón, neem y zacate limón .....	47
Anexo D Pestalotia spp. en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón .....	48
Anexo E Crecimiento de hongos fitopatógenos .....	49
Anexo F Erwinia spp. en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón .....	50
Anexo G Pseudomonas spp. en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón .....	51
Anexo H Ralstonia spp. en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón .....	52
Anexo I Xanthomonas spp. en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón .....	53
Anexo J Campylobacter jejuni en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón .....	54
Anexo K Clostridium perfringens en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón .....	55
Anexo L Salmonella Typhimurium en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón .....	56
Anexo M Staphylococcus aureus en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón .....	57
Anexo N Obtención de Extractos Vegetales .....	58

## Resumen

El control natural en enfermedades constituye un amplio campo de investigación y desarrollo para llevar a cabo prácticas agrícolas más sostenibles. El objetivo de esta investigación fue determinar el potencial de inhibición de extractos vegetales a diferentes concentraciones de neem, romero, marañón, zacate Limón y cortez Amarillo sobre el crecimiento *in vitro* de hongos fitopatógenos, bacterias fitopatógenas y bacterias entéricas. Se recolectó el material vegetal y prepararon los extractos vegetales a las diferentes concentraciones según los microorganismos, posteriormente se realizaron los bioensayos, en el caso de hongos se midió el crecimiento del micelio y en bacterias el halo de inhibición. Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), un análisis de varianza y separación de medias por medio de una prueba Duncan, obteniendo que los extractos vegetales mostraron mejores efectos de inhibición en las concentraciones más altas. En hongos fitopatógenos, el extracto de marañón fue el más efectivo, mientras que el extracto de zacate limón inhibió completamente el crecimiento de *Colletotrichum* spp. En bacterias fitopatógenas, el extracto de zacate limón fue el más efectivo, y *Pseudomonas* spp. fue el género más susceptible. En bacterias entéricas, el extracto de romero tuvo mayor inhibición y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538TM fue altamente susceptible a todos los tratamientos. Los mejores resultados se observaron a las 24 horas en hongos y a las 168 horas en bacterias. Estos resultados respaldan el uso de alternativas naturales en la agricultura, ofreciendo beneficios para el control de patógenos, sostenibilidad, costos y seguridad alimentaria.

*Palabras clave:* bacterias entéricas, bacterias fitopatógenas, extractos vegetales, hongos fitopatógenos.

### Abstract

Natural disease control constitutes a broad field of research and development for more sustainable agricultural practices. The objective of this research was to determine the inhibition potential of plant extracts at different concentrations of neem, rosemary, cashew, lemongrass and yellow cortex on the in vitro growth of phytopathogenic fungi, phytopathogenic bacteria and enteric bacteria. The plant material was collected, and the plant extracts were prepared at different concentrations according to the microorganisms, then the bioassays were performed, in the case of fungi the mycelial growth was measured and in bacteria the inhibition halo was measured. For the design, a completely randomized design (DCA), an analysis of variance (ANOVA) and a separation of means by means of a Duncan test were used, obtaining that the plant extracts showed better inhibition effects at the highest concentrations. In phytopathogenic fungi, cashew extract was the most effective, while lemongrass extract completely inhibited the growth of *Colletotrichum* spp. In phytopathogenic bacteria, lemongrass extract was the most effective, and *Pseudomonas* spp. was the most susceptible genus. In enteric bacteria, rosemary extract had the highest inhibition and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538TM was highly susceptible to all treatments. The best results were observed at 24 hours in fungi and at 168 hours in bacteria. These results support the use of natural alternatives in agriculture, offering benefits for pathogen control, sustainability, cost, and food safety.

*Key words:* enteric bacteria, phytopathogenic bacteria, plant extracts, phytopathogenic fungi.

## Introducción

El crecimiento exponencial de la población mundial requiere hacer uso sostenible de los recursos naturales, sobre todo cuando nos referimos a la producción. La agricultura sostenible, toma en cuenta aspectos económicos, sociales y ambientales, se compromete a garantizar la seguridad alimentaria a nivel mundial y promover la mejor gestión en el uso de los recursos (FAO 2001). La producción agrícola se ha vuelto dependiente de productos químicos, que buscan optimizar la producción. Sin embargo, para reducir la dependencia de estos productos y producir de forma estratégica, se vuelve necesario considerar alternativas más sostenibles, combatiendo enfermedades de forma biológica (Reganold et al. 1990).

La salud de las plantas se ve reflejada cuando se expresa el 100% de su potencial genético y cuando llevan a cabo sus procesos fisiológicos de manera correcta. Sin embargo, enfrentan desafíos que afectan su desarrollo, como la presencia de patógenos y las diferentes condiciones ambientales. Cuando esto sucede, sus funciones se ven interferidas y se determina que están enfermas (Agrios 2005). Durante el periodo ecológico, se ha determinado que el ambiente juega un papel crucial para la manifestación de las enfermedades (Agrios 2005). Las condiciones climáticas tienen un impacto significativo en la susceptibilidad e interacción entre las plantas y los patógenos, tomando en cuenta el medio, condiciones climáticas y edáficas (Amorim et al. 2018).

En el mercado se busca incrementar la producción y mejorar la calidad de los alimentos; una alternativa para lograrlo es el uso de extractos vegetales como fungicidas, bactericidas e insecticidas en control biológico. Estos extractos han demostrado un efecto antimicrobiano y contienen diversos compuestos bioactivos, como flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, entre otros (Hernandez et al. 2007). Los compuestos bioactivos de las plantas, son sintetizados como mecanismos de defensa, tienen propiedades que han sido evaluadas a lo largo del tiempo, siendo algunas de estos efectos antimicrobianos, antisépticos, antioxidante, entre otros (Bilal et al. 2020). Los hongos *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*, *Alternaria spp.* y *Colletotrichum spp.* pertenecen al grupo de los

ascomicetos y son responsables de una amplia gama de enfermedades en plantas (Amorim et al. 2018).

Los hongos pueden representar una pérdida incalculable de frutas y hortalizas, tanto en campo como en el almacenamiento de los productos de postcosecha (Mesa et al. 2019). Además, son capaces de producir micotoxinas, especialmente a bajas concentraciones. Un estudio previo ha determinado que los géneros *Alternaria* spp., *Colletotrichum* spp. y *Fusarium* spp., causan alteraciones en el aspecto físico, valor nutritivo y características de frutas y hortalizas debido a su metabolismo secundario (Trigos et al. 2008). Alrededor de 100 especies de bacterias ocasionan enfermedades en plantas (Agrios 2005), algunos géneros de bacterias que atacan a los cultivos son *Xanthomonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Erwinia* spp., *Agrobacterium* spp. y *Ralstonia* spp. Son organismos que se reproducen fácilmente y su principal medio de dispersión es el agua y floema de las plantas; por lo general se reproducen en ambientes con buena humedad relativa (Doehlemann et al. 2017).

Las bacterias como *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* y *Campylobacter jejuni* tienen un impacto significativo en la producción animal, salud pública, problemas sanitarios en productos de postcosecha, ya que pueden ocasionar enfermedades que interfieren en su salud, bienestar y productividad (Cortés-Higareda et al. 2021). Además, su presencia en productos de origen vegetal o animal representa un riesgo para la salud humana si estos son consumidos sin las debidas medidas de control y tratamiento (Medina-Pastor y Triacchini 2020). Existen más de 250 enfermedades ocasionadas por alimentos contaminados, en relación con el uso de extractos vegetales, diversos estudios han demostrado el uso de algunos antimicrobianos contra patógenos en la industria alimentaria (Michelena et al. 2019). Los extractos vegetales son considerados una alternativa natural a los antibióticos convencionales para la prevención de enfermedades, se busca disminuir la dependencia de productos químicos en las explotaciones agrícolas, para garantizar la seguridad alimentaria y reducir la transmisión de enfermedades en

plantas y patógenos bacterianos tanto en animales como en los productos consumidos por las personas.

Sin embargo, los extractos vegetales tienen capacidad antibacteriana y fungicida contra algunos microorganismos, su uso es algo poco común debido a las altas concentraciones que se necesitan para inhibir el desarrollo de los patógenos y el posible efecto adverso que puede llegar a generar el uso inapropiado (Posadzki 2013). Sin embargo, se ha demostrado que estos extractos pueden ayudar a controlar la acción patógena en plantas, productos hortofrutícolas, productos de origen animal y la salud de los animales.

Los metabolitos secundarios presentes en las plantas, conocidos como alelo químicos, son los compuestos encargados de la capacidad de los extractos para controlar las enfermedades, es entonces que por medio de productos a base de extractos podemos proteger los cultivos y mejorar las condiciones de los alimentos por la necesidad de estos (Chirinos et al. 2013). Las plantas medicinales han demostrado el beneficio en cuanto la remediación de enfermedades, en este caso, la mayoría son de este tipo y cuentan con algunos metabolitos secundarios como flavonoides, terpenoides, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos y derivados hidroxicinámicos como ácido carnósico, carnosol, ácido rosmárico, entre otros, que demuestran actividad biológica y múltiples beneficios (Flores et al. 2021) (Sepúlveda Jiménez et al. 2003).

Los objetivos de este estudio fueron, evaluar la actividad bactericida y fungicida del extracto vegetal de neem (*Azadirachta indica*), romero (*Salvia rosmarinus*), marañón (*Anacardium occidentale*), zacate limón (*Cymbopogon citratus*) y cortez amarillo (*Tabebuia ochracea*), a nivel *in vitro* contra hongos, bacterias fitopatógenas y bacterias entéricas; determinar el extracto vegetal con mayor potencial de inhibición y establecer la interacción entre el tratamiento, el tiempo, la concentración y patógeno; y desarrollar un protocolo de extracción para obtener la concentración al 100% de los metabolitos secundarios del material vegetal de romero, marañón, zacate limón, neem y cortez amarillo.

## **Materiales y Métodos**

### **Ubicación del Estudio**

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Química del departamento de Currículo General y en el Laboratorio de Fitopatología, Diagnóstico e Investigación Molecular del departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria, de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

### **Elaboración de Extractos Vegetales**

La presente investigación se realizó siguiendo paso a paso los métodos empleados para extraer la mayor concentración de metabolitos secundarios, siendo estos, recolección, secado, extracción, roto evaporación y evaluaciones *in vitro*.

### **Recolección y Preparación del Material Vegetal**

La recolección del material vegetal de las plantas de neem (*Azadirachta indica*), romero (*Salvia rosmarinus*), marañón (*Anacardium occidentale*), zacate limón (*Cymbopogon citratus*) y cortez amarillo (*Tabebuia ochracea*) se realizó dentro de la Escuela Agrícola Panamericana (Cuadro 1) con una altitud promedio de 780msnm, el material vegetal fue recolectado durante inicios del mes de marzo del presente año. Se seleccionó material libre de plagas o enfermedades, en el caso del neem, marañón, zacate limón y romero se utilizaron hojas; para realizar el extracto de cortez amarillo se utilizaron flores. Al recolectar el material vegetal se desinfectaron las hojas con agua por medio de enjuague para eliminar los contaminantes o desechos presentes. Cada muestra constaba de un peso de 1.5kg.

