

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE MONAGAS
ESCUELA DE CIENCIAS DEL AGRO Y DEL AMBIENTE
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



CONTROL DE *MACROPHOMINA PHASEOLINA*
MEDIANTE EL USO DE EXTRACTOS VEGETALES

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO POR:

SARAHYS ALEXANDRA MORALES CARDOZO

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO AGRÓNOMO

MENCIÓN EXCELENCIA

MATURÍN, FEBRERO DE 2024

**CONTROL DE *Macrophomina phaseolina*
MEDIANTE EL USO DE EXTRACTOS VEGETALES**

SARAHYS ALEXANDRA MORALES CARDOZO

TRABAJO DE GRADO

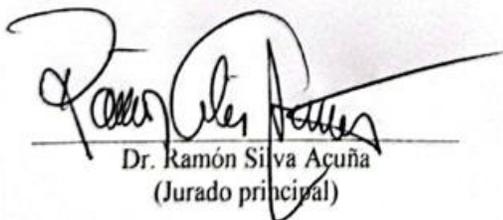
Presentado ante el Departamento de Ingeniería Agronómica
de la Universidad de Oriente, como requisito parcial para obtener el título de

INGENIERO AGRÓNOMO

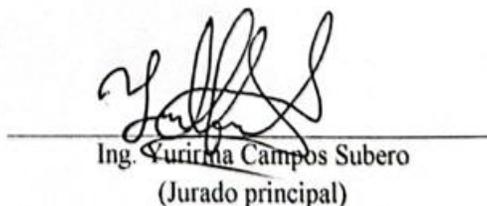
MENCIÓN EXCELENCIA



Dra. María Claudia Sánchez Cueva
(Tutora académica)



Dr. Ramón Silva Acuña
(Jurado principal)



Ing. Yurima Campos Subero
(Jurado principal)

MATURÍN, FEBRERO DE 2024



ACTA DE EVALUACIÓN DEL TRABAJO DE GRADO

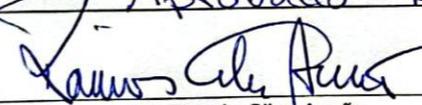
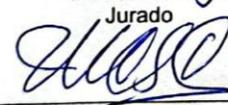
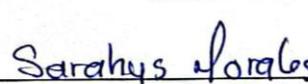
CTG-ECAA-DIA-2024

MODALIDAD: TESIS DE GRADO

ACTA N° 2011

En Maturín, siendo las 10:00 a.m. del día 20 de febrero de 2024, reunidos en el Aula 05 del Postgrado, Campus Juanico del Núcleo de Monagas de la Universidad de Oriente, los miembros del jurado profesores: Ramón Silva Acuña (Jurado), Yurirma Campos (Jurado) y María Claudia Sánchez Cuevas (Tutora académica), a fin de cumplir con el requisito parcial exigido por el Reglamento de Trabajo de Grado vigente para obtener el Título de **Ingeniero Agrónomo**, se procedió a la presentación y defensa del Trabajo de Grado, titulado: "CONTROL DE *Macrophomina phaseolina* MEDIANTE EL USO DE EXTRACTOS VEGETALES", por la Bachiller: **Sarahys Alexandra Morales Cardozo**, C.I. 24.865.394. El jurado, luego de la discusión del mismo acuerda calificarlo como:

Aprobado Excelente

| | |
|--|--|
|  Dr. Ramón Silva Acuña C.I. 4.334.972 Jurado |  Ing. Yurirma Josefina Campos Subero C.I. 19.090.064 Jurado |
|  Dra. María Claudia Sánchez Cuevas C.I. 12.154.713 Tutora académica |  Br. Sarahys Alexandra Morales Cardozo C.I. 24.865.394 Estudiante |
|  MSc. Elizabeth Prada Andrade C.I. 10.116.469 Comisión de Trabajo de Grado |  MSc. Rosalía Carmen Bermúdez Yegues C.I. 9.934.923 Jefe Departamento Ing. Agronómica |

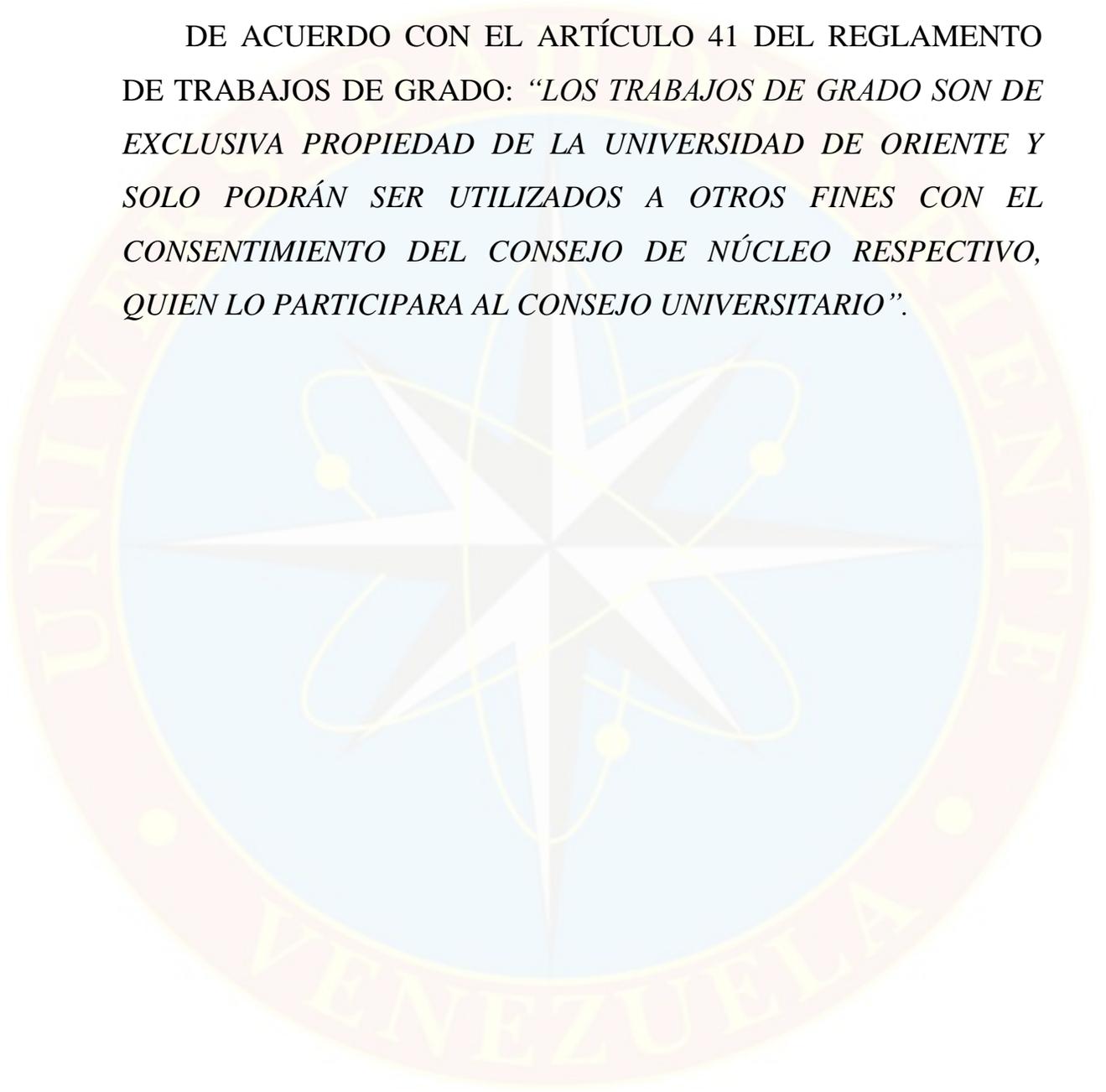


Según establecido en resolución de Consejo Universitario N° 034/2009 de fecha 11/06/2009 y Artículo 13 Literal J del Reglamento de Trabajo de Grado de la Universidad de Oriente. Esta acta está asentada en la hoja N° 369 del libro de Actas de Trabajos de Grado del año 2011 del Departamento de Ingeniería Agronómica de la Escuela de Ciencias del Agro y del Ambiente y está debidamente firmada por los miembros del jurado, el tutor y el (los) estudiantes.