### Cuadro 1

*Material vegetal recolectado en estado de madurez fisiológica para realizar extractos vegetales,*

*Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.*

Identificación de planta	Sitio	Coordenadas
Romero; <i>Salvia rosmarinus</i>	Agricultura Orgánica	14.00905° N, 87.00437° W
Neem; <i>Azadirachta indica</i>	Estacionamiento clínica Zamorano	14.00800° N, 87.00955° W
Marañón; <i>Anacardium occidentale</i>	Sendero hacia CEPIRS	14.01157° N, 87.00774° W
Cortez Amarillo; <i>Tabebuia ochracea</i>	Frente a residencia Delgado y escuela Alison Bixby Stone School	14.00909° N, 87.01088° W
Zacate limón; <i>Cymbopogon citratus</i>	Agricultura Orgánica	14.00888° N, 87.00424° W

### Secado y Molienda de Material Vegetal

Se acondicionó un invernadero que contaba con una malla sarán de 40% sombra para evitar que el material perdiera propiedades al entrar en contacto luz directa (Figura 1), se colocaron bancales desinfectados y papel Kraft para colocar el material vegetal, luego las muestras se secaron a temperatura ambiente durante cinco días (Soto et al. 2012), se molió finamente con un molino eléctrico de cuchillas para obtener mayor área de contacto entre el material seco y el solvente (alcohol 95%), mismo principio utilizado por Fernández y González (2008)

### Figura 1

*Invernadero para secado material vegetal (Unidad de Cultivo de Tejidos)*



## Métodos de Extracción del Material Vegetal

### *Obtención del Extracto Etanólico*

Para la extracción se tomaron 50g del material vegetal molido, en un Erlenmeyer y se adicionaron 300 mL de alcohol al 95%, los cuales permanecieron en maceración durante 4 días para obtener un extracto etanólico (Benítez-Benítez et al. 2020). Luego con un embudo y papel filtro Whatman de 150 mm se filtró el contenido del Erlenmeyer a un vaso de precipitación para obtener la parte líquida del extracto y separar los sólidos (Figura 2).

**Figura 2**

*Maceración y filtración de extractos vegetales*



Con ayuda de un roto evaporador se separó el solvente de las muestras por medio de destilación (Figura 3). Obteniendo la concentración del extracto al 100%, para caracterizar los metabolitos secundarios de cada extracto se debían realizar pruebas con diferentes reactivos (Benítez-Benítez et al. 2020). Este procedimiento quedo fuera del alcance de la investigación.

**Figura 3**

*Rotoevaporador®Buchi R11 para destilación de alcohol de extracto líquido*



Al obtener los diferentes extractos vegetales se realizó una revisión de literatura para poder conocer los metabolitos secundarios que cada planta posee y como cuentan con propiedades antimicrobianas, insecticidas o antifúngicas. Es entonces que al obtener la síntesis del extracto al 100%, se evaluó la capacidad que tienen en respuesta a patógenos que atacan a las plantas, animales y humanos, ya que las plantas al estar expuestas a diferentes factores sintetizan enzimas que degradan la pared celular de microorganismos (Sepúlveda Jiménez et al. 2003).

### **Tratamientos en Base a Extractos Vegetales**

Los tratamientos utilizados fueron los extractos vegetales de neem (*Azadirachta indica*), romero (*Salvia rosmarinus*), marañón (*Anacardium occidentale*), zacate limón (*Cymbopogon citratus*) y corteza amarillo (*Tabebuia ochracea*), al obtener los extractos vegetales se realizaron las diferentes concentraciones para ser aplicadas en los bioensayos contra los patógenos, en el caso de hongos se utilizaron tres concentraciones 10mL/L; 20mL/L y 40 mL/L (extracto mL/L medio de cultivo) bajo el concepto de actividad biológica en medio PDA previo a la inoculación (Cortés-Higareda et al. 2021). Para bacterias entéricas se utilizó el extracto puro (100%) y el extracto al diluido (50%) con una relación 1:1 utilizando agua destilada estéril.

### **Aislamiento e Identificación de Hongos Fitopatógenos, Bacterias Entéricas y Bacterias**

#### **Fitopatógenas**

Las cepas utilizadas en la investigación forman parte de la colección de hongos y bacterias del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Zamorano. Las bacterias entéricas son cepas certificadas por ATCC American Type Culture Collection (Cuadro 2).

## Cuadro 2

### *Microorganismos utilizados en la investigación para uso en bioensayos con extractos vegetales*

Microorganismo	Tipo	Medio de cultivo	Proveniencia
<i>Erwinia</i> spp.	Fitopatógena	AN	Apio
<i>Ralstonia</i> spp.	Fitopatógena	AN	Tomate
<i>Xanthomonas</i> spp.	Fitopatógena	AN	Cebolla
<i>Pseudomonas</i> spp.	Fitopatógena	AN	Apio
<i>Fusarium</i> spp.	Fitopatógeno	PDA	Sandia
<i>Pestalotia</i> spp.	Fitopatógeno	PDA	Guayaba
<i>Penicillium</i> spp.	Fitopatógeno	PDA	Pino
<i>Colletotrichum</i> spp.	Fitopatógeno	PDA	Café
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC® 13124™	Entérica	CPAB	ATCC
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC® 33291™	Entérica	MH	ATCC
<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC® 14028™	Entérica	HEA	ATCC
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. ATCC® 6538™	Entérica	MSA	ATCC

Nota. abreviaturas para medios de cultivo, Agar Nutriente (AN), Potato Dextrose Agar (PDA), *Clostridium perfringens* Agar Base (CPAB),

Müller Hinton (MH), Hektoen Enteri Agar (HEA), Manitol Salt Agar (MSA).

## Observaciones Microscópicas de Microorganismos

Al obtener la activación de cada microorganismo y previo a la inoculación de los bioensayos se identificaron y observaron los microorganismos en un microscopio bajo el protocolo para la tinción de Gram en el caso de bacterias con el fin de observar la coloración purpura (Gram positivas) o rojo (Gram negativas) y tinción con azul de Lactofenol para hongos fitopatógenos, con el fin de pigmentar las estructuras fúngicas con alta nitidez y contraste que diferencian a cada uno de estos (Cuadro 3 y Cuadro 4).

## Cuadro 3

### *Características de bacterias fitopatógenas y bacterias entéricas utilizadas para los bioensayos con extractos vegetales*

Microorganismo	Forma	Gram	Condición
<i>Erwinia</i> spp.	Bastón recto	-	Aerobia facultativa
<i>Ralstonia</i> spp.	Bastón	-	Estrictamente aeróbica
<i>Xanthomonas</i> spp.	Bacilo	-	Aerobia
<i>Pseudomonas</i> spp.	Bacilo recto/curvo	-	Aerobia
<i>Clostridium perfringens</i>	Bacilo corto	+	Anaerobio/microaerófilo
<i>Campylobacter jejuni</i>	Bacilo espiral	-	Aerobia
<i>Salmonella typhimurium</i>	Bacilo	-	Anaerobia facultativa
Microorganismo	Forma	Gram	Condición

<i>Staphylococcus aureus</i>	Coco	+	Aerobia
------------------------------	------	---	---------

*Nota.* Gram negativo (-); Gram positivo (+); la forma de las bacterias fue observada en el microscopio y su tinción, en el caso de

*Staphylococcus aureus* se tiñe como Gram negativa a pesar de ser positiva.

#### Cuadro 4

*Características de hongos fitopatógenos utilizados para los bioensayos con extractos vegetales*

Microorganismo	Forma de esporas	Condición
<i>Fusarium</i> spp.	Media luna	Facultativa
<i>Pestalotia</i> spp.	Aguja	Facultativa
<i>Penicillium</i> spp.	Cilíndrica/pincel	Aerobio o anaerobio
<i>Colletotrichum</i> spp.	Semicircular	Aerobia

#### Pruebas de Antagonismo

##### ***Antagonismo de Extractos Vegetales contra Hongos Fitopatógenos***

Los hongos fueron inoculados dentro de una cámara de flujo laminar tomando explantes de 5mm x 5mm con un bisturí y colocándolos en un plato Petri con PDA, posteriormente se colocaron durante 7 días a crecer en la incubadora Thermo Scientific Horatherm IMH:180 a 28°C, se realizó la reactivación de la cepa 5 días previo a cada bioensayo con los diferentes extractos. Posteriormente se preparó medio PDA tomando en cuenta la actividad biológica del extracto sobre hongos fitopatógenos, y se llevó a cabo el mismo proceso de inoculación sobre platos Petri con las diferentes concentraciones del extracto y los diferentes hongos, para entonces incubarlos durante 24 horas a 28°C para la toma de datos.

##### ***Antagonismo de Extractos Vegetales contra Bacterias Fitopatógenas y Bacterias Entéricas***

Empleando el método de estriado se realizó la inoculación de bacterias fitopatógenas arrastrando con un asa de siembra las bacterias a lo largo del plato, se colocaron los platos dentro de la incubadora Gravity Convection a 37°C durante 24 horas. Luego se tomaron unidades formadoras de colonia (UFC) para sembrarlas en medio líquido de Luria-Bertani (LB) para BF y agua peptonada en el caso de BE en un Erlenmeyer de 50mL, los mismos fueron colocados en agitación durante 48 horas a 180 revoluciones por minuto (rpm). Pasado este tiempo las bacterias fueron sembradas empleando

el método de extensión con un hisopo estéril, se aplicaron 100µL de medio LB y agua peptonada con desarrollo bacteriano a cada plato Petri, con un sacabocado de 7mm se perforó el centro del plato Petri que contenía medio de cultivo y se aplicó 100µL del tratamiento en 2 concentraciones que fueron el extracto puro 100% y el extracto al 50%. La concentración al 50% se realizó con una relación 1:1, según la fórmula  $C_1V_1 = C_2V_2$ , siendo el solvente agua destilada estéril. Posteriormente, se incubaron a 37 °C por 48 horas para la toma de datos.

## Diseño Experimental y Análisis Estadístico

### *Diseño y Establecimiento del Experimento*

La recolección de datos para la investigación se realizó cada 24h. en el caso de hongos y cada 48hrs. para bacterias, la investigación consta de cinco tratamientos que fueron los extractos vegetales, en el caso de los testigos se emplearon tratamientos químicos para cada control (Cuadro 5), se realizaron tres repeticiones en cada unidad experimental para HF, BE y BF, teniendo un total de 24 repeticiones en bacterias con un total de 96 datos recopilados y 36 repeticiones en el caso de hongos con 144 datos. Se recopilaron en total 336 datos para cada extracto en los diferentes microorganismos y en total se obtuvieron 1680 datos sin tomar en cuenta el control y testigo. El efecto inhibitorio (inhibición en mm) equivale al potencial de cada tratamiento según la concentración, se realizó un promedio del rango de inhibición que cada uno tiene para determinar cuál es más efectivo. Posteriormente se buscó analizar la interacción que tienen los tratamientos, las horas, concentraciones y géneros sobre la inhibición.

### Cuadro 5

*Tratamientos control según el microorganismo para los bioensayos con hongos fitopatógenos, bacterias fitopatógenas y Entéricas*

Tratamiento	Microorganismo
<i>Bacillus subtilis</i> cepa QST713 SC	Hongos fitopatógenos
Tetraciclina	Bacterias fitopatógenas
Oxitetraciclina	<i>Campylobacter jejuni</i> y <i>Clostridium perfringens</i>
Amoxicilina	<i>Staphylococcus aureus</i>

Tratamiento	Microorganismo
Trimetropin sulfa	<i>Salmonella typhimurium</i>

*Nota.* Hongos Fitopatógenos (HF), Bacterias Fitopatogenas (BF)

### **Procesamiento de Datos**

El procesamiento de datos cuantitativos se realizó mediante el software estadístico InfoStat. Para el experimento se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), el análisis estadístico se realizó mediante el ajuste de modelos lineales generales con un análisis de varianza (ANOVA), posteriormente se procedió a realizar una prueba de Duncan para separación de medias. Se dividió el procesamiento de datos en hongos fitopatógenos, bacterias fitopatógenas y bacterias entéricas, tomando en cuenta que en hongos se midió el crecimiento del micelio y en bacterias el halo de inhibición.

### **Variables Evaluadas**

Durante 96 horas con ayuda de una regla se midió el radio de crecimiento del micelio (mm) y en bacterias durante 168 horas el halo de inhibición (mm), según el efecto de inhibición de los extractos y las concentraciones. en hongos a mayor inhibición, menor crecimiento del hongo. En bacterias la relación era a mayor inhibición, mayor efeto antibacteriano.

### **Evaluaciones de los Extractos Vegetales**

Se llevaron a cabo 14 evaluaciones con interacciones simples, dobles y triples de las diferentes variables al correr los datos en el programa estadístico, de las cuales no todas presentaron diferencia significativa para los microorganismos evaluados. El análisis de varianza indicó que hay diferencias altamente significativas entre las interacciones y variables, existe entonces una relación entre el comportamiento de los extractos y la inhibición del crecimiento de los patógenos.

## Resultados y Discusión

### Hongos Fitopatógenos

Los extractos de zacate limón y marañón mostraron los mejores promedios de inhibición para *Colletotrichum* spp., en el caso de zacate limón las concentraciones a 20mL/L y 40 mL/L presentaron halos de inhibición de 4.5 mm y 0 mm obteniendo mejores resultados que el control químico y testigo absoluto. Duarte et al. (2023) utilizaron extracto de pimienta por medio del método de destilación y microondas logrnado inhibir el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporoides*. Por lo tanto, el método de extracción que se emplee influye en la cantidad de metabolitos secundarios que se pueden obtener. Duarte et al. (2023) realizaron pruebas utilizando extracto de neem obteniendo un promedio de 29.25mm de inhibición, resultado similar al que se obtuvo a 10mL/L siendo 26.58mm con extracto de neem y se observó un promedio de inhibición de 19mm a 20mL/L y 15.42mm a 40 mL/L (Cuadro 6), evidenciando que es posible que la extracción por maceración y roto evaporación permitan extraer mayor concentración de metabolitos secundarios. Aunque no existe referencias científicas para comparar los resultados obtenidos en el caso de marañón, existe en el extracto la presencia de compuestos con propiedades antifúngicas y antimicrobianas, por lo tanto, se considera una línea base para continuar realizando estudios.

El zacate limón es una gramínea que puede llegar a presentar varios usos, expertos han reportado su capacidad antifúngica, antibacteriana, antiinflamatoria y antioxidante, su capacidad fungicida ha sido reportada por el uso de aceites esenciales, ocasionando un desorden en la secreción de micotoxinas (Oladeji et al. 2019). Se podría contemplar el potencial uso del zacate limón para el control de *Colletotrichum* spp. en café, ya que la antracnosis es una de las enfermedades que más afecta al cultivo y el extracto puro de zacate limón inhibió al 100% el crecimiento de este hongo (Cuadro 6).

**Cuadro 6**

*Promedio de inhibición de crecimiento micelial (mm) de Colletotrichum spp. en medio de cultivo con extractos vegetales a diferentes concentraciones*

Extracto	Concentración (mL/L)	Halo de inhibición (mm)
cortez amarillo	10	19.67f
cortez amarillo	20	18.83f
cortez amarillo	40	9.75bcde
marañón	10	12.92cdef
marañón	20	11.25bcde
marañón	40	8.5bcd
neem	10	26.58g
neem	20	19f
neem	40	15.42def
romero	10	16.92ef
romero	20	16.83ef
romero	40	7.83bc
zacate limón	10	31.92g
zacate limón	20	4.5ab
zacate limón	40	0a
<i>Bacillus subtilis</i> cepa QST713 SC	100%	13.25cdef
Testigo	100%	44.58h
P =< 0.0001		
R <sup>2</sup> = 0.65		
CV = 48.38		

*Nota.* Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) según la prueba de separación de medias Duncan, P: Probabilidad, R<sup>2</sup>: Coeficiente de determinación, CV: Coeficiente de Variación, E.E.: Error estándar.

Ocaña López (2013) demostró que el crecimiento de hongos como *Fusarium oxysporum* puede llegar a variar dependiendo de la concentración del extracto a la que estos sean sometidos a escala *in vitro*. Como se observa en los resultados de esta investigación la mayoría de los extractos retardaron el crecimiento de *Fusarium spp.*, mismo resultado obtenido por Rodríguez et al. (2000) empleando extracto de aroma amarilla, escoba amarga y salvia cimarrona, quien reportó compuestos como flavonoides, fenoles, taninos y saponinas. El extracto de marañón obtuvo promedios de inhibición de 14.17mm a 10mL/L, 12.92mm a 20mL/L y 8.75mm a 40 mL/L, el de romero 14.42mm a 10mL/L, 12.75mm a 20mL/L y 7.08mm a 40 mL/L; presentando la mayor actividad antifúngica, Martínez Y et al. (2012) reportaron que el extracto de marañón posee metabolitos secundarios como cumarinas, saponinas, flavonoides, triterpenos/esteroides, entre otros, estos metabolitos son también conocidos

por sus propiedades antifúngicas, en especial las cumarinas y flavonoides que también han sido encontrados en géneros como *Doronicum*, *Cineraria*, *Emilia* y *Jacoea* (García Contreras [updated 2020]). En el cuadro 7 se observa que existe diferencia significativa entre los tratamientos, el extracto de neem presentó menor rango de inhibición y fue mejor que el testigo absoluto, lo cual concuerda con lo observado por Chávez y Aquino (2012) al utilizar extracto de ortiga, ellas presentaron crecimiento de micelio desde 57.6mm a 63.61mm a 3mL/L no inhibiendo el crecimiento del hongo, contraposición a los resultados obtenidos dentro de este estudio, que puede deberse a la forma de extracción, siendo extractos acuosos. Quintana et al. (2018) mencionan que el alcohol como solvente libera mayor cantidad de fitoquímicos mejorando la eficacia del extracto.

### Cuadro 7

*Promedio de inhibición de crecimiento micelial (mm) de Fusarium spp. en medio de cultivo con extractos vegetales a diferentes concentraciones*

Extracto	Concentración (mL/L)	Halo de inhibición (mm)
cortez amarillo	10	20.08de
cortez amarillo	20	18.25cde
cortez amarillo	40	10.67abc
marañón	10	14.17abcd
marañón	20	12.92abcd
marañón	40	8.75ab
neem	10	23.17e
neem	20	20.42de
neem	40	17.42cde
romero	10	14.42abcd
romero	20	12.75abcd
romero	40	7.08a
zacate limón	10	19.5de
zacate limón	20	15.83bcde
zacate limón	40	11.25abc
<i>Bacillus subtilis</i> cepa QST713 SC	100%	16.17bcde
Testigo	100%	40.58f

P =< 0.0001

R<sup>2</sup> = 0.47

CV = 48.44

Nota. Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) según la prueba de separación de medias Duncan, P: Probabilidad, R<sup>2</sup>:

Coficiente de determinación, CV: Coeficiente de Variación, E.E.: Error estándar.

En el cuadro 8 se observa que el extracto de romero presentó promedios de inhibición de 13.33mm a 10mL/L, 12.48mm a 20mL/L y 8.17mm a 40 mL/L, el extracto de marañón fue el mejor con promedios de inhibición de 12.83mm a 10mL/L, 12.17mm a 20mL/L y 9.5mm a 40 mL/L, el análisis de varianza evidenció diferencia significativa ( $P < 0.001$ ), estos resultados pueden considerarse similares, al compararlos con el estudio de Moreno et al. (2011) quienes evaluaron el efecto de extractos de gobernadora en *Penicillium* spp., presentando promedios de inhibición de 38.33mm en PDA, 20.33mm correspondientes al control con metanol, también presentaron inhibición de 11mm y 1.66mm utilizando una concentración de 100mg/mL con diferentes solventes para obtener el extracto de dicha planta. En el estudio de (Fernández y González 2008) el extracto foliar de neem presentó resultados poco favorables contra *Penicillium* spp., a pesar de varios estudios para evaluar la actividad de los metabolitos secundarios, la posibilidad de encontrar compuestos activos en esta planta es baja. Una de las limitantes para realizar el extracto de neem en esta investigación fue la época de fructificación del árbol, por lo tanto, se realizó del área foliar de la planta, siendo esto un factor que pudo afectar en el porcentaje de inhibición para todos los microorganismos. Se ha reportado estudios de fungicidas sintéticos de extractos acuosos de semilla de neem (*Azadirachta indica*) y hierba de limón (*Cymbopogon proxims*) donde los extractos acuosos presentaron eficiencia mayor al 60%, siendo el extracto de neem el más efectivo.

### Cuadro 8

*Promedio de inhibición de crecimiento micelial (mm) de Penicillium spp. en medio de cultivo con extractos vegetales a diferentes concentraciones*

Extracto	Concentración (mL/L)	Halo de inhibición (mm)
cortez amarillo	10	17.67de
cortez amarillo	20	16.08cde
cortez amarillo	40	8.92ab
marañón	10	12.83abcd
marañón	20	12.17abcd
marañón	40	9.5ab
neem	10	19.83e
neem	20	15.42bcde

Extracto	Concentración (mL/L)	Halo de inhibición (mm)
neem	40	13e
romero	10	13.33bcde
romero	20	12.58abcd
romero	40	8.17a
zacate limón	10	18.25de
zacate limón	20	14.92bcde
zacate limón	40	10.17abc
<i>Bacillus subtilis</i> cepa QST713 SC	100%	12.83abcd
Testigo	100%	31.5f

P =< 0.0001

R<sup>2</sup> = 0.40

CV = 46.67

Nota. Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) según la prueba de separación de medias Duncan, P: Probabilidad, R<sup>2</sup>:

Coefficiente de determinación, CV: Coeficiente de Variación, E.E.: Error estándar.

*Pestalotia* spp. fue el género más susceptible a todos los tratamientos. El efecto que posee el romero para inhibir el crecimiento de hongos ha sido reportado a concentraciones de 250 a 2000 ppm no presentando inhibición en un estudio realizado por Peñuelas-Rubio et al. (2015), mientras que en este estudio se utilizaron concentraciones de 5,000 a 20,000 ppm y se observó un excelente promedio de inhibición en todos los hongos evaluados en comparación del testigo absoluto. Como se observa en el cuadro 9, las medias presentaron diferencia significativa, cortez amarillo presento un promedio de inhibición de 15.58mm a 10mL/L, 13mm a 20mL/L y 5.92mm a 40 mL/L, seguido del extracto de neem con promedios de 13.75mm a 10mL/L , 11.58mm a 20mL/L y 9.33mm a 40 mL/L, los mejores resultados fueron del extracto de zacate limón manteniendo un promedio de inhibición para todas las concentraciones de 12.42mm a una concentración de 10mL/L, 11mm a 20mL/L y de 8mm a 40 mL/L, todos mejores resultados que los del control químico 15.42mm y el testigo 32.5mm resultados similares a los obtenidos por González et al. (2020) evaluando 23 extractos vegetales bajo dos métodos de extracción, obteniendo promedios de inhibición de 7.6mm, 13.67mm y 12.67mm con extractos alcohólicos.

**Cuadro 9**

*Promedio de inhibición de crecimiento micelial (mm) de Pestalotia spp. en medio de cultivo con extractos vegetales a diferentes concentraciones*

Extracto	Concentración (mL/L)	Halo de inhibición (mm)
cortez amarillo	10	15.58e
cortez amarillo	20	13cde
cortez amarillo	40	5.92a
marañón	10	14.83e
marañón	20	13cde
marañón	40	8.92abcd
neem	10	13.75de
neem	20	11.58cde
neem	40	9.33abcd
romero	10	16e
romero	20	15.83e
romero	40	6.42ab
zacate limón	10	12.42cde
zacate limón	20	11bcde
zacate limón	40	8abc
<i>Bacillus subtilis</i> cepa QST713 SC	100%	15.42e
Testigo	100%	32.5f

P =< 0.0001  
R<sup>2</sup> = 0.55  
CV = 41.81

*Nota.* Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) según la prueba de separación de medias Duncan, P: Probabilidad, R<sup>2</sup>:

Coficiente de determinación, CV: Coeficiente de Variación, E.E.: Error estándar.