DEL PUEBLO VENIMOS / HACIA EL PUEBLO VAMOS

RESOLUCIÓN

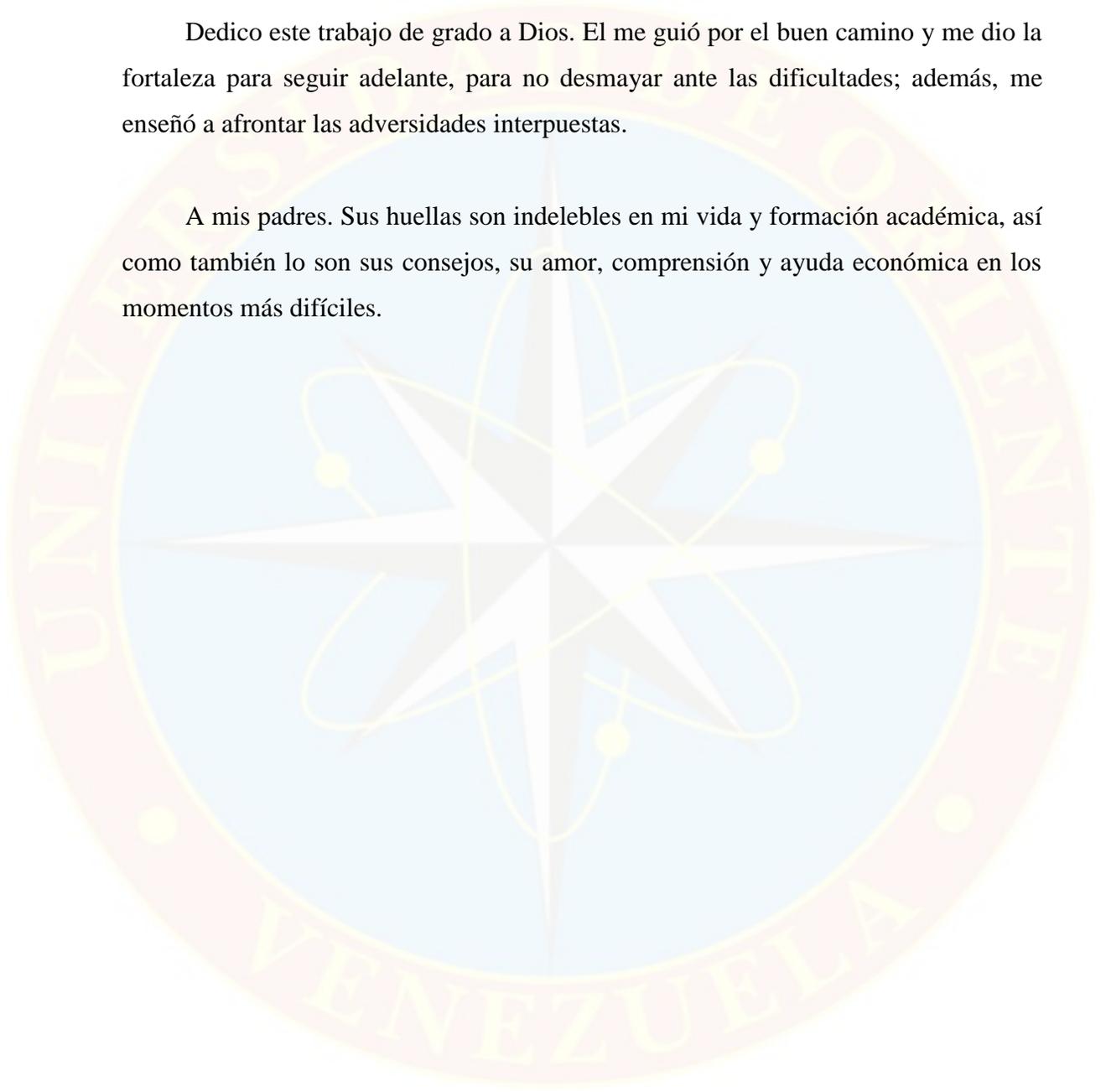
DE ACUERDO CON EL ARTÍCULO 41 DEL REGLAMENTO DE TRABAJOS DE GRADO: *“LOS TRABAJOS DE GRADO SON DE EXCLUSIVA PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE Y SOLO PODRÁN SER UTILIZADOS A OTROS FINES CON EL CONSENTIMIENTO DEL CONSEJO DE NÚCLEO RESPECTIVO, QUIEN LO PARTICIPARA AL CONSEJO UNIVERSITARIO”*.



DEDICATORIA

Dedico este trabajo de grado a Dios. El me guió por el buen camino y me dio la fortaleza para seguir adelante, para no desmayar ante las dificultades; además, me enseñó a afrontar las adversidades interpuestas.

A mis padres. Sus huellas son indelebles en mi vida y formación académica, así como también lo son sus consejos, su amor, comprensión y ayuda económica en los momentos más difíciles.



AGRADECIMIENTOS

A Dios, en primer lugar, por permitirme realizar este trabajo de grado, mi contribución científica al conocimiento universal.

A mis padres y hermana, José Luis Morales, Henny Cardozo y Valentina Morales. Sin su apoyo incondicional no hubiese sido posible realizar tanto este trabajo como cumplir mis objetivos personales. Son ellos, quienes con su cariño, me impulsaron a perseguir mis metas y nunca abandonarlas frente a las adversidades. También me brindaron el soporte material y económico para poder centrarme en los estudios y nunca abandonarlos.

A la profesora María Claudia Sánchez-Cuevas, por su dedicación y paciencia. Su tutoría fue de particular importancia para la realización y culminación de este trabajo de investigación. Gracias por su guía.

A todos mis compañeros, hoy convertidos en mis amigos, cómplices y hermanos. Les agradezco por compartir tantos momentos inolvidables en esta etapa de la vida. Gracias por su compañía, la anhelo.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|-----|
| RESOLUCIÓN..... | iv |
| DEDICATORIA..... | v |
| AGRADECIMIENTOS..... | vi |
| ÍNDICE GENERAL..... | vii |
| LISTA DE CUADROS..... | ix |
| LISTA DE FIGURAS..... | x |
| LISTA DE CUADROS APÉNDICES..... | xii |
| RESUMEN..... | xv |
| SUMMARY..... | xvi |
| INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION..... | 4 |
| OBJETIVO GENERAL..... | 4 |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 4 |
| REVISIÓN DE LITERATURA..... | 5 |
| TAXONOMÍA..... | 6 |
| GENERALIDADES DEL GENERO <i>HIBISCUS</i> | 6 |
| DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA FLOR DE JAMAICA..... | 7 |
| REQUERIMIENTOS..... | 8 |
| MANEJO DEL CULTIVO..... | 8 |
| FERTILIZACIÓN..... | 9 |
| COSECHA..... | 9 |
| USOS Y BENEFICIOS..... | 10 |
| <i>MACROPHOMINA PHASEOLINA</i> | 10 |
| Descripción..... | 11 |
| Ciclo de vida..... | 12 |
| Penetración del hongo a la planta..... | 12 |
| Factores ambientales que favorecen el crecimiento de <i>Macrophomina phaseolina</i> | 14 |
| Importancia económica de <i>Macrophomina phaseolina</i> | 16 |
| EXTRACTOS VEGETALES..... | 17 |
| Evaluación de actividad biológica de extractos vegetales en hongos fitopatógenos..... | 19 |
| Especies vegetales con actividad antifúngica..... | 20 |
| CUNDEAMOR (<i>Momordica charantia</i>)..... | 20 |
| Botánica y fenología..... | 21 |
| MORINGA (<i>Moringa oleífera</i>)..... | 22 |
| ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN..... | 24 |
| METODOLOGÍA..... | 27 |
| UBICACIÓN DEL ESTUDIO..... | 27 |

| | |
|---|------------|
| FASE DE LABORATORIO | 27 |
| Aislamiento e identificación del agente causal..... | 28 |
| Comprobación de los postulados de Koch..... | 30 |
| Agar papa dextrosa artesanal | 33 |
| Agar zanahoria dextrosa artesanal | 33 |
| Agar harina de avena artesanal | 34 |
| Agar harina de maíz artesanal..... | 34 |
| Agar Czapek artesanal | 34 |
| Agar Czapek comercial..... | 34 |
| Agar Papa Dextrosa (PDA) comercial..... | 34 |
| Evaluaciones | 35 |
| Diseño y análisis estadístico | 36 |
| Análisis estadístico | 36 |
| Elaboración de los extractos vegetales | 37 |
| Medios de cultivo con extractos vegetales | 37 |
| Preparación del testigo: PDA sin extracto | 38 |
| Evaluaciones | 39 |
| Análisis estadístico | 39 |
| En condiciones de casa de cultivo | 40 |
| Evaluaciones | 42 |
| Análisis estadístico | 42 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 43 |
| CONCLUSIONES..... | 65 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 66 |
| APÉNDICE | 82 |
| HOJAS METADATOS..... | 106 |

LISTA DE CUADROS

| | |
|--|----|
| Cuadro 1. Características del suelo donde fueron extraídas las plantas de flor de Jamaica..... | 29 |
| Cuadro 2. Medios de cultivo artesanal y comercial en donde se evaluó el desarrollo de <i>Macrophomina phaseolina</i> | 33 |
| Cuadro 3. Extractos a evaluar para el control <i>in vitro</i> de <i>Macrophomina phaseolina</i> | 39 |
| Cuadro 4. Extractos a evaluar para el control de <i>Macrophomina phaseolina in vivo</i> | 41 |
| Cuadro 5. Resumen del análisis de varianza del diámetro de crecimiento en los medios de cultivo más adecuado para multiplicar el hongo <i>Macrophomina phaseolina</i> , entre medios de cultivos artesanales y medios de cultivo comerciales | 46 |
| Cuadro 6. Análisis de la varianza para el área de crecimiento de la colonia de <i>Macrophomina phaseolina</i> en los medios de cultivo artesanales y medios de cultivos comerciales..... | 49 |
| Cuadro 7. Análisis de la varianza para la velocidad de crecimiento de la colonia de <i>Macrophomina phaseolina</i> en los medios de cultivo artesanales y medios de cultivos comerciales..... | 51 |
| Cuadro 8. Análisis de la varianza del tiempo de llenado de la colonia de <i>Macrophomina phaseolina</i> en los medios de cultivo artesanales y medios de cultivos comerciales..... | 53 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. A) Clínica Universitaria de Diagnóstico Agrícola. B) casa de cultivo (Invernadero N° 1) de la Comisión de Investigación del Núcleo de Monagas, donde se desarrolló la investigación..... | 27 |
| Figura 2. A) Planta con síntomas de la enfermedad pata prieta. B) Tallo con microesclerocios en los tejidos internos..... | 28 |
| Figura 3. Establecimiento de plántulas para la determinación de la capacidad de infección del hongo aislado del material de campo | 30 |
| Figura 4. Proceso de preparación de la solución del inóculo. B) tratamiento testigo. C) inmersión de plántulas en la solución del inóculo..... | 31 |
| Figura 5. Establecimiento del ensayo. A) Plantas sin inóculo, b). Plantas inoculadas..... | 32 |
| Figura 6. Representación de la unidad experimental del ensayo, compuesta por cinco capsulas de Petri. | 36 |
| Figura 7. Hojas sana de moringa y de cundeamor. B) Proceso de trituración para la obtención del material seco. C) Decocción del material procesado..... | 38 |
| Figura 8. Representación de la unidad experimental del ensayo de evaluación de extractos para el control de <i>Macrophomina phaseolina in vivo</i> , compuesta por 32 plantas. | 41 |
| Figura 9. Aislados de <i>Macrophomina</i> con 15 días de crecimiento en PDA, A) Micelio aéreo color blanco. B) Micelio aéreo color gris. C) Micelio aéreo color negro..... | 44 |
| Figura 10. <i>Macrophomina phaseolina</i> . A) Presencia de esclerocios irregulares y negros desarrollados en la tallo de la planta de flor de Jamaica. B) Micelio del hongo en medio de cultivo PDA. C) Esclerocios e hifas D) Colonia de 15 días de crecimiento en medio de cultivo PDA. | 44 |
| Figura 11. Crecimiento micelial de <i>maccrophomina</i> al tercer día posterior a la siembra en los diferentes medios de cultivo..... | 45 |
| Figura 12. Diámetro de crecimiento de <i>Macrophomina phaseolina</i> en los medios de cultivos artesanales y comerciales, evaluados desde el día 3 hasta el día 15 posterior a la siembra. Estadística comparativa (Media \pm CO) del diámetro de micelio, comparado en diferentes medios de cultivo..... | 47 |
| Figura 13. Área de crecimiento micelial de <i>Macrophomina phaseolina</i> en los medios de cultivo artesanales (CZKA, PDAA, AZAA. AHAA, AHMA) y en los medios de cultivos comerciales (CZKC Y PDAC)..... | 50 |
| Figura 14. Velocidad de crecimiento de la colonia de <i>Macrophomina phaseolina</i> en medios de cultivos artesanales y medios de cultivos comerciales | 52 |