Al igual que el marañón, el zacate limón cuenta con metabolitos secundarios como Saponinas, alcaloides, cumarinas, flavonoides, triterpenos, antraquinonas, que fueron reportados por Vélez R et al. (2018). Conforme a ello, según Villa-Martínez et al. (2014) estos metabolitos tienen un papel crucial en la vida y supervivencia de la planta con el entorno. Plantas de la familia Lamiaceae como lo es el romero (*Rosmarinus officinalis*) permiten no únicamente realizar extractos, también aceites esenciales, que cuentan con metabolitos como polifenoles, cumarinas, quinonas, di terpenoides, triterpenoides, entre otros (Flores-Villa et al. 2021). Widmer y Laurent (2006) reportaron que el extracto de romero inhibe la germinación de Zoosporas, en el que los patógenos expuestos a las concentraciones más altas no presentaron crecimiento del micelio, las concentraciones bajas sí. Varios estudios a lo largo del tiempo han demostrado el potencial que poseen los extractos vegetales para

inhibir el crecimiento de algunos hongos fitopatógenos, la eficiencia de estos extractos se ve influenciada por la especie de hongo con el que se realicen los bioensayos.

### **Bacterias Fitopatógenas**

En el estudio realizado por Briceño et al. (2011) se observó que el extracto de neem en una concentración al 30% presentó efecto inhibitorio de la bacteria *Erwinia* spp., el autor empleó la misma metodología para extraer los compuestos de la planta, similar a los resultados que se observan en el cuadro 10, con un promedio de inhibición por parte del extracto de neem de 5.58mm al 50% y 6.83mm en una concentración al 100%. (Briceño et al. (2011) mencionan dentro de su investigación que las partes de las plantas que fueron seleccionadas no tienen actividad para bacterias de género *Erwinia*, por lo tanto, se recomienda utilizar semillas en el caso de neem ya que puede presentar mayor actividad biológica. El neem *A. indica* posee metabolitos como polifenoles, flavonoides y taninos, también se le atribuyen propiedades anti mutagénica, anticarcinogénica y antimicrobiana (Lores et al. 2014), a diferencia del romero, marañón y zacate limón el neem no posee cumarina. Los mejores resultados los presento el extracto de zacate limón que obtuvo un promedio de inhibición de 15mm en una concentración al 100%, mayor al control químico, el extracto de romero también presento excelentes resultados inhibiendo en ambas concentraciones 13.42mm y 13.25 mm. Contraposición a los resultados obtenidos por Sánchez et al. (2009) al utilizar extracto de mangle agua bola con 3 diferentes solventes logrando inhibir el desarrollo de *Erwinia carotovora* 31mm utilizando agua, cloroformo y heptano como solventes para obtener el extracto. De los bioensayos realizados con bacterias fitopatógenas, fue *Erwinia* spp., quien obtuvo menores promedios de inhibición para todos los extractos.

**Cuadro 10**

*Promedio de halos de inhibición (mm) de Erwinia spp. como resultado de antibiograma por efecto de extractos vegetales a diferentes concentraciones*

Extracto	Concentración (%)	Halo de inhibición (mm)
cortez amarillo	50	6.75bc
cortez amarillo	100	8.92b
marañón	50	0e
marañón	100	0e
neem	50	5.58c
neem	100	6.83bc
romero	50	13.42a
romero	100	13.25a
zacate limón	50	2.33d
zacate limón	100	15a
tetraciclina	100	14.83a

P = < 0.0001

R<sup>2</sup> = 0.80

CV = 33.88

*Nota.* Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) según la prueba de separación de medias Duncan, P: Probabilidad, R<sup>2</sup>:

Coficiente de determinación, CV: Coeficiente de Variación, E.E.: Error estándar.

*Pseudomonas* spp. es una bacteria que puede llegar a ser de gran daño para cultivos como lo es el tomate, la actividad antimicrobiana que posee un extracto no puede llegar a ser atribuida a un solo mecanismo de acción, pero, los terpenos pueden dañar la membrana celular de las bacterias debido a su propiedad lipofílica como menciona Pérez-Pérez et al. (2020). *Pseudomonas* spp. dentro de la investigación presentó susceptibilidad a todos los extractos vegetales en ambas concentraciones, sin embargo, se observaron colonias en varias unidades experimentales, tomando en cuenta que pudo deberse a contaminación cruzada con alguna bacteria presente en el ambiente. En el cuadro 11 se observa el potencial inhibitorio del extracto de neem con un promedio de inhibición de 20.25mm en una concentración al 100%, el extracto de marañón inhibió 14.67mm al 50% y 20.25mm con el extracto al 100% obteniendo los mejores resultados. Vanegas Arevalo (2020) realizó 48 extractos etanólicos de diferentes partes de plantas de *Piper* obteniendo halos de inhibición de entre 10mm hasta 14mm, similares a los resultados obtenidos para el extracto de zacate limón, romero y cortez amarillo. En cuanto al cortez amarillo (*Tabebuia ochracea*) se considera este estudio como una línea

base para continuar investigaciones, tomando en cuenta la accesibilidad que se tiene dentro de las instalaciones de la universidad y que puede también ser realizado extracto de sus flores, corteza y hojas.

### Cuadro 11

*Promedio de halos de inhibición (mm) de Pseudomonas spp. como resultado de antibiograma por efecto de extractos vegetales a diferentes concentraciones*

Extracto	Concentración (%)	Halo de inhibición (mm)
cortez amarillo	50	14.42c
cortez amarillo	100	18.42bc
marañón	50	14.67c
marañón	100	21.25ab
neem	50	17.75bc
neem	100	20.25b
romero	50	6.33d
romero	100	17.17bc
zacate limón	50	9.17d
zacate limón	100	14.5c
tetraciclina	100	25a
P = < 0.0001		
R <sup>2</sup> = 0.50		
CV = 32.75		

Nota. Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) según la prueba de separación de medias Duncan, P: Probabilidad, R<sup>2</sup>:

Coefficiente de determinación, CV: Coeficiente de Variación, E.E.: Error estándar.

Como se puede observar en el cuadro 12, el extracto de neem, zacate limón y cortez amarillo presentaron los mejores rangos de inhibición. En el caso de neem se presentaron halos de inhibición de 17.42mm al 50% y 22.83mm en la concentración al 100%, siendo estos los mejores resultados para *Ralstonia* spp., zacate limón inhibió 18.25mm al 50% y 20.08mm al 100% de las respectivas concentraciones. Quintana et al. (2018) realizaron pruebas para el control de *Ralstonia solanacearum* Smith utilizando concentraciones de extracto de guayaba, tártago y cundeamor al 1%, 5%, 10% y 15%, reportando metabolitos secundarios como alcaloides, saponinas, taninos y flavonoides, que han sido reportados en las plantas utilizadas en esta investigación. Quintana también evaluó extracto de romero y neem y presento que los extractos acuosos de estas plantas presentaron un efecto bactericida promedio, considerando esto, se puede apoyar la teoría de la capacidad bactericida de los

extractos por sus metabolitos secundarios, como se observó en los resultados de Mejía Lotero et al. (2016) quien utilizó un extracto fermentado de plantas que clasificó como “olorosas, picantes, amargas, vigorizantes y babosas”, que presentaron porcentajes de inhibición entre 40.66% y 62.64% para *Ralstonia solanacearum*. La inhibición que se reportó por los extractos de romero, marañón y corteza amarilla se pueden comparar con los obtenidos por Soto Rueda et al. (2018) al utilizar extracto de *Tagetes patula* L. contra la cepa de *Ralstonia solanacearum* raza 2, obteniendo halos de inhibición desde 10mm hasta 16mm en la concentración al 100%.

### Cuadro 12

*Promedio de halos de inhibición (mm) de Ralstonia spp. como resultado de antibiograma por efecto de extractos vegetales a diferentes concentraciones*

Extracto	Concentración (%)	Halo de inhibición (mm)
corteza amarilla	50	10.67d
corteza amarilla	100	16.83bcd
marañón	50	11.5cd
marañón	100	14.25bcd
neem	50	17.42bcd
neem	100	24.83a
romero	50	13.17bcd
romero	100	15bcd
zacate limón	50	18.25bc
zacate limón	100	20.08ab
tetraciclina	100	14.42bcd
P = < 0.0001		
R <sup>2</sup> = 0.15		
CV = 35.71		

*Nota.* Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) según la prueba de separación de medias Duncan, P: Probabilidad, R<sup>2</sup>:

Coefficiente de determinación, CV: Coeficiente de Variación, E.E.: Error estándar.

Los resultados obtenidos para *Xanthomonas* spp. se pueden observar en el cuadro 13, siendo el extracto de zacate limón el más eficiente al inhibir en promedio 18.25mm en una concentración al 100%, en el estudio de Chirinos et al. (2013) evaluaron el potencial de 16 extractos vegetales en el control de *Xanthomonas* spp. entre ellos el extracto de saúco, pino y níspero que cuentan con metabolitos secundarios en común a los de romero, zacate limón y marañón, siendo algunos de estos alcaloides, flavonoides, saponinas y taninos (Sáenz-Esqueda, María de los Ángeles et al. 2010), mismo

resultado obtenido en la investigación de Rizo Peña y M. F. (2015) al evaluar 3 extractos en 14 cepas de *Xanthomonas* spp. obteniendo halos de inhibición de entre 17mm a 21mm en una concentración al 12.5% de cada extracto. Con respecto a la sensibilidad que tienen las bacterias ante compuestos de origen natural puede variar dependiendo de múltiples factores, puede ser explicado por mecanismos de daño a la membrana celular bacteriana debido al incrementó de permeabilidad y afección a la estructura (Castaño et al. 2010).

### Cuadro 13

*Promedio de halos de inhibición (mm) de Xanthomonas spp. como resultado de antibiograma por efecto de extractos vegetales a diferentes concentraciones*

Extracto	Concentración (%)	Halo de inhibición (mm)
cortez amarillo	50	14.67bc
cortez amarillo	100	10.58d
marañón	50	10d
marañón	100	5.67e
neem	50	6e
neem	100	4.92e
romero	50	11.75cd
romero	100	10.42d
zacate limón	50	18.25a
zacate limón	100	10.42d
tetraciclina	100	17ab
P = < 0.0001		
R <sup>2</sup> = 0.54		
CV = 34.47		

*Nota.* Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) según la prueba de separación de medias Duncan, P: Probabilidad, R<sup>2</sup>:

Coefficiente de determinación, CV: Coeficiente de Variación, E.E.: Error estándar.

### Bacterias Entéricas

La enterobacteria *Campylobacter jejuni* fue la menos susceptible a los extractos vegetales, Samol Juárez y Santizo Paz (2011) realizaron pruebas con 12 especies vegetales y obtuvieron un promedio de inhibición de 6mm a 10mm con los extractos al 100%, resultados similares a los obtenidos por el extracto de cortez amarillo y marañón, una explicación , es que muchas bacterias se adaptan a las condiciones ambientales a las que fueron expuestas, por lo tanto generan resistencia y

toleran altas concentraciones de compuestos o sustancias, existe la posibilidad de que estas modifiquen la membrana externa de la envoltura celular y remuevan los compuestos tóxicos que las afectan Samol Juárez y Santizo Paz (2011). Se ha reportado el uso de extracto de subproducto de vinificación para mitigar la incidencia de *Campylobacter jejuni*, probando que cuentan con una composición fenólica que le otorga las condiciones al extracto para inhibir el crecimiento de los patógenos (Cuadro 14) (Silván y Martínez 2019).

#### Cuadro 14

*Promedio de halos de inhibición (mm) de Campylobacter jejuni como resultado de antibiograma por efecto de extractos vegetales a diferentes concentraciones*

Extracto	Concentración (%)	Halo de inhibición (mm)
cortez amarillo	50	8 c
cortez amarillo	100	9.58 c
marañón	50	8.33 c
marañón	100	14 b
neem	50	0 e
neem	100	3.92 d
romero	50	4.5 d
romero	100	12 b
zacate limón	50	0 e
zacate limón	100	5.67 d
exitetraciclina	100	38.58 a
P = < 0.0001		
R <sup>2</sup> = 0.93		
CV = 30.07		

Nota. Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) según la prueba de separación de medias Duncan, P: Probabilidad, R<sup>2</sup>:

Coficiente de determinación, CV: Coeficiente de Variación, E.E.: Error estándar.

En el caso de *Clostridium perfringens* los extractos obtuvieron excelentes promedios de inhibición en relación al control con exitetraciclina, los mejores resultados para la inhibición fueron obtenidos en la concentración al 100% para el extracto de Marañón con una inhibición de 29.92mm, romero con 18.08mm al 50%, 28.33mm al 100% y zacate limón inhibió 27.08mm al 100% (Cuadro 15), resultados similares fueron obtenidos por Sanchez (1997) al utilizar 10 extractos y determinar que la concentración mínima inhibitoria CMI influye en la inhibición del crecimiento de las bacteria y la formación de esporas. Castaño et al. (2010) dentro del estudio también mencionan que el romero

molido tiene un efecto inhibitorio sobre *Clostridium* spp. ya que el extracto de romero cuenta con compuestos activos que han sido previamente mencionados por su actividad antimicrobiana sobre bacterias causantes de contaminación en alimentos y producción animal, pueden ser utilizados para conservar alimentos, evitando el riesgo toxicológico que estas generan.

### Cuadro 15

*Promedio de halos de inhibición (mm) de Clostridium perfringens como resultado de antibiograma por efecto de extractos vegetales a diferentes concentraciones*

Extracto	Concentración (%)	Halo de inhibición (mm)
cortez amarillo	50	11.25f
cortez amarillo	100	17.83de
marañón	50	3.25g
marañón	100	29.92a
neem	50	13.5bc
neem	100	23.08bc
romero	50	18.08de
romero	100	28.33a
zacate limón	50	14.75def
zacate limón	100	27.08ab
exitetraciclina	100	19.25cd
P = < 0.0001		
R <sup>2</sup> = 0.66		
CV = 30.84		

Nota. Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) según la prueba de separación de medias Duncan, P: Probabilidad, R<sup>2</sup>:

Coefficiente de determinación, CV: Coeficiente de Variación, E.E.: Error estándar.

Con la concentración al 100% el extracto de romero obtuvo un promedio de inhibición de 16.5mm y cortez amarillo 14.17mm (Cuadro 16) resultados similares a los que se obtuvieron por García Rico y Herrera Arias (2007) que evaluaron la capacidad de varios extractos vegetales contra 5 cepas bacterianas. Se encontró que el extracto de ajo posee metabolitos como alcaloides, fenoles, saponinas, terpenoides y taninos, observando un halo de inhibición de 13mm para *Salmonella* spp., Se observa el efecto del extracto de neem con un promedio de inhibición de 24.92mm contra *Salmonella Typhimurium*, en la concentración al 100% (Cuadro 16), siendo este el extracto con mayor potencial ante este patógeno, Luna y González (2008) evaluaron la actividad de especies de *Annona*

obteniendo halos de inhibición de 14mm y Mukhlesur Rahman et al. (2005) determinaron la actividad de extractos de semillas de *A. squamosa* con halos de 13mm a 20mm y halos de 14mm a 25mm con *Klebsiella* spp. Aunque no todos los resultados fueron los esperados en bacterias entéricas, se considera que pueden ser utilizados en la crianza de animales como antibióticos o aditivo a través de la alimentación, suplementos o agua. Esto dependerá del tipo de explotación agrícola y tamaño de los animales con los que se esté trabajando, siendo una alternativa de bajo costo que permite la prevención de enfermedades.

### Cuadro 16

*Promedio de halos de inhibición (mm) de Salmonella Typhimurium como resultado de antibiograma por efecto de extractos vegetales a diferentes concentraciones*

Extracto	Concentración (%)	Halo de inhibición (mm)
cortez amarillo	50	8.17e
cortez amarillo	100	14.17d
marañón	50	9.33e
marañón	100	20.75bc
neem	50	19.5cd
neem	100	24.92b
romero	50	16.5cd
romero	100	18.75cd
zacate limón	50	17.17cd
zacate limón	100	17.17cd
trimetoprim sulfa	4	32.33a

P = < 0.0001

R<sup>2</sup> = 0.55

CV = 33.39

*Nota.* Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) según la prueba de separación de medias Duncan, P: Probabilidad, R<sup>2</sup>:

Coficiente de determinación, CV: Coeficiente de Variación, E.E.: Error estándar.

El extracto de romero durante este estudio presentó los mejores resultados contra bacterias entéricas (Cuadro 17), Castaño et al. (2010) menciona dentro de su investigación como las bacterias Gram positivas presentan mayor sensibilidad que las Gram negativas, también reportaron un halo de inhibición de 17mm con aceite esencial de romero para *Staphylococcus aureus*. El romero también ha sido reportado presentando halos de inhibición de 11.93mm en *Streptococcus mutans*, su

concentración al 80% presento halos de inhibición de 10.90mm en la investigación de Montero et al. (2017) y en este estudio presento halos de inhibición de 34.17mm con una concentración al 100%. En la producción agrícola esta bacteria puede generar problemas significativos, como la mastitis bovina, afectando la calidad de la leche (Leal 2014). En un estudio realizado por Leal se investigaron extractos de Salvia que cuenta con terpenoides y flavonoides, tomillo que contiene compuestos fenólicos y también caléndula que cuenta con triterpenos, flavonoides, taninos y compuestos fenólicos. En el caso de romero se observó la mayor inhibición y para los demás extractos se obtuvieron porcentajes similares a los de Leal, siendo estos de 40% y 20%. Navarrete Barragán et al. (2020) determinaron que *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 presentó sensibilidad extractos vegetales, que cuentan con metabolitos secundarios también reportados en los extractos de este estudio, lo que nos indica que en el caso de bacterias entéricas Gram positivo evidentemente son más susceptibles, *Staphylococcus aureus* fue la enterobacteria más susceptible a todos los extractos y se considera que a pesar de que se presente diferencia altamente significativa contra el control químico, los extractos evidencia su capacidad para retardar el desarrollo de los diversos patógenos. Este factor puede verse afectado debido a la permeabilidad y diferencia en la estructura, el porcentaje de inhibición reportado en su estudio fue de 56.1%.

### **Cuadro 17**

*Promedio de halos de inhibición (mm) de Staphylococcus aureus como resultado de antibiograma por efecto de extractos vegetales a diferentes concentraciones*

Extracto	Concentración (%)	Halo de inhibición (mm)
cortez amarillo	50	12.17g
cortez amarillo	100	17.42f
marañón	50	25.25de
marañón	100	28.17cd
neem	50	19.83f
neem	100	23.58e
romero	50	28.67c
romero	100	34.17b
zacate limón	50	12.42g
zacate limón	100	23.08e

Extracto	Concentración (%)	Halo de inhibición (mm)
amoxicilina	100	43.58a

P = < 0.0001  
R<sup>2</sup> = 0.85  
CV = 15.88

*Nota.* Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) según la prueba de separación de medias Duncan, P: Probabilidad, R<sup>2</sup>:

Coefficiente de determinación, CV: Coeficiente de Variación, E.E.: Error estándar.

### Conclusiones

La evaluación de la actividad fungicida y bactericida de los diferentes extractos vegetales, *in vitro*, proporcionó información sobre el potencial como un agente de control natural contra hongos, bacterias fitopatógenas y bacterias entéricas.

Las concentraciones más altas demostraron mejor inhibición, en hongos el extracto vegetal con mayor potencial de inhibición fue el de marañón y zacate limón, en bacterias fitopatógenas el extracto de zacate limón y en bacterias entéricas el extracto de romero.

Por medio del protocolo que se estableció se logró obtener extractos en una concentración al 100%, demostrar la eficiencia y potencial de cortez amarillo, romero, marañón, neem y zacate limón

### Recomendaciones

Realizar pruebas *in vitro* con extractos de las diferentes partes de las plantas y evaluar la capacidad de los extractos bajo otro protocolo de extracción con diferentes solventes.

Realizar pruebas *in vivo* con los diferentes extractos que presentaron mayor promedio de inhibición para cada patógeno, en el caso de los microorganismos fitopatógenos a nivel de invernadero o postcosecha

Realizar pruebas *in vivo* con los diferentes extractos para bacterias entéricas en monogástricos como aves, cerdos o peces, a nivel de postcosecha y como aditivo en plantas de procesamiento.

## Referencias

- Agrios GN, editor. 2005. Plant Pathology. 5ª ed. [sin lugar]: Elsevier Academic Press. 819 p. (Plant Pathology). ISBN: 0-12-044565-4.
- Amorim L, Rezende J, Bergamin Filho A, editores. 2018. Manual de Fitopatología. Brasil: Editora Agronomica Ceres Ltda. (vol. 5). ISBN: 978-85-318-0056-6. port.
- Benítez-Benítez R, Sarria-Villa RA, Gallo-Corredor JA, Pérez Pacheco NO, Álvarez Sandoval JH, Giraldo Aristizabal CI. 2020. Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. Revista Facultad de Ciencias Básicas. 15(1):31–40. doi:10.18359/rfcb.3597.
- Bilal M, Zighmi S, Hamada D, Mahcene Z, Bencheikg S, Ladjel S. 2020. Biological activities of essential oils extracted from *Thymus capitatus* (Lamiaceae). South African Journal of Botany. 128:274–282. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629919314073>. doi:10.1016/j.sajb.2019.11.020.
- Briceño G, Garcia J, Maselli A, Rosales L. 2011. Efecto de Extractos Etanólicos de Ruda y Neem sobre el Control de Bacterias Fitopatógenas del género *Erwinia*. Agronomía Trop; [consultado el 20 de jul. de 2023]. 61:141–148. es. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0002-192X2011000200005](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2011000200005).
- Castaño H, Ciro G, Zapata M JE, Jiménez R SL. 2010. Actividad Bactericida del Extracto Etanólico y del Aceite Escencial de Hojas de *Rosmarinus officinalis* L. sobre Algunas Bacterias de Interes Alimentario. Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal; [consultado el 20 de jul. de 2023]. 17(2).
- Chavez A, Aquino S. 2012. Control de los hongos del suelo *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Sclerotium* sp. con extractos vegetales. Investigación Agraria; [consultado el 22 de jul. de 2023]. 14(1). [http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2305-06832012000100003&lang=es](http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2305-06832012000100003&lang=es).
- Chirinos J, Olivares B, Guevara E. 2013. Efectividad Biológica de Extractos Vegetales en el Control *In Vitro* de la Bacteria Fitopatógena *Xanthomona*. Multiciencias; [consultado el 20 de jul. de 2023]. 13(115-121). <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.redalyc.org/pdf/904/90428841002.pdf>.
- Cortés-Higareda M, Bautista-Baños S, Ventura-Aguilar RI, Landa-Salgado P, Hernández-López Mónica. 2021. Bacterias patógenas de los alimentos agrícolas frescos y mínimamente procesados. Estado actual en el control del género *salmonella*. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha; [consultado el 20 de jul. de 2023]. 22(1). es. <https://www.redalyc.org/journal/813/81367929003/html/https://www.redalyc.org/journal/813/81367929003/html/>.
- Doehlemann G, Ökmen B, Zhu W, Sharon A. 2017. Plant Pathogenic Fungi. Microbiol Spectr. 5(1). eng. doi:10.1128/microbiolspec.FUNK-0023-2016.
- Duarte T, Ramírez S, López O. 2023. Extractos Vegetales Para el Control *In vitro* de *Colletotrichum Gloeosporioides* P. aislado de Carica Papaya L. México: Universidad Autónoma de Chiapas. México.
- FAO, editor. 2001. El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Italia: Dirección de Información de la FAO. 314 p. ISBN: 92-5-304600-7. esp.
- Fernández DM, González CJ. 2008. Evaluación *in Vitro* de la Actividad Antigúngica del Extracto Foliar del Árbol *Azadirachta indica* contra algunos Hongos Fitopatógenos. Bogota, Colombia: Pontificia