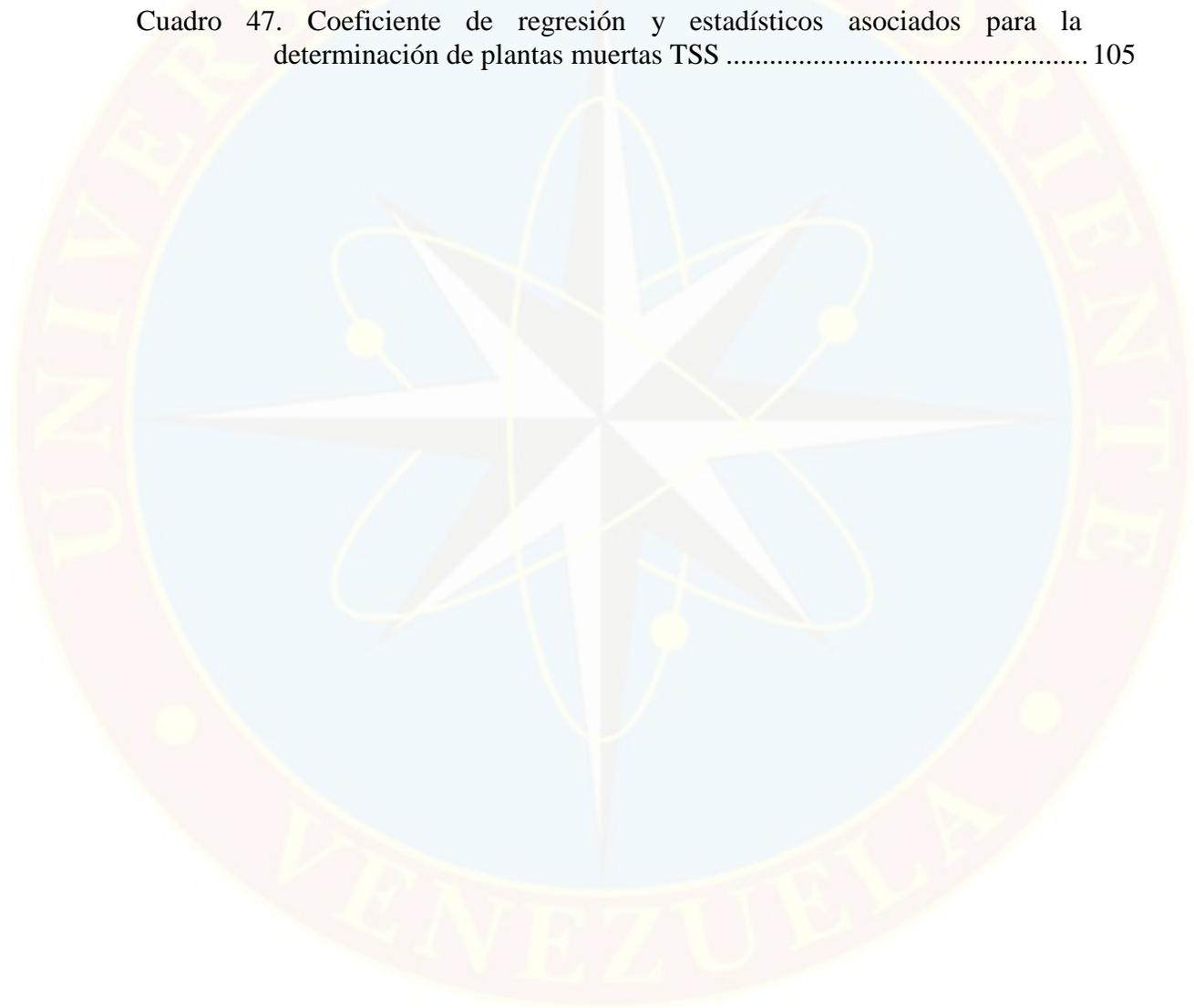
| | |
|--|----|
| Figura 15. Tiempo de llenado de la colonia de <i>Macrophomina phaseolina</i> en los medios de cultivo artesanales y en los medios de cultivos comerciales..... | 54 |
| Figura 16. Inhibición del crecimiento micelial de <i>Macrophomina phaseolina</i> con las diferentes concentración de los extractos de cundeamor y moringa en el día 3 después de la siembra. | 56 |
| Figura 17. Crecimiento de <i>Macrophomina phaseolina</i> en los medio de cultivos que contienen los extractos vegetales. A) Cundeamor al 25 % con 3 días de crecimiento del patógeno. B) Moringa al 100 % con 3 días de crecimiento del patógeno. | 57 |
| Figura 18. Inhibición del crecimiento micelial de <i>Macrophomina phaseolina</i> con las diferentes concentraciones de los extractos de cundeamor y moringa en el día 15 después de la siembra. | 58 |
| Figura 19. Crecimiento de <i>macrophonina</i> en medios de cultivo que contienen los extractos vegetales de cundeamor y moringa con las diferentes concentraciones, a los 15 días posteriores a la siembra | 61 |
| Figura 20. Porcentaje de mortalidad de plántulas de flor de Jamaica a 8 días de la inoculación con <i>Macrophomina phaseolina</i> | 62 |
| Figura 21. Porcentaje de mortalidad de plántulas de flor de Jamaica a la semana N°5 después de la inoculación con <i>Macrophomina phaseolina</i> | 63 |
| Figura 22. Plántulas de Jamaica a los 8 días posteriores a la inoculación | 64 |

LISTA DE CUADROS APÉNDICES

| | |
|---|----|
| Cuadro 1 Determinación del medio de cultivo más adecuado para multiplicar el hongo <i>Macrophomina phaseolina</i> , entre medios de cultivos artesanales (agar papa, agar zanahoria, agar harina de avena, agar harina de maíz, Czapek) y medios de cultivo comerciales (Agar Papa Dextrosa y Agar Czapek)..... | 83 |
| Cuadro 2. Prueba de Shapiro-Wilks para el diámetro de crecimiento | 84 |
| Cuadro 3. Prueba F para igualdad de varianzas para el diámetro de crecimiento | 84 |
| Cuadro 4. Análisis de la varianza para diámetro de crecimiento a los 3 días | 85 |
| Cuadro 5. Prueba de Scott & Knott para los medios de cultivo a los 3 días..... | 85 |
| Cuadro 6. Análisis de la varianza para diámetro de crecimiento a los 6 días | 86 |
| Cuadro 7 Prueba de Scot t& Knott para los medios de cultivo a los 6 días..... | 86 |
| Cuadro 8. Análisis de la varianza para diámetro de crecimiento a los 9 días | 87 |
| Cuadro 9. Prueba de Scott & para los medios de cultivo a los 9 días | 87 |
| Cuadro 10. Análisis de la varianza para diámetro de crecimiento a los 12 días | 88 |
| Cuadro 11. Prueba de Scott & Knott para los medios de cultivo a los 12 días..... | 88 |
| Cuadro 12. Análisis de la varianza para diámetro de crecimiento a los 15 días | 89 |
| Cuadro 13. Prueba de Scott & Knott para los medios de cultivo a los 15 días..... | 89 |
| Cuadro 14. Resumen de velocidad de crecimiento y llenado de capsula de petri para la determinación de las medio de cultivos más adecuado para la multiplicación de <i>M. phaseolina</i> | 90 |
| Cuadro 15. Velocidad de crecimiento y tiempo de llenado de capsula de petri comparado en diferentes medios de cultivo | 91 |
| Cuadro 16. Prueba de Shapiro-Wilks para determina la velocidad de crecimiento de <i>Macrophomina</i> | 91 |
| Cuadro 17. Prueba F para igualdad de varianzas para determina la velocidad de crecimiento <i>Macrophomina</i> | 92 |
| Cuadro 18. Prueba de Scott & Knott para la velocidad de crecimientode crecimiento <i>Macrophomina</i> | 92 |
| Cuadro 19. Prueba F para la igualdad de variancia para el tiempo de llenado | 93 |
| Cuadro 20. Prueba de Scott & Knott para el tiempo de llenadode crecimiento <i>Macrophomina</i> | 93 |
| Cuadro 21. Prueba F para igualdad varianza para el área de crecimiento de <i>Macrophomina</i> | 94 |
| Cuadro 22. Prueba de Shapiro-Wilks para determinar el área crecimiento de <i>Macrophomina</i> | 94 |
| Cuadro 23. Análisis de la varianza para la determinación del extracto acuoso par el control de <i>Macrophomina</i> | 95 |