- Universidad Javeriana. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8223/tesis218.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- Flores E, Sáenz A, Castañeda A, Narro RII. 2021. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. Revista especializada en ciencias químico-biológicas. 23. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-888X202000100212](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X202000100212). doi:10.22201/fesz.23958723e.2020.0.266.
- García Contreras MP. [actualizado 2020]. Metabolitos secundarios con actividad antifúngica en la tribu Senecioneae (Repositorio). Colombia: Pontificia Universidad Javeriana. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/50458/Metabolitos%20secundarios%20con%20actividad%20antifu%cc%81ngica%20en%20la%20tribu%20Senecioneae%20%28Repositorio%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- García Rico R, Herrera Arias FC. 2007. Evaluación de la inhibición del crecimiento de cinco cepas bacterianas patógenas por extractos acuosos de *Allium sativum*, *Allium fistulosum* y *Allium* cepa: estudio preliminar *in vitro*. Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. 5(2). chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.redalyc.org/pdf/903/90350207.pdf.
- González E, Silos H, Perales C, Padilla J, López I, Acosta E. 2020. Control of guava cloves with plant extracts. Revista Mexicana Ciencias Agrícolas; [consultado el 22 de jul. de 2023]. 11(2). chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v11n2/2007-0934-remexca-11-02-365-en.pdf.
- Hernandez A, Bautista S, Velásquez M. 2007. Prospectiva de extractos para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. Revista Fitotec. Mexico; [consultado el 20 de jul. de 2023]. 30(2). chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.redalyc.org/pdf/610/61030202.pdf.
- Leal M. 2014. Eficacia antibacteriana de extractos de plantas: aplicación clínica en mastitis bovina. Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica; [consultado el 20 de jul. de 2023]. 17(1). es. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-42262014000100020](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262014000100020).
- Lores OF, Berenguer Rivas C, de la Vega Acosta, Jorge, Wawoe Díaz N, Puente Zapata E. 2014. Potencial antioxidante de un extracto acuoso de hojas del NIM (*Azadirachta Indica* A. Juss). Revista Cubana de Plantas Medicinales; [consultado el 20 de jul. de 2023]. 19. Español. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962014000200009](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000200009).
- Luna L, González A. 2008. Actividad antibacteriana de extractos de *Annona Diversifolia* Safford y *Annona Purpurea* Mociño. polibotanica; [consultado el 23 de jul. de 2023]. (25):121–125. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.scielo.org.mx/pdf/polib/n25/n25a9.pdf.
- Martínez Y, Soto F, Almeida M, Hermosilla R, Martínez O. 2012. Secondary metabolites and *in vitro* antibacterial activity of extracts from *Anacardium occidentale* L. (Cashew tree) leaves. Revista Cubana de Plantas Medicinales; [consultado el 20 de jul. de 2023]. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962012000400004&script=sci\\_abstract&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962012000400004&script=sci_abstract&tlng=en).

- Medina-Pastor P, Triacchini G. 2020. The 2018 European Union report on pesticide residues in food. EFSA Journal. 18(4):e06057. en. doi:10.2903/j.efsa.2020.6057.
- Mejía Lotero F, Melo Sabogal D, Ordoñez Novoa P. 2016. Evaluación *In-Vitro* Del Extracto Fermentado De Plantas En La Inhibición Del Crecimiento De *Ralstonia Solanacearum*, Causante De Moko En Plátano. ProQuest; [consultado el 20 de jul. de 2023]. 23:673–677. <https://www.proquest.com/docview/1783660521>.
- Mesa, P. Marín, O. Ocampo, J. Calle, Z. Monsalve. 2019. Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias; [consultado el 20 de jul. de 2023]. 45(1):23–30. <https://www.redalyc.org/journal/864/86458941001/html/>.
- Michelena S, Rodríguez Herrera R, Flores Gallegos A, Chávez Gonzalez M, RamosGonzález R, Segura Ceniceros E, Iliña A. 2019. Alternativas para el control de bacterias transmitidas por alimentos. México: Universidad Autónoma de Coahuila; [consultado el 18 de jul. de 2023]. <http://www.cienciacierta.uadec.mx/2019/01/10/alternativas-para-el-control-de-bacterias-transmitidas-por-alimentos/>.
- Montero M, Martínez J, Avilés D, Valle E, Pazmiño NDP. 2017. Efecto antimicrobiano del extracto crudo oleoso de *Rosmarinus Officinalis* sobre cepa de *Escherichia coli*. Journal of the Selva Andina Biosphere; [consultado el 20 de jul. de 2023]. 5. Español. [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2308-38592017000200012](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2308-38592017000200012).
- Moreno S, González LN, Salcedo SM, Cárdenas ML, Perales A. 2011. Efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* L.) sobre la inhibición *in vitro* de *Aspergillus flavus* y *Penicillium* sp. polibotanica; [consultado el 22 de jul. de 2023]. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-27682011000200012](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682011000200012).
- Mukhlesur Rahman M, Parvin S, Ekramul Haque M, Ekramul Islam M, Mosaddik MA. 2005. Antimicrobial and cytotoxic constituents from the seeds of *Annona squamosa*. Fitoterapia. 76(5):484–489. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X05000924>. doi:10.1016/j.fitote.2005.04.002.
- Navarrete Barragán NA, Pita-Ospina EF, Sánchez Mora. RM, Giraldo Quintero SE, Bernal Lizarazú MC. 2020. Actividad *in vitro* de los extractos etanólicos de *Lantana camara* L., *Petiveria alliacea* L. y *Lippia dulcis* T. frente a bacterias patógenas. nova. 18(33). doi:10.22490/24629448.3700.
- Ocaña López ME. 2013. Actividad Antifúngica *In Vitro* de Extractos Vegetales Contra *Fusarium oxysporum* Snyd y Hans [Tesis de pregrado]. México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; [consultado 20/072023]. <http://repositorio.uaaan.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/6477/62754%20OCA%C3%91A%20LOPEZ%2C%20MARTHA%20EMILIA%20%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Oladeji OS, Adelowo FE, Ayodele DT, Odelade KA. 2019. Phytochemistry and pharmacological activities of *Cymbopogon citratus*: A review. Scientific African. 6(3):e00137. en. doi:10.1016/j.sciaf.2019.e00137.
- Peñuelas-Rubio O, Arellano-Gil M, Vargas Arispuro, Lares Villa CS, Hernández Rodríguez, Gutiérrez Coronado, Mungarro Ibarra. 2015. Bioactividad *in vitro* de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata*) sobre la inhibición de hongos poscosecha: *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus niger*,

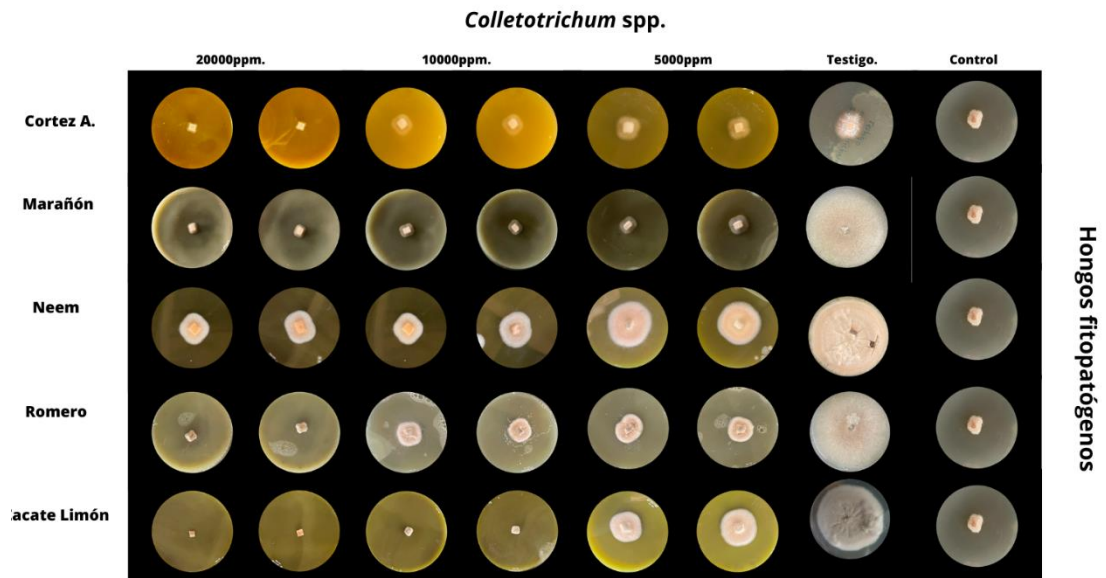
- Penicillium polonicum* y *Rhizopus oryzae*. polibotanica; [consultado el 19 de jul. de 2023.474Z]. es. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-27682015000200012](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682015000200012).
- Pérez-Pérez JU, Guerra-Ramírez D, Reyes-Trejo B, Cuevas-Sánchez JA, Guerra-Ramírez. P. 2020. Actividad antimicrobiana *in vitro* de extractos de *Jatropha dioica* seseé contra bacterias fitopatógenas de tomate. polibotanica. 0(49). doi:10.18387/polibotanica.49.8.
- Posadzki P. 2013. Adverse effects of herbal medicines: an overview of systematic reviews. Clinical Medicine. 13(1):7. en. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5873713/>. doi:10.7861/clinmedicine.13-1-7.
- Quintana Y, Hernández Y, Mejías R. 2018. Extractos vegetales para el control de *Ralstonia solanacearum* Smith agente causal de la marchitez bacteriana del tomate. Fac. Agron; [consultado el 20 de jul. de 2023]. 41–52. [http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev\\_agro/article/view/22123/144814488407](http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_agro/article/view/22123/144814488407).
- Reganold JP, Papendick RI, Parr JF. 1990. Sustainable Agriculture. Sci Am. 262(6):112–120. <https://revistafitotecniamexicana.org/documentos/30-2/2a.pdf>. doi:10.1038/scientificamerican0690-112.
- Rizo Peña S, M. F. C. 2015. Efecto *in vitro* de extractos naturales sobre aislamientos bacterianos del género *Xanthomonas*; [consultado el 26 de jul. de 2023]. chrome-extension://efaidnbmnnnibpajpcglclefindmkaj/<https://repositorio.geotech.cu/jspui/bitstream/1234/1862/1/Efecto%20In%20Vitro%20%20extractos%20naturales%20sobre%20aislamientos%20bacterianos%20%20g%C3%A9nero%20Xanthomonas.pdf>.
- Rodríguez AT, Morales D, Ramírez. 2000. Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de hongos fitopatógenos. La Habana, Cuba: Cultivos Tropicales. 2 vol. (vol. 2). ISBN: 0258-5936. Español. <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193215024014.pdf>.
- Sáenz-Esqueda, María de los Ángeles, Rosales-Castro M, Rocha-Guzmán NE, Gallegos-Infante JA, González-Laredo RF. 2010. Contenido fenólico y acción antioxidante de extractos de acículas de *Pinus cooperi*, *P. durangensis*, *P. engelmannii* y *P. teocote*. Madera y bosques; [consultado el 20 de jul. de 2023]. 16(3). es. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-04712010000300003](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712010000300003).
- Samol Juárez VG, Santizo Paz BC. 2011. Actividad Inhibitoria de Extractos y Aceites Esenciales de Especies Condimentarias, Alimenticias y Medicinales contra *Campylobacter jejuni*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. 72 p; [consultado el 23 de jul. de 2023]. chrome-extension://efaidnbmnnnibpajpcglclefindmkaj/<https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB0990.pdf>.
- Sanchez CA. 1997: Efecto de extractos de plantas sobre el crecimiento, la esporulación y la producción de toxinas de *Clostridium perfringens* tipo A [Tesis de pregrado]. México: Universidad Autónoma de Nuevo León; [consultado el 23 de jul. de 2023]. chrome-extension://efaidnbmnnnibpajpcglclefindmkaj/<http://eprints.uanl.mx/7159/1/1080080867.PDF>.
- Sánchez I, Miranda I, Ávila D, Beltrán J, Pérez O. 2009. Extractos vegetales de *Maytenus phyllantoides* (Mangles Agua Bola) contra el crecimiento de bacterias. México: [sin editorial]; [consultado el 23 de feb. de 2023]. 1 p. chrome-extension://efaidnbmnnnibpajpcglclefindmkaj/[https://smbb.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AREA\\_VI/CVI-06.pdf](https://smbb.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AREA_VI/CVI-06.pdf).