| | |
|---|-----|
| Cuadro 24. Análisis de la varianza para la determinación del extracto vegetal más efectivo para del control de <i>Macrophomina</i> a los 3 días después de la siembra..... | 95 |
| Cuadro 25. Análisis de la varianza para la determinación del extracto vegetal más efectivo para del control de <i>Macrophomina</i> a los 6 días después de la siembra..... | 96 |
| Cuadro 26. Análisis de la varianza para la determinación del extracto vegetal más efectivo para del control de <i>Macrophomina</i> a los 9 días después de la siembra..... | 96 |
| Cuadro 27. Análisis de la varianza para la determinación del extracto vegetal más efectivo para del control de <i>Macrophomina</i> a los 12 días después de la siembra..... | 97 |
| Cuadro 28. Prueba de Shapiro-wilks para la determinación del extracto vegetal más efectivo para del control de <i>Macrophomina</i> | 97 |
| Cuadro 29. Análisis de la varianza para la determinación del extracto vegetal más efectivo para del control de <i>Macrophomina</i> a los 15 días después de la siembra..... | 98 |
| Cuadro 30. Prueba F para igualdad de varianza para para la determinación del extracto vegetal más efectivo para del control de <i>Macrophomina</i> | 98 |
| Cuadro 31. Resumen de plantas muertas después de la inoculación con <i>Macrophomina</i> | 99 |
| Cuadro 32. Análisis de regresión lineal para la determinación de plantas muertas (CUA)..... | 99 |
| Cuadro 33. Coeficiente de regresión y estadísticos asociados para la determinación de plantas muertas (CUA)..... | 100 |
| Cuadro 34. Análisis de regresión lineal para la determinación de plantas muertas (CUB)..... | 100 |
| Cuadro 35. Coeficiente de regresión y estadísticos asociados a la determinación de plantas muertas (CUB)..... | 101 |
| Cuadro 36. Análisis de regresión lineal para la determinación de plantas muertas (CUM)..... | 101 |
| Cuadro 37. Coeficiente de regresión y estadísticos asociado para la determinación de plantas muertas (CUM)..... | 101 |
| Cuadro 38. Análisis de regresión lineal para la determinación de plantas muertas (MOA)..... | 102 |
| Cuadro 39. Coeficientes de regresión y estadísticos asociados para la determinación de plantas muertas (MOA)..... | 102 |
| Cuadro 40. Análisis de regresión lineal para la determinación de plantas muertas (MOB)..... | 102 |
| Cuadro 41. Coeficiente de regresión y estadísticos asociados para la determinación de plantas muertas (MOB)..... | 103 |
| Cuadro 42. Análisis de regresión lineal para la determinación de plantas muertas (MOM)..... | 103 |

| | |
|--|-----|
| Cuadro 43. Coeficiente de regresión y estadísticos asociados para la determinación de plantas muertas (MOM)..... | 103 |
| Cuadro 44. Análisis de regresión lineal para la determinación de plantas muertas TIS..... | 104 |
| Cuadro 45. Coeficiente de regresión y estadísticos asociados para la determinación de plantas muertas TIS | 104 |
| Cuadro 46. Análisis de regresión lineal para la determinación de plantas muertas TSS..... | 104 |
| Cuadro 47. Coeficiente de regresión y estadísticos asociados para la determinación de plantas muertas TSS | 105 |



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE MONAGAS
ESCUELA DE CIENCIAS DEL AGRO Y DEL AMBIENTE
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



CONTROL DE *Macrophomina phaseolina* MEDIANTE EL USO DE
EXTRACTOS VEGETALES

Autor(a):
Sarahys Alexandra Morales Cardozo
Tutor(a):
Dra. María Claudia Sánchez-cueva

RESUMEN

La enfermedad conocida como pudrición carbonosa o pata prieta, causada por *Macrophomina phaseolina* (*Mp*), puede ocasionar pérdidas considerables en varios cultivos, incluyendo flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Los medios de cultivo comerciales para el aislamiento y multiplicación del hongo tienen alto costo y baja disponibilidad en el mercado local, por lo que se requieren sustituirlos por otros accesibles y económicos. Se estudió el efecto de medios de cultivo comerciales [Agar Papa Dextrosa Hopebio® (PDAC), Agar Czapek Hopebio® (CZK)] y artesanales [Agar Papa Dextrosa (PDAA), Czapek-artesanal (CZKA), Agar-zanahoria (AZAA), Agar-harina de maíz (AHMA), Agar-harina de avena (AHAA)], en el desarrollo *in vitro* de *Mp* aislado de plantas de flor de Jamaica afectadas por el patógeno. Cada capsula de petri se inoculó con un disco de 1cm² del hongo en cultivo puro y se midió el diámetro y área de la colonia cada 24 h hasta el llenado de las capsula de petri. Se utilizó el diseño de bloques al azar, con siete tratamientos, cuatro repeticiones y cinco capsula de Petri por unidad experimental. Los resultados mostraron que todos los medios de cultivo permitieron el crecimiento del hongo. El PDAA fue uno de los medios de cultivos artesanales que presentó mayor diámetro de crecimiento, con la ventaja de prepararse con materiales económicos y de fácil acceso en el mercado local. En cuanto al control *in vitro*, se utilizó los extractos de moringa (*Moringa oleifera*) y cundeamor (*Momordica charantia*) en distintas concentraciones (25, 50, 75 y 100 %). El control *in vitro* de *Mp* fue más efectivo con los extractos de moringa al 100 % y cundeamor al 25 %. Por último, se evaluó la técnica de inoculación de punción del tallo con aguja de disección y poda de raíz.

Palabras clave: Flor de Jamaica, *Hibiscus sabdariffa*, cultivo *in vitro*, tasa de crecimiento micelial, pata prieta de flor de Jamaica y control biológico.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE MONAGAS
ESCUELA DE CIENCIAS DEL AGRO Y DEL AMBIENTE
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



CONTROL OF *Macrophomina phaseolina* THROUGH THE USE OF PLANT
EXTRACTS

Autor(a):
Sarahys Alexandra Morales Cardozo
Tutor(a):
Dra. María Claudia Sánchez-cueva

SUMMARY

The disease known as charcoal rot, caused by *Macrophomina phaseolina* (Mp), can cause considerable losses in several crops, including Jamaica flower (*Hibiscus sabdariffa* L.). Commercial culture media for the isolation and multiplication of the fungus have a high cost and low availability in the local market, which is why it is necessary to replace them with other accessible and economical ones. The effect of commercial culture media [Hopebio® Potato Dextrose Agar (PDAC), Czapek Hopebio® Agar (CZK)] and artisanal [Potato Dextrose Agar (PDAA), Czapek artesanal (CZKA), Carrot Agar (AZAA), Carrot Agar (AZAA), corn flour (AHMA), Oatmeal Agar (AHAA)], in the *in vitro* development of Mp isolated from Jamaican flower plants affected by the pathogen. As for the *in vitro* control, moringa and cundeamor extracts were used in different concentrations (25.50, 75 and 100 %). Finally, the inoculation technique of puncture of the stem with a dissecting needle and root pruning were evaluated. The randomized block design was used, with seven treatments, four repetitions and five Petri dishes per experimental unit. Each plate was inoculated with a 1cm² disc of the fungus in pure culture and the diameter and area of the colony was measured every 24 hours until the plates were filled. The results showed that all culture media allowed the growth of the fungus. PDAA was one of the artisanal culture media that had the largest growth diameter, and that has the advantage of being prepared with cheap and easily available materials in the local market. The *in vitro* control of Mp was more effective with the extracts

Keywords: Jamaica flower, *Hibiscus sabdariffa*, *in vitro* culture, mycelial growth rate, Jamaica flower brown leg and biological control

INTRODUCCIÓN

La flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), es una alternativa económica para los productores minifundistas que disponen de mano de obra familiar, es un cultivo que posibilita su aprovechamiento integral. Los cálices se utilizan para preparar refrescos, jaleas, jarabes, dulces, vinos, gelatinas, y esencias, sin dejar de lado, el mercado popular que la utiliza en su mayoría para la preparación de aguas frescas, así como la industria farmacéutica que actualmente la requieren en mayor cantidad (Rojas, 1999).

A pesar de que proporciona grandes beneficios a la salud y a la economía de los productores, éstos enfrentan el problema del bajo rendimiento ocasionado por factores como la falta de apoyo técnico y económico para las labores culturales, la pérdida de fertilidad del suelo, la incidencia de plagas y enfermedades, entre otros. En años recientes se ha detectado la aparición de manchas necróticas; estas, provocan reducción en la calidad de los cálices, ocasionando mermas en la producción (Martínez-Sánchez, 2010). De manera similar, el cultivo es afectado por *Macrophomina phaseolina*, uno de los patógenos asociados a la enfermedad conocida como pata prieta caracterizada por inducir necrosis basal, marchitez generalizada, amarillamiento de hojas y muerte de las plantas. La enfermedad constituye una de las principales limitantes fitosanitarias para la producción de flor de Jamaica (Ortega-Acosta *et al.*, 2015).

Las enfermedades fungosas en las plantas son fenómenos cuya incidencia poblacional impone retos agronómicos. Uno de estos retos lo constituye el manejo de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, causante de la enfermedad conocida con nombres como pudrición gris o carbonosa de la raíz, mancha ceniza del tallo, pudrición húmeda de las plántulas, tizón cenizo del tallo o pata prieta, muy frecuente

en plantaciones ubicadas en zonas con sequía y altas temperaturas. Las plantas afectadas por este hongo presentan lesiones necróticas en cotiledones, raíces, cuello, tallo, ramas y pedúnculos (Babu *et al.*, 2010).

Este hongo produce infecciones sólo una vez por ciclo de cultivo, generando epifitas monocíclicas (Stewart y Rodríguez, 2013). El progreso de la enfermedad depende de la cantidad de inóculo inicial presente en el reservorio del suelo. Los microesclerocios son las estructuras de resistencia responsables de la sobrevivencia del hongo en el suelo, semillas y restos de cosecha siendo, en consecuencia, la fuente primaria de inóculo (Cardona, 2006; Torrealba *et al.*, 2015).

Para el control de hongos habitantes del suelo, como *M. phaseolina*, se han utilizado agroquímicos como el Bromuro de metilo, el Metan sodio y Metan potasio (Nuez, 1995). Sin embargo, estos productos generan problemas ambientales: dañan la capa de ozono, deterioran la flora microbiana y eliminan los microorganismos benéficos del suelo. Es por ello que actualmente se está promoviendo el uso de productos que estimulen a una agricultura sustentable, por lo que se hace necesario buscar nuevas estrategias para el control de enfermedad ocasionadas por patógenos del suelo (Lira *et al.*, 2007).

Una de las alternativas se basa en el uso de nuevas materias bioactivas que puedan ser empleadas en el manejo integrado de plagas, que ejerzan, a diferencia de los agroquímicos, menor efecto negativo en el ambiente por tratarse de productos naturales (Bianchi *et al.*, 1997; Bowers y Locke, 2000).

La producción de sustancias bioactivas o metabolitos secundarios por las plantas ocurre a través de diferentes vías metabólicas, donde se genera gran número de compuestos, muchos de los cuales sólo son detectados en determinados grupos de plantas y en diferentes concentraciones. La cantidad y composición de esta clase de

compuestos es muy variable y depende del tipo de tejido, de la edad de la planta, de su hábitat y del tipo de suelo (Cruz De Matos, 2000). 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).

Numerosos estudios han constatado que muchos de estos compuestos afectan importantes funciones en los vegetales, ya que pueden actuar en la preservación de la integridad de las plantas contra el ataque de enemigos como nemátodos, bacterias, hongos, insectos y herbívoros o en la atracción de polinizadores y dispersores de semillas (Bennett y Wallsgrave, 1994; Cruz De Matos, 2000).

Una opción económica, amigable con el ambiente y efectiva para el control de enfermedades es el uso de extractos vegetales, que contienen metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas, antivirales y repelentes; además, de exhibir efecto fungicida, que pueden ser empleadas para controlar diferentes hongos (Celis *et al.*, 2008; Hernández *et al.*, 2007).

Los hallazgos anteriormente planteados justifican el estudio del efecto de extractos vegetales *in vitro* e *in vivo* en el control de *Macrophomina phaseolina* en flor de Jamaica.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION

OBJETIVO GENERAL

Evaluación del efecto de los extractos acuosos de cundeamor (*Mormodica charantia* L.) y moringa (*Moringa oleifera*) para el control *in vitro* e *in vivo* de *Macrophomina phaseolina* en flor de Jamaica.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Aislamiento y purificación del hongo *Macrophomina phaseolina* a partir de plantas afectadas de Flor de Jamaica
2. Determinación del medio de cultivo más adecuado para la multiplicación del hongo entre medios de cultivos artesanales y medios de cultivo comerciales.
3. Evaluación del grado de inhibición que ejercen los extractos acuosos de cundeamor y moringa en el crecimiento del hongo *in vitro*.
4. Establecimiento del porcentaje de inhibición que ejercen los extractos acuosos de cundeamor y moringa en el crecimiento del hongo *in vivo*.

REVISIÓN DE LITERATURA

Las tecnologías industriales utilizadas para incrementar la productividad en los sistemas de agricultura son inadecuadas para orientarlos hacia la sustentabilidad, en donde, si bien interesa el desarrollo económico, se da igual importancia a los aspectos ambientales y sociales; por ejemplo, el uso de insumos químicos para el control de plagas en los sistemas de agricultura tradicionales ha generado importantes costos ambientales, al provocar la disminución de la fauna benéfica y la pérdida de diversidad biológica (Altieri, 1993) y ha producido efectos indeseables en la salud humana, como la intoxicación de agricultores y habitantes en general (Jiménez, 2001). El uso de químicos sintéticos en la agricultura, sean insecticidas, herbicidas, fungicidas o fertilizantes, es intensivo y no siempre es eficiente, con lo que se acentúa el problema de contaminación del agua, del suelo y del aire, y se pueden generar residuos potencialmente dañinos en los alimentos que se consumen (Gliessman, 1985).

La definición y la comprensión del concepto de agricultura sustentable dependen de muchos factores como son la experiencia que se tenga en actividades de la agricultura, el conocimiento sobre las tecnologías y formas de organización social que la distinguen, la escala de estudio y la localidad, el conocimiento sobre temas de nutrición y abasto, entre otros. En general, las expresiones que intentan aclarar el concepto de agricultura sustentable tienen relación con las tres dimensiones que abarca el concepto de sustentabilidad, es decir, con las dimensiones social, económica y ambiental (Brundtland, 1987). La agricultura sustentable es un sistema integrado de prácticas de producción de plantas y animales, con el fin de satisfacer la alimentación humana, mejorar la calidad del ambiente y hacer más eficiente el uso de los recursos no renovable e integrarlos con los recursos de la unidad de producción, manteniendo la viabilidad económica de las labores agrícolas, siendo que, mediante este sistema se

optimiza la calidad de vida de los agricultores y la sociedad como un todo (Fiagro, 2008).

TAXONOMÍA

De acuerdo con Tropicos.org 2008, la flor de Jamaica se clasifica taxonómicamente de la siguiente forma:

Clase: Equisetopsida C. Agardh
Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
Superorden: Rosanae Takht.
Orden: Malvales Juss.
Familia: Malvaceae Juss.
Género: *Hibiscus*
Especie: *Hibiscus sabdariffa* L.

GENERALIDADES DEL GENERO *HIBISCUS*

El género *Hibiscus* comprende alrededor de 200 especies de zonas tropicales y cálidas. Su nombre proviene del griego *Hibiskos*, nombre dado al malvavisco común en la época de Dioscórides. El género, está formado por plantas herbáceas, anuales o perennes, arbustos, semiarbustos y árboles, con las hojas enteras o a veces lobuladas o partidas. Sus flores son axilares, generalmente solitarias, aunque a veces se disponen en racimos, corimbos o panículas. Tienen un epicáliz con 4-20 segmentos, separados o a veces unidos basalmente al cáliz, que es generalmente acampanado, con cinco lóbulos. La corola tiene cinco pétalos mucho más grandes que el cáliz. Los estambres están unidos formando una columna estaminal que en ocasiones puede sobresalir notablemente a la corola. El fruto es capsular (Estévez, 1989).

La flor de Jamaica pertenece a la familia Malvaceae, es un cultivo anual nativo de África tropical. El cultivo es extensamente cosechado en la India, Sudan, Egipto, Senegal y Tailandia por sus agradables cálices de color rojo los cuales son usados para hacer mermeladas, gelatinas y refrescos (Balami, 1998).

Las especies más conocidas del género *Hibiscus* son, *Hibiscus rosa-sinensis*, popularmente "cayena" e *Hibiscus syriacus*, popularmente "Rosa de Siria, desde luego, la flor de Jamaica, pero existen algunas otras especies importantes (Moreno, 2002).

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA FLOR DE JAMAICA

La flor Jamaica es una planta erecta, con varias ramificaciones, herbácea (Teniente, 1983). En cuanto al tallo de la planta, es de forma cilíndrica, ramificado, alcanzando diámetros de 2 a 2,5 cm, de color verde o rojizo, con abundante fibra (Aguirre y Muñiz, 2003).

Las hojas son compuestas y lanceoladas-lobuladas (Larios, 1999), mientras que, Hernández (1988) indica que son lobuladas simples y lanceoladas, con glándulas en la vena central y con margen aserrado; además, son digitado-partidas en tres lóbulos dentados (Estévez, 1989; Hernández, 1988).

León (2000) señala que el cáliz propiamente dicho es ovado-lanceolado cónico en la base y se divide arriba en 5 o 7 sépalos, de 2 a 3 cm de largo, cada uno con una pequeña glándula en el centro. El cáliz es de color rojo, carnoso, el cual toma un color oscuro y sabor ácido, confundiendo con el fruto verdadero (Patiño, 1978), el cual sigue creciendo en la fructificación que forma una copa grande, de color rojo oscuro, con pedúnculos cortos y sabor ácido.

Según León (2000) la corola es de hasta 12 cm de diámetro, se compone de cinco pétalos amarillos con una mancha rosada o café en la base, que se marchita el día posterior a la apertura. Después de la antesis, el cáliz crece y alcanza hasta 6 cm de longitud; es rojo carnosos, ácido y cubre por completo al fruto.

Las flores son solitarias y hermafroditas, con bractéolas de 8-12 segmentos unidos en la base al cáliz. Los pétalos son de 4-5 cm de longitud, amarillos o blancos, con una mancha púrpura en la base. La columna estaminal es poco saliente. El cáliz tiene 2 cm de largo, cinco pétalos de 4-5 cm de largo, de color amarillo y verde pálido al inicio de la floración, carnosos y rojo brillante cuando inicia el desarrollo de las semillas, y sabor ácido. Los estambres son numerosos, el ovario es supero con cinco carpelos cerrados y placentación axial (Díaz Pérez *et al.*, 2011).

El fruto es una cápsula que encierra unas 20 semillas (Larios, 1999; Patiño, 1978). La cápsula es ovoide, recubierta por el cáliz, y contiene numerosas semillas reniformes y pubescentes (Teniente, 1983).

REQUERIMIENTOS

La flor de Jamaica se puede cultivar en climas tropicales y subtropicales, en regiones con altitudes entre 0 a 1200 m, temperatura promedio de 22 °C y precipitación pluvial anual de 500 a 1.000 milímetros. Se adapta a cualquier tipo de suelo y es resistente a la sequía (Rojas, 1999).

MANEJO DEL CULTIVO

Posee un manejo similar a cualquier cultivo; la preparación de suelo se realiza con un pase de arado, rastra simple o cruzada, surcado y la siembra se realiza en suelo húmedo (Rojas, 1999).

Contreras *et al.*, (2009) asegura que el desarrollo inicial de las plantas es lento. Cuando se realiza con siembra directa se requieren una o dos limpiezas, más que todo de arvenses de crecimiento alto, gramíneas y levantamiento de surco (aporque) 35 días después de la siembra. Una vez que cierre el cultivo con su follaje, ya no será necesario intervenir en el control de malezas (Larios, 1998). La planta puede llegar a medir 1,90 metros de altura esto depende de la época de siembra y del material genético.

La siembra de Jamaica es en forma directa, colocando 3 - 5 semillas por hoyo. La germinación ocurre 10-15 días después de la siembra. Las distancias se eligen de acuerdo con el vigor de las plantas, lo cual depende de la variedad; sin embargo, se ha observado resultados favorables con un arreglo de 80 cm entre surcos y 30 cm entre plantas, con una densidad de población de 41.000 plantas.ha⁻¹ (Núñez 2003).

FERTILIZACIÓN

La flor de Jamaica es poco exigente en fertilización. Gispert (1985) reporta que los requerimientos del cultivo son de 169 - 14 - 87 kg.ha⁻¹ de nitrógeno, fósforo y potasio (NPK) respectivamente. Éste es un cultivo que se maneja orgánicamente. Mena (2003) señala que los abonos orgánicos, a través de las compostas, representan una oportunidad para rescatar la agricultura tradicional, que permite mejorar las condiciones físicas y químicas del suelo y que, a su vez, es una de las acciones que permiten mantener la biodiversidad.

COSECHA

La planta se cultiva para el aprovechamiento de sus cálices carnosos y es aquí donde radica su valor comercial. Para la cosecha es necesario tomar como indicador una cápsula abierta, lo que ocurre de 4 a 6 meses después de la siembra, ya que en

este tiempo los cálices y las brácteas han alcanzado su tamaño óptimo y su madurez fisiológica. Otra característica que indica que los cálices están de cosecha es su color rosado intenso (La Torre, 1992).

USOS Y BENEFICIOS

La flor de Jamaica tiene gran diversidad de usos como colorante en la industria textil, en la cosmetología, perfumería, medicina, gastronomía, artesanías e incluso como planta ornamental. Con la semilla de la flor de Jamaica se produce aceite comestible; asimismo la semilla se puede consumir tostada. Puede consumirse también como té, licor, jalea, mermelada, pulpa, gelatina, helado, jarabe, aderezos, dulces, conservas, bebida refrescante y como aditivo natural para mejorar el aspecto y sabor de otras plantas medicinales o preparados alimenticios. Las hojas tiernas se pueden consumir en ensaladas; además, se utiliza como alimento para aves y como abono orgánico (Christian, 2009).

El uso más común de la flor de Jamaica es para preparar infusiones, pero también se puede hervir y tomar el agua con hielo como una bebida refrescante. Debido a su alto contenido en vitamina C, es una excelente herramienta para combatir el envejecimiento prematuro celular y es muy utilizada para recuperar el cuerpo de resfriados y resacas por la ingesta de bebidas alcohólicas. También se asegura que, si se toma como una infusión caliente, la flor de Jamaica resulta una excelente ayuda para combatir el insomnio, pues sus propiedades calmantes ayudan a que el cuerpo concilie fácilmente el sueño, propiciando un descanso profundo (Innecco, 2017).

MACROPHOMINA PHASEOLINA

El hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid es un patógeno distribuido mundialmente tiene como hospedantes a más de 500 especies y pertenece a la clase

Deuteromycetes. Afecta la caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) y otras plantas, incluyendo Flor de Jamaica, ocasionando la enfermedad conocida como pudrición carbonosa del tallo (Muñoz *et al.*, 2005).

Recientemente, Sarr *et al.* (2014) en Senegal, fue determinada una nueva especie del género, denominada *Macrophomina pseudophaseolina*, teniendo como hospederos *Abelmoschus esculentus*, *Arachis hypogaea*, *Hibiscus sabdariffa* y *Vigna unguiculata*.

La taxonomía de *M. phaseolina* ha sido revisada frecuentemente en los últimos 100 años, dando lugar a las siguientes sinonimias: *Macrophoma phaseolina* Tassi, 1901; *Macrophomina phaseoli* (Maubl) Ashby, 1927; *Macrophoma phaseoli* Maubl. 1905; *Macrophoma chorchori* Sawada, 1916; *Macrophomina philippensis* Petr. 1923; *Macrophoma cajani* Syd & Bull., 1916; *Macrophoma sesami* Sawada, 1922; *Sclerotium bataticola* Taub, 1913; *Rhizoctonia lamellifera* Snall, 1924; *Dothiorella cajani* Syd & Bull., 1925 (Kaur *et al.*, 2012); sin embargo, no hay ninguna evidencia que confirme la presencia de fase sexual en *M. phaseolina* (Mihail, 1992).

Descripción

El hongo presenta esclerocios negros de forma irregular y tamaño variado. Los picnidios son globosos, oscuros y ostilados (Ortegón *et al.*, 1993). La formación de los picnidios no ocurre en todos los hospederos; en contacto con las plantas, algunos conidios, germinan e infectan las raíces; siendo que, los microesclerocios son la principal fuente de inóculo y pueden infectar a la planta en distintos períodos (Almeida *et al.*, 2005). En 1988, Smits y Noruega estudiaron la ontogenia y morfogénesis de esclerocios y picnidios de *M. phaseolina* mediante el uso combinado de microscopía electrónica de barrido y microscopía de luz, describen que la formación de los esclerocios del patógeno se inicia por ramificaciones y

entrelazamientos de filamentos hifales adyacentes, incremento en el tamaño de los tejidos asociados y compactamiento de la masa esclerocial, los esclerocios maduros presentan apariencia sólida y compacta debido al colapso de la células externas de las hifas periféricas; internamente son uniformemente reticulados a través de toda su estructura, sin formación de tejidos especiales o anillos, sobre los cuales se forman esbozos picnidiales y finalmente los picnidios. Éstos presentan forma subglobosa, de apariencia reticulada, con cuello corto y ostiolo circular; en su interior, los conidios se desarrollan sobre conidióforos cortos, simples e hialinos que recubren la cavidad central del picnidio.

Ciclo de vida

El patógeno sobrevive como pequeños y negros microesclerocios en el suelo y en restos de plantas infectadas. Cuando una raíz en crecimiento de una planta susceptible entra en contacto con los microesclerocios en el suelo, éstos dejan su estado inactivo y germinan. Luego, el hongo crece sobre la superficie de la raíz y penetra por las células epidérmicas en la corteza de la raíz, colonizando a través de la corteza, desde la corteza interna hasta la raíz principal. La destrucción gradual del sistema radicular provoca retardo en el crecimiento, clorosis foliar y finalmente la muerte de la planta. Posteriormente, el hongo forma microesclerocios pequeños y negros en la corteza interior de las raíces y en la parte inferior del tallo. A medida que el tallo y las raíces de las plántulas muertas se descomponen, los microesclerocios son liberados en el suelo, donde sobreviven como inóculo para el cultivo de la próxima temporada (Smith *et al.*, 1989, Kaur *et al.*, 2012).

Penetración del hongo a la planta

La infección primaria se produce cuando los microesclerocios, que pueden sobrevivir por períodos prolongados 1 a 3 años, son interceptados al sistema radicular

de la planta. Cuanto más temprano ocurra la infección del hospedante, mayor será el daño que ocasione en el mismo (Ivancovich *et al.*, 2016).

El ciclo infectivo de *M. phaseolina* comienza con la disseminación del esclerocio, fuente primaria de inóculo y de elevada persistencia, que se encuentra en las raíces y tejidos de hospederos colonizados, suelo y detritus provenientes de tejidos vegetales en descomposición. La severidad de la pudrición carbonosa demuestra una correlación directa con la densidad poblacional de esclerocios presentes en el suelo, que a su vez se ve afectada por temperaturas extremas (50 °C y -10 °C) (Short *et al.*, 1980).

Este hongo produce infecciones sólo una vez por ciclo de cultivo, generando epifitias monocíclicas (Stewart y Rodríguez, 2013); el progreso de la enfermedad depende de la cantidad de inóculo inicial presente en el reservorio del suelo. Los microesclerocios son las estructuras de resistencia responsables de la sobrevivencia del hongo en el suelo, semillas y restos de cosecha, siendo en consecuencia, la fuente primaria de inóculo (Cardona, 2006; Torrealba *et al.*, 2015).

Los microesclerocios germinan al entrar en contacto con las raíces secundarias; se inicia el crecimiento de las hifas en la superficie de las raíces y la formación de apresorio hasta que penetra en la planta. El patógeno prosigue con la colonización hasta alcanzar la raíz principal, donde causa atraso en el crecimiento, manifestado en clorosis y marchitamiento foliar y finaliza con la muerte de la planta. En los últimos estadios de la enfermedad, se forman los microesclerocios, estructuras de resistencia de color negro en la corteza interior de las raíces y en la parte inferior del tallo (Smith, 1969).

Macrophomina phaseolina germina y luego infecta los tallos de las plántulas cerca de la superficie del suelo, en la base de los cotiledones en desarrollo y penetra a

través de la raíz. El hongo produce chancros negros con un margen bien definido y a menudo presentan anillos concéntricos. Se observa una pudrición carbonosa a través del tallo (Piñeiro, 1991).

Durante los estadios iniciales de la infección, los exudados del sistema radicular del cultivo inducen la germinación de los microesclerocios y el desarrollo del micelio del hongo que penetra en la epidermis de la raíz y permanece restringido en los espacios intercelulares del parénquima cortical de las raíces primarias. Como resultado, las células vegetales adyacentes colapsan, llevando a la muerte a las plántulas infectadas. Si el cultivo supera esta fase y llega a floración, entonces las hifas del hongo prosiguen su desarrollo y crecen intracelularmente a través del xilema y forman microesclerocios que bloquean los vasos y causan ruptura de las células del hospedero (Muñoz *et al.*, 2005; Kaur *et al.*, 2012). La colonización prosigue hasta llegar a la raíz principal, causando la detención del crecimiento, clorosis y marchitamiento foliar, finalizando, en algunos casos, con la muerte de la planta (Garrido *et al.*, 2016). También se ha documentado que la presencia de residuos de soya en la superficie del suelo favorece la supervivencia de *M. phaseolina* durante el invierno, así como la diversidad de hongos patógenos y saprófitos que pueden modular negativamente su persistencia (Baird *et al.*, 2003).