- Sepúlveda Jiménez, Gabriela, Porta Ducoing, Helena, Rocha Sosa, Mario. 2003. La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*; [consultado el 20 de jul. de 2023]. 21(3):355–363. <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.redalyc.org/pdf/612/61221317.pdf>.
- Silván M, Martínez A. 2019. Extractos de subproductos alimentarios para mitigar la incidencia de *Campylobacter*. *Tecnifood Revista alimentaria*; [consultado el 24 de jul. de 2023]. <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://digital.csic.es/bitstream/10261/219817/1/extracampy.pdf>.
- Soto A, García R, Ramírez Y, Morán J, Serrano L. 2012. El Extracto Acuoso de Orégano (*Lippia graveolens* HBK) del Norte de México Tiene Actividad Antioxidante sin Mostrar un Efecto Tóxico *in vitro* e *in vivo*. *Int. J. Morphol.* 30(3):937–944. doi:10.4067/S0717-95022012000300029.
- Soto Rueda EM, Rodríguez Ruiz YL, Loango Chamorro N, Landázuri P. 2018. Extractos de *Tagetes patula* L. (*Asteraceae*): un potencial bactericida contra el Moko. *Revista Mexicana Ciencias Agrícolas*; [consultado el 23 de jul. de 2023]. 9(5). [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342018000500949](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342018000500949).
- Trigos Á, Ramírez K, Salinas A. 2008. Presencia de hongos fitopatógenos en frutas y hortalizas y su relación en la seguridad alimentaria. *Revista mexicana de micología.* 28. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-31802008000300015](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802008000300015).
- Vanegas Arevalo DL. 2020. Actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de plantas del género Piper frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Chromobacterium violaceum*. Colombia: Universidad de la Salle. 36 p; [consultado el 26 de jul. de 2023]. <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1079&context=biologia>.
- Vélez R, D'Armas H, Jaramillo-Jaramillo C, Vélez E, editores. 2018. Metabolitos secundarios, actividad antimicrobiana y letalidad de las hojas de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) y *Melissa officinalis* (toronjil). Ecuador: FACSsalud. 9 p. (vol. 2). ISBN: 2602-8360.
- Villa-Martínez A, Pérez-Leal R, Morales-Morales HA, Basurto-Sotelo M, Soto-Parra JM, Martínez-Escudero E. 2014. Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta agron.* 64(2):194–205. doi:10.15446/acag.v64n2.43358.
- Widmer TL, Laurent N. 2006. Plant extracts containing caffeic acid and rosmarinic acid inhibit zoospore germination of *Phytophthora* spp. pathogenic to *Theobroma cacao*. *Eur J Plant Pathol.* 115(4):377–388. doi:10.1007/s10658-006-9024-5.

## Anexos

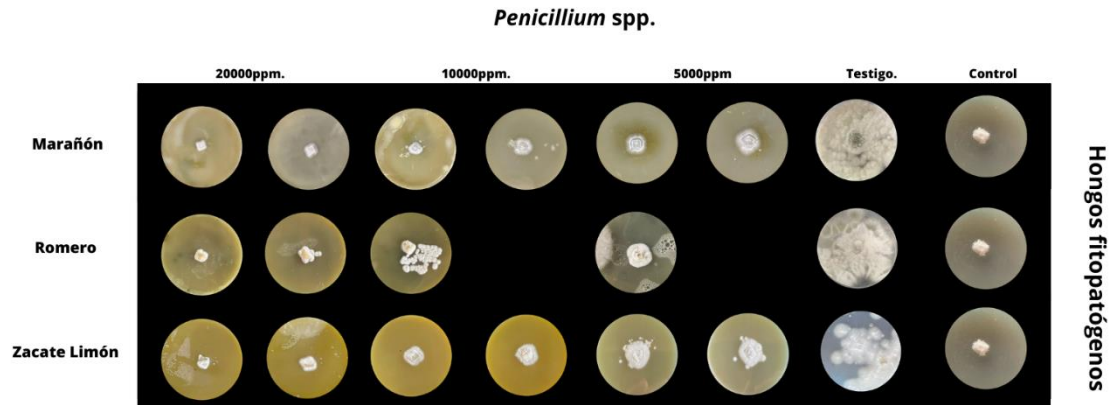
## Anexo A

*Colletotrichum* spp. en extracto de cortez amarillo, marañón, neem, romero y zacate limón



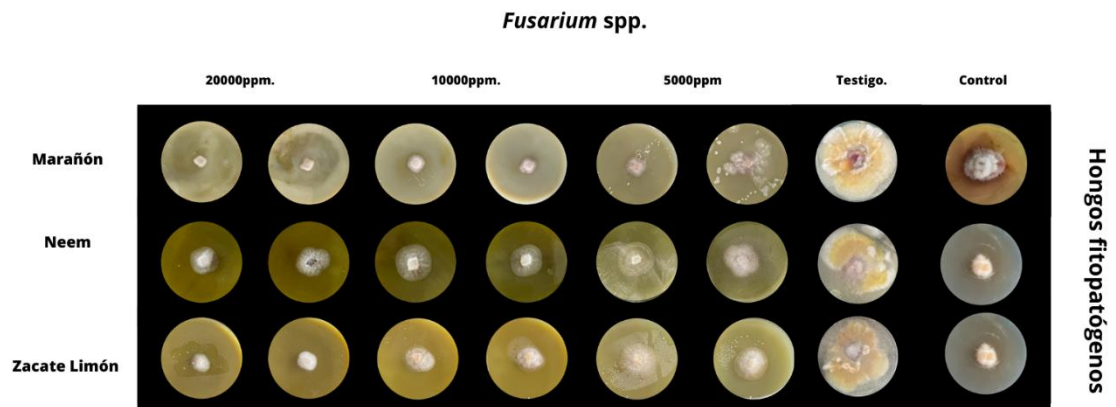
**Anexo B**

*Penicillium* spp. en extracto de marañón, romero y zacate limón



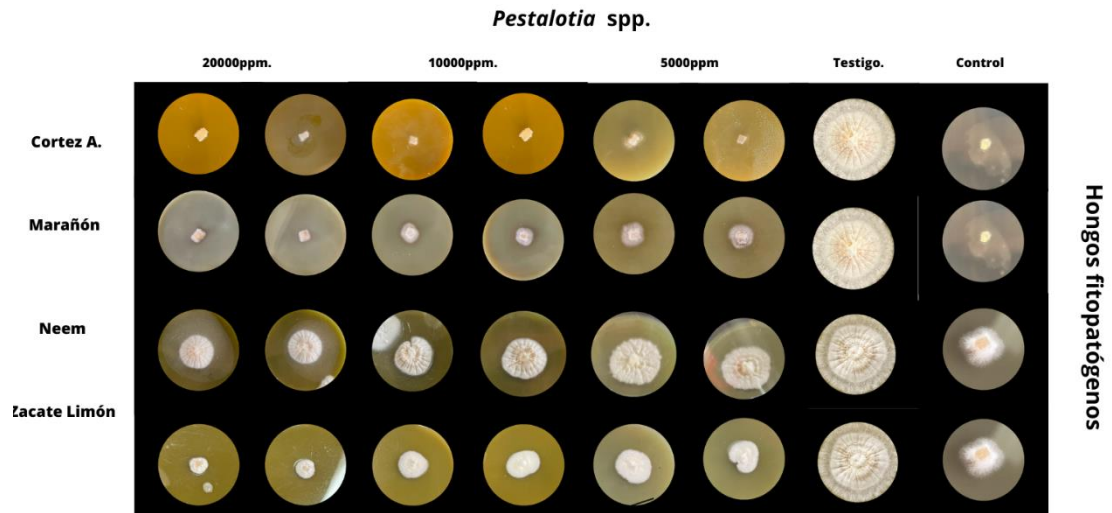
**Anexo C**

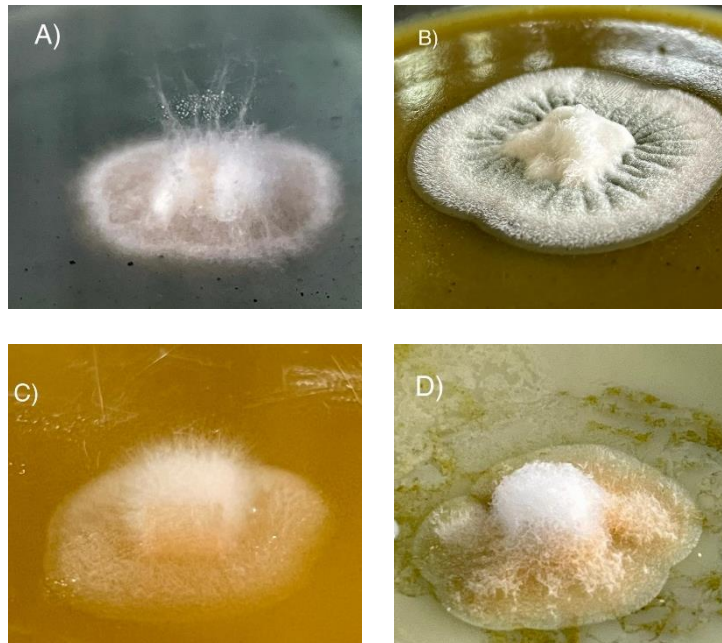
*Fusarium spp.* en extracto de marañón, neem y zacate limón



## Anexo D

*Pestalotia* spp. en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón

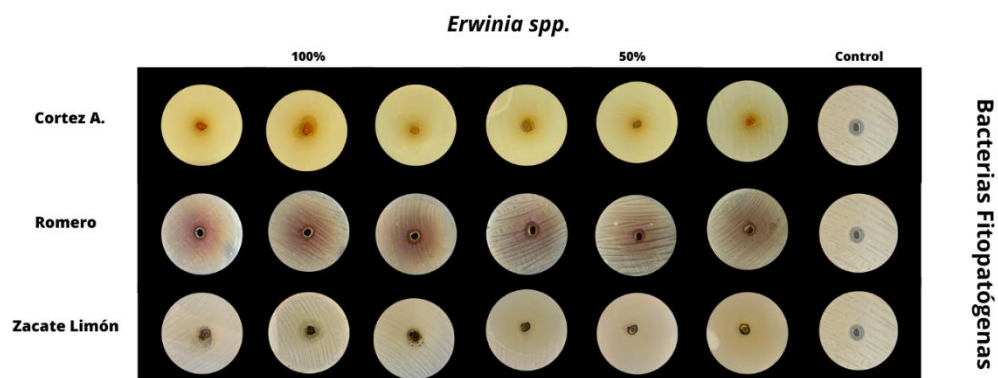


**Anexo E***Crecimiento de hongos fitopatógenos*

*Nota.* crecimiento sobre el inóculo de hongos fitopatógenos, A) *Pestalotia* spp., B) *Penicillium* spp., C) *Colletotrichum* spp., D) *Fusarium* spp.