Factores ambientales que favorecen el crecimiento de *Macrophomina phaseolina*

Los factores ambientales que determinan la severidad de la enfermedad son las altas temperaturas y la sequía (Norton, 1953). En cultivares de soya, el manejo del agua puede tener efecto significativo en el desarrollo de la enfermedad; sin embargo, puede limitar, pero no impedir, la colonización de las raíces por *M. phaseolina* (Kendig *et al.*, 2000).

La humedad en el suelo desempeña un rol importante en la reducción de la resistencia al calor de los esclerocios y contribuye a la destrucción del contenido esclerocial (Dhingra y Sinclair, 1974).

En plántulas de pino, existe una correlación positiva entre la severidad de la enfermedad y los incrementos de la temperatura del suelo, dentro del rango de 21 a 38 °C; observaciones realizadas a nivel de campo indican que esta enfermedad es más severa durante el verano cuando aumenta la temperatura del suelo (Hodges, 1962). Mayek-Pérez *et al.* (1997) concuerdan que *M. phaseolina* es un hongo favorecido por temperaturas altas (28 a 35 °C) y baja humedad edáfica.

Diversas investigaciones sugieren que aislados de *M. phaseolina* provenientes de diferentes regiones geográficas presentan variaciones en su morfología y virulencia, del mismo modo, que aislados obtenidos desde diferentes especies de plantas difieren en sus caracteres morfológicos en medio de cultivo y en patogenicidad. Por otra parte, *M. phaseolina* muestra alto grado de variabilidad en cuanto a la morfología de las colonias en medio de cultivo, como color de micelio, presencia de micelio aéreo, producción y tamaño de microesclerocios, velocidad de crecimiento y sensibilidad a clorato (Aboshosha *et al.*, 2007; Iqbal y Mukhtar, 2014; Kaur *et al.*, 2013; Mihail y Taylor, 1995). Varios estudios para clasificar los aislados de *M. phaseolina* se basan en la morfología de las colonias en medios modificados con clorato (Su *et al.*, 2001).

Aislados de *M. phaseolina* colectados de diferentes especies agrícolas presentan amplia variabilidad morfológica, fisiológica, patogénica y genética, la cual ha permitido adaptarse a diferentes condiciones ambientales y tener una amplia distribución geográfica (Muñoz *et al.*, 2004).

Este patógeno induce síntomas que van desde el tizón de las plántulas, el marchitamiento, la pudrición de la raíz y el tallo. Se ha mencionado al patógeno como agente causal de la muerte del follaje y decoloración marrón en los tejidos, lo que resulta en disminución de la altura y diámetro del tallo, peso de la raíz o la muerte de plantas (Raut, 1983).

En flor de Jamaica, el principal patógeno que afecta la raíz en la planta de Jamaica es *Phytophthora parasítica*, agente causal de marchitez, amarillamiento y pudrición de tallo; otros patógenos importantes son *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium oxysporum* y *Sclerotium rolfsii* (Ewin y Ribeiro, 1996). Ortega *et al.* (2015) estudiaron la distribución y frecuencia de organismos asociados a la "pata prieta" de la flor de Jamaica en el estado de Guerrero (México) durante el 2011, evaluaron 12 parcelas comerciales y aislaron los organismos *Phytophthora parasítica*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium incarnatum*, *Fusarium solani*, *Phomopsis longicolla*, *Glomerella cingulata* y *Colletotrichum truncatum*. La mayor frecuencia (72,4 %) se obtuvo con *P. parasítica*, distribuido en 10 de 12 sitios, seguido por *F. oxysporum* de amplia distribución pero de baja frecuencia (10,6 %), *M. phaseolina* se aisló de cuatro sitios, con frecuencia de 10,9 %. *F. incarnatum*, *F. solani*, *P. longicolla*, *G. cingulata* y *C. truncatum* presentaron baja frecuencia y distribución (0,4 a 2,4 %). En pruebas de patogenicidad, *P. parasítica*, *M. phaseolina* y *F. incarnatum* fueron patogénicos. Este es el primer reporte en México para *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium incarnatum* como patógenos de la flor de Jamaica.

Importancia económica de *Macrophomina phaseolina*

Este fitopatógeno causa enfermedad en más de 500 plantas cultivadas y especies silvestres, incluyendo varios cultivos económicamente importantes, como legumbres y vegetales, y pudrición del tallo y raíz en bosques de coníferas, árboles

frutales y malezas. Es considerado un problema de alto impacto en países tropicales y subtropicales con climas áridos y semiáridos en África, Asia, Europa, Norteamérica y Sudamérica. Además causa una de las cinco enfermedades en soya que provocan enormes pérdidas económicas anuales en los diez principales países productores de soya (Estados Unidos, Brasil, Argentina, China, India, Paraguay, Canadá, Indonesia, Bolivia e Italia en 1998). Se estima que la reducción del rendimiento en los cultivos de soya en los EUA fue de 1,98; 0,28 y 0,49 millones de toneladas métricas en el año 2003, 2004 y 2005, respectivamente. Por otro lado, en el año 2009 se confirmaron problemas de *M. phaseolina* en fresa en los condados de Fresno y Alameda en California, EUA (Kaur *et al.* 2012).

La pudrición carbonosa de la raíz es una enfermedad ampliamente conocida por afectar principalmente cultivos agrícolas; sin embargo, se han reportados varias pérdidas en importantes especies forestales como *Pinus* sp. Entre los años 1950-1960, la enfermedad fue reportada en viveros de pino en el estado de Florida (EUA), causando importantes pérdidas en las especies *Pinus elliottii* Engelm y *P. taeda* L (Seymour, 1969). En un vivero de Florida (EUA) se reportaron pérdidas de 20 millones de plántulas de pino durante el año 1976 atribuidas a la pudrición carbonosa de la raíz (Cordell, 2000); aunque, *M. phaseolina* ha sido asociada con la mortalidad de plantaciones de pino, la pudrición carbonosa de la raíz es mayormente una enfermedad de pinos en viveros forestales (Barnard y Gilly, 1986).

EXTRACTOS VEGETALES

Antes de que el hombre desempeñara un rol activo en la protección de las plantas, éstas ya habían demostrado la capacidad de defenderse por sí solas. Se conoce que sintetizan una gran variedad de metabolitos secundarios (alcaloides, esteroides, flavonoides, terpenoides, quinonas, entre otros) los cuales están

implicados en los mecanismos de defensa hacia distintos factores de estrés biótico y abiótico (Hernández *et al.*, 2007; Wilson *et al.*, 1999).

La producción de estos metabolitos secundarios, por parte de las plantas, está ligada a diferentes vías metabólicas. La cantidad y diversidad de éstos es muy variable y depende del tipo de tejido, edad de la planta, hábitat, tipo de suelo, entre otros (Alcalá *et al.*, 2005). Muchos de estos compuestos son producidos y almacenados en tejidos jóvenes, como hojas, flores y semillas (Costa *et al.*, 2001; Cruz De Matos, 2000).

El reconocimiento de algunas propiedades biológicas de los metabolitos secundarios o productos naturales es conocido desde hace tiempo, lo que ha motivado su amplio uso en diversos campos como la agricultura y medicina. A partir de ellos se han obtenido diversos fármacos, antibióticos, insecticidas y herbicidas (Croteau *et al.*, 2000). Algunos ejemplos se pueden mencionar:

- Compuestos a base de azadiractina y salanina, utilizados en agricultura, se obtienen de las semillas del árbol de Neem (*Azadirachta indica*), planta ampliamente conocida por sus propiedades antimicrobianas e insecticidas (Reigart y Roberts, 1999; Buss y Park-Brown, 2002).
- Los piretros o piretrinas son insecticidas ampliamente utilizados en agricultura. Son sustancias aisladas de las flores de piretro. Los piretroides han sido sintetizados e imitan la acción de las piretrinas (Reigart y Roberts, 1999; Buss y ParkBrown, 2002).

La tendencia mundial muestra que el uso de las plantas y los derivados obtenidos está aumentando de manera considerable en el control de plagas y enfermedades importantes (Cavaliere *et al.*, 2009). El conocimiento tradicional

expresa la necesidad de trabajar en la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas a partir de plantas reconocidas (Cordell, 2000). Las plantas tienen la capacidad de sintetizar gran diversidad de metabolitos secundarios relacionados con diferentes mecanismos de defensa, entre los que se encuentran compuestos químicos como terpenos, fenoles, compuestos nitrogenados como alcaloides y compuestos azufrados, muchos de éstos con propiedades antimicrobianas. Estos metabolitos tienen una función importante en la protección ante depredadores, microorganismos patógenos y herbívoros, así como diversos tipos de estrés abiótico (por ejemplo, exposición UV) (Cowan, 1999). Durante los últimos años, se ha evidenciado que las plantas tienen funciones biológicas y químicas de defensa, por lo que gran variedad de estos compuestos pueden tener actividad biológica sobre hongos (Mazid *et al.*, 2011; Saravanakumar *et al.*, 2015).

Evaluación de actividad biológica de extractos vegetales en hongos fitopatógenos

A los extractos vegetales y compuestos obtenidos se les evalúa su potencial biológico en los diferentes modelos biológicos a nivel *in vitro* e *in vivo*. En su mayoría, los métodos de evaluación biológica sobre hongos fitopatógenos consisten en la exposición del hongo a diferentes concentraciones de extracto en medio agar papa dextrosa (PDA) (Nene, 2002). Los macrométodos generalmente son basados en el análisis de difusión en disco en agar determinando el halo de inhibición en presencia de una concentración determinada del extracto vegetal y empleando como control positivo un fungicida agrícola sistémico. Otro de los métodos comúnmente empleados es el envenenamiento del medio de cultivo en el cual se adiciona una concentración conocida de extracto disuelta en el medio de cultivo junto con un testigo absoluto y posteriormente se adiciona el inóculo del patógeno para evaluar. Los micrométodos permiten determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) de un extracto mediante microplatos estériles; el crecimiento del patógeno se sigue por

la variación de la densidad óptica (DO) de una suspensión de esporas de cada uno de los hongos en una concentración aproximada de $2,5 \times 10^4$ esporas. Se realiza la lectura inicial a los 30 minutos y pasadas las 48 horas a 25 °C. Múltiples reportes en la literatura expresan la acción de un extracto vegetal sobre hongos fitopatógenos con estimulación biológica hasta inhibición total (García *et al.*, 1995; Rojas *et al.*, 2005; Pardo *et al.*, 2011).

Especies vegetales con actividad antifúngica

La actividad biológica de un extracto con respecto a un hongo varía en función de la metodología de preparación (solvente, seco, fresco, tiempo de almacenamiento, etc.), especie botánica, órgano de la planta (raíces, hojas, semillas, etc.), fecha de cosecha, entre otras (Singh, 2014). Hasta esa fecha, se habían explorado más de 6.000 especies de plantas y más de 2.500 especies de éstas (pertenecientes a 235 familias), las cuales, poseen actividad biológica contra algún tipo de plaga y enfermedad; así mismo, este número es bajo conforme se analiza la diversidad total de plantas en el planeta, por lo que algunos autores sugieren que entre 1 y 10 % de las plantas descubiertas y evaluadas tienen potencial de producir metabolitos secundarios biológicamente activos contra plagas y enfermedades (Benner, 1993; Prakash y Rao, 1997; Singh, 2000; Koul y Walia, 2009; Bettioli *et al.*, 2014; Jeyalakshmi *et al.*, 2015)..

CUNDEAMOR (*Momordica charantia*)

Momordica charantia es una planta de uso muy antiguo. Desde el siglo XVI se recomienda para curar erupciones y ulceraciones en la piel y para desinfectar, propiedad que ha sido confirmada experimentalmente con diferentes extractos del fruto. Otras acciones de la planta, demostradas mediante estudios farmacológicos, comprueban su efectividad como antihelmíntico y analgésico (Hernández, 1959). Esta

planta es una enredadera anual, herbácea, con zarcillos, flores solitarias y amarillas unisexuadas, fruto oblongo, tuberculado, anaranjado-amarillento, y semillas de color rojo intenso (Alipi *et al.*, 2009; Fonnegra y Jiménez, 1999; Gupta *et al.*, 2011).

Botánica y fenología

El cundeamor es una planta herbácea, trepadora, casi o completamente lisa y puede alcanzar hasta seis 6 m de altura. Tiene una raíz fibrosa y tallo anguloso (5 ángulos) muy largo, sus ramificaciones son flexibles y con delgados zarcillos de hasta 20 centímetros de largo. Las hojas son de color verde oscuro y su tamaño varía de entre 2,5 a 10 cm de diámetro y de 3 a 8 cm de largo. Están dispuestas de forma alterna, son lobuladas (5 a 7 lóbulos), dentadas y tienen de entre 3 a 7 nervaduras bien marcadas que están aterciopeladas; el ápice de estos lóbulos es obtuso a agudo y los pecíolos son largos (House *et al.*, 2007).

La planta comienza su producción de flores entre los 35 a 55 días después de la siembra y continua por un ciclo de aproximadamente seis meses, aunque esto puede variar dependiendo de la variedad a utilizar, las condiciones ambientales y el manejo que se da al cultivo (FHIA, 2009).

Las flores son amarillas y se producen solitarias, axilares y pedunculadas, con corola y cinco pétalos. Esta planta es monoica y por lo tanto las flores femeninas poseen características que las diferencian de las flores masculinas. La flor femenina es de color amarillo, tiene un ovario ínfero y tres estigmas (de color amarillo verdoso y pálido) que aparecen de manera solitaria, los pedicelos presentan de 2 a 4 cm de longitud, los sépalos son lineares y agudos de aproximadamente 2 mm de longitud por aproximadamente 0,5 mm de ancho; en su totalidad, la flor mide unos 15 mm de largo y tiene un tallo largo con un par de brácteas que tienen apariencias de hojas en medio o hacia la base del tallo (Trujillo, 2013).

Las semillas de esta planta varían en el color, mostrándose blancas cuando la fruta esta inmadura y cambiando a rojo a medida que el fruto madura; la cubierta roja puede removerse revelando una semilla dura de color marrón claro. Su forma es oblonga y su tamaño es de aproximadamente 12 mm de longitud y 5 a 6 mm de ancho (Gopalakrishnan, 2007).

Una vez que la flor ha sido fecundada, la fruta comienza a desarrollarse y crecer; en este periodo se debe acumular materia seca en la fruta (Kalloo y Bergh, 1993).

La efectividad biológica de extractos naturales de *Moringa oleífera* Lam (moringa), *Morinda citrifolia* L. (noni), *Melia azedarach* L. (Paraíso), *Azardachta indica* A. Juss (neem), y *Eucaliptus* spp. (Eucalipto) contra el hongo patógeno *Macrophomina phaseolina* fueron evaluadas por Águila *et al.* (2011) y observaron que la mayor efectividad era lograda por *Moringa oleífera* y *Morinda citrifolia*

MORINGA (*Moringa oleífera*)

La familia Moringaceae, a la cual pertenece *Moringa oleífera* o moringa, es un pequeño grupo dentro del orden de las Brassicales, donde se encuentran especies como el rábano, la col o las alcaparras (APG III). La familia de la lechosa (Caricaceae) es la más próxima a la Moringaceae, compartiendo la característica de tener glándulas en el ápice del pecíolo (Olson y Fahey, 2011).

La moringa es un árbol de crecimiento rápido que puede alcanzar hasta los 12 m de altura, con un promedio de vida de 20 años. Es perennifolio en climas tropicales y de hoja caduca en climas subtropicales, perdiendo las hojas por estrés. Las ramas jóvenes son pilosas, con tricomas de hasta 0,3 mm, erectos, crespos. Hojas

compuestas, alternas, bi-tri imparipinnadas de 15-35 x 8-25 cm, foliolos de 0,4- 2,4 x 0,3-1,2 cm, obovados, haz y envés pilosos, con tricomas de hasta 0,3 mm, erectos y crespos; estípulas interpecioculares de 1,5 – 2,0 mm, de lineares a sublobuladas y brácteas de 1,5 a 2 mm, angostadas, deltadas a lineares (Muhl *et al.*, 2011).

Las flores son bisexuales y se forman inflorescencias racemosas, con cinco sépalos y cinco pétalos de color blanco o cremoso, frecuentemente con pequeños matices rojizos en la base. Poseen cinco estambres fértiles con anteras amarillas y cinco estambres estériles sin anteras. El estilo es delgado. Los peciolos son verdes y que pueden tornarse de color morado, al igual que las vainas frescas (Pérez, 2012).

El fruto es una vaina lineal, que mide de 20 a 45 cm y de 1 a 2 cm de grosor, formada por tres lígulas que si se cortan transversalmente y presenta sección triangular con 12 a 25 semillas, dispuestas longitudinalmente (Foild *et al.*, 1999).

Las semillas son carnosas y aladas, con tres alas de 2,5 a 3 mm de largo, cubiertas de una fina cáscara color café, que al retirarse se observa el endospermo blanquecino y muy oleaginoso (Foild *et al.*, 1999)

ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

El control biológico de enfermedades de plantas constituye una práctica ampliamente difundida y sigue siendo objeto de investigación y desarrollo. Un concepto amplio de control biológico incluye nociones como las de prácticas de cultivo y resistencia a las enfermedades. Desde esta perspectiva, se acepta que es la reducción de la cantidad del inóculo, por acción de uno o más organismos, efectuado naturalmente o por medio de la manipulación del ambiente, del huésped o del antagonista o por la inducción de uno o más antagonistas (Izquierdo *et al.*, 1995). Por otra parte, se encuentra el concepto clásico que se restringe a que control biológico es el uso deliberado de un organismo para controlar a otro; sin embargo, y en relación a este último concepto, es necesario considerar que las interacciones de múltiples variables presentes en el ambiente pueden modificar las interacciones entre los microorganismos y su entorno, muchas de las cuales pueden favorecer o impedir un control biológico efectivo (McSpadden-Gardener, 2002).

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* es el causante de la marchitez del tomate y otros cultivos agrícolas y se ha observado que los fungicidas actuales tienen poca efectividad en su control, por lo que se buscaron alternativas de control biológico utilizando extractos vegetales. Con ese objetivo se colectaron hojas sanas de *Crotonrhann folius* var. *Caudatus* (Euphorbiaceae) y *Waltheria* sp. (Sterculiaceae), se prepararon extractos que se adicionaron a un medio semisólido sobre el cual se sembró el hongo. Se determinó el diámetro de la colonia, se calculó el porcentaje de reducción del crecimiento en relación al testigo y se encontraron diferencias significativas. Los resultados muestran potencial uso de estos extractos en un programa de control del patógeno (Silva *et al.*, 2002).

El uso indiscriminado de plaguicidas en las prácticas agrícolas ha causado contaminación ambiental, problemas a la salud humana y productos agrícolas inseguros. Por tal motivo, se realizó un trabajo en condiciones de campo con el objetivo de estudiar el efecto del extracto vegetal de *Phylastri gillosa* var. *Seríceea*, al 50 % de concentración sobre el hongo fitopatógeno del suelo *Sclerotium rolfsii* Sacc, causante de pudriciones en el cuello y la raíz de plántulas de cultivos susceptibles. Estos extractos mostraron actividad inhibitoria frente a este hongo fitopatógeno (Puente *et al.*, 2005).

García *et al.* (2006) al realizar la evaluación de la actividad antifúngica con los aceites esenciales obtenidos en plantas aromáticas, determinaron mayor actividad biológica con limonaria (*Cymbopogum citratus*) y tomillo (*Thymus vulgaris*). Se realizó la evaluación fitotóxica sobre plantas de tomate de árbol, mostrando que la aplicación sistemática y en altas concentraciones no ocasionó ninguna lesión de las contempladas en las escalas de daño a las plantas evaluadas.

En estudios realizados por Águila *et al.* (2011) con extractos de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), higuera (*Ricinus communis*), moringa (*Moringa oleifera*), noni (*Morinda