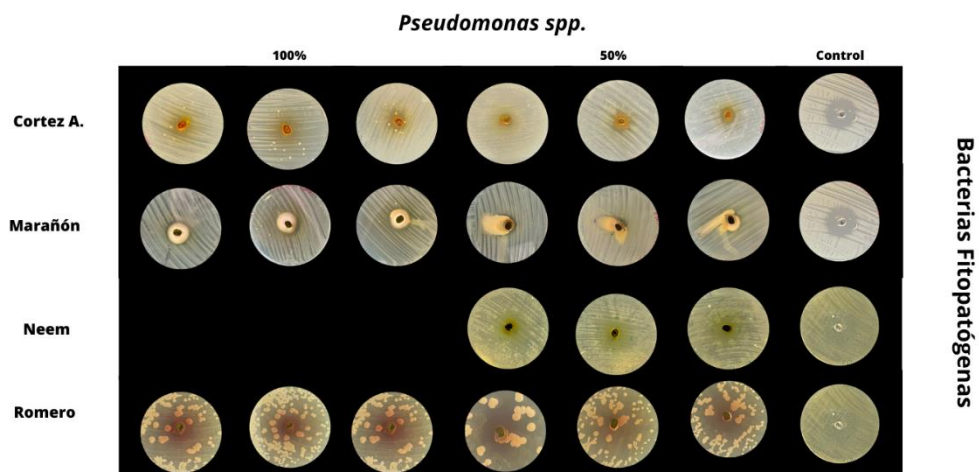
## Anexo F

*Erwinia* spp. en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón



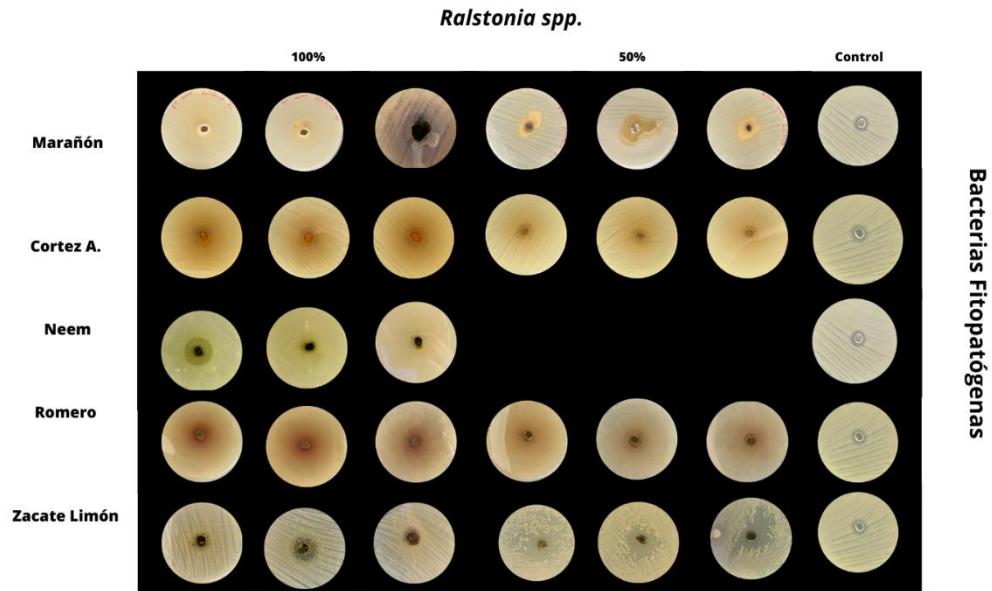
## Anexo G

*Pseudomonas* spp. en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón



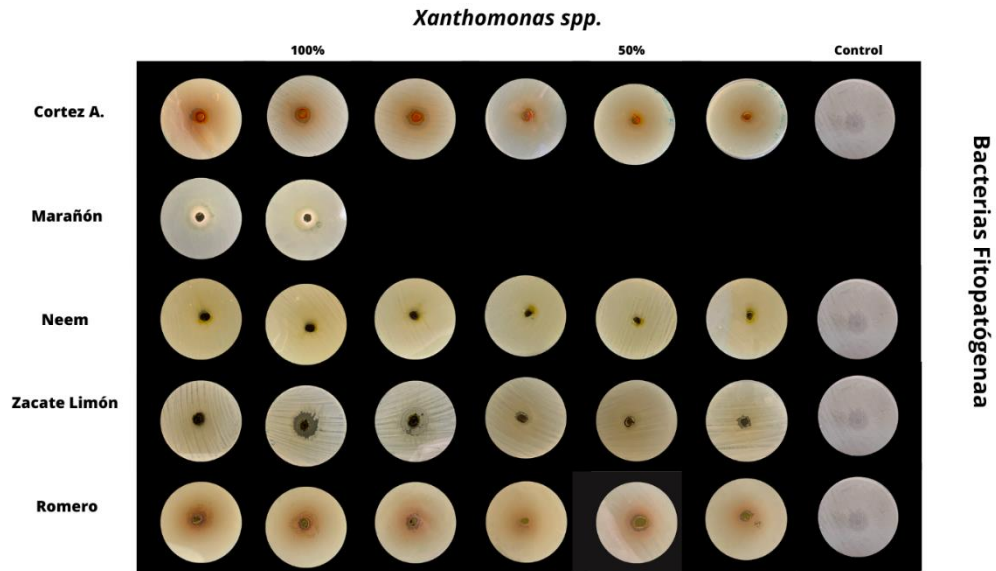
## Anexo H

*Ralstonia* spp. en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón



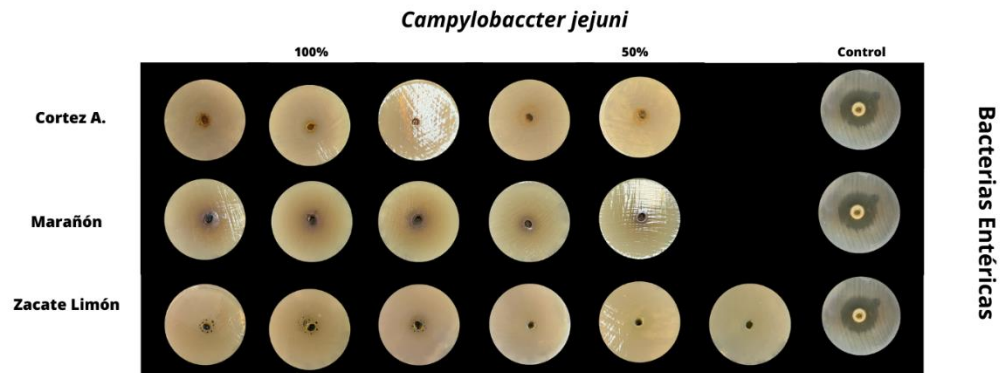
## Anexo I

*Xanthomonas* spp. en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón



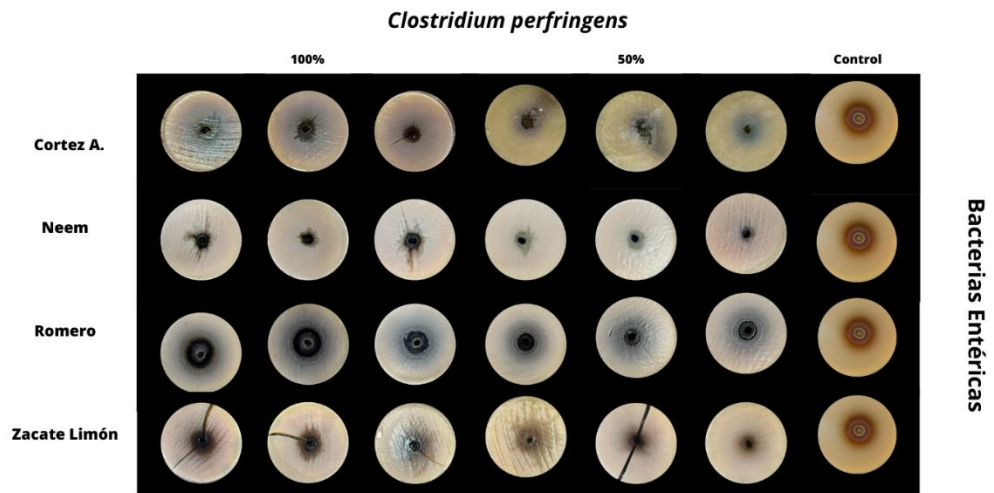
## Anexo J

*Campylobacter jejuni* en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón



## Anexo K

*Clostridium perfringens* en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón



## Anexo L

*Salmonella Typhimurium* en extracto de cortez amarillo, marañón, neem y zacate limón





## Anexo N

### *Obtención de Extractos Vegetales*

Se obtuvo 1.5kg de materia vegetal fresca de todas las muestras, las plantas mostraron una pérdida de humedad del 95% y para la preparación de la harina se procedió a separar las ramas de las hojas y las flores de los pedúnculos, sépalos y receptáculos. Para el procesamiento de la muestra estas se separaron en 4 partes y se diluyeron en 300 ml de alcohol para cada extracto vegetal. 300 ml de alcohol para cada extracto vegetal. En el siguiente cuadro se observan los rendimientos obtenidos en cada una de las preparaciones. En el caso del romero se observó como el extracto se precipitó, era una textura más sólida debido a que las hojas cuentan con un número excesivo de tricomas que dieron esta propiedad al EV, el extracto más líquido fue el de cortez amarillo y los extractos de neem, romero y zacate Limón presentaron aspecto lipídico.

#### *Rendimiento de harina para extractos vegetales*

Planta	Peso seco/ gr	gr/mL	Bagazo/gr/T	EV/mL	EV 100%/mL
Romero; <i>Salvia rosmarinus</i>	300	50/300	200	150	18
Neem; <i>Azadirachta indica</i>	450	50/300	201	149	8
Marañón; <i>Anacardium occidentale</i>	450	50/300	200	150	10
Cortez Amarillo; <i>Tabebuia ochracea</i>	300	50/500	350	150	20
Zacate limón; <i>Cymbopogon citratus</i>	450	50/300	205	145	7

*Nota.* abreviatura para rendimiento de extractos vegetales Material Para Extracto (MPE), Extracto vegetal (EV), Bagazo (restante después de filtración), en el caso de cortez Amarillo se utilizó más solvente para cubrir todo el material vegetal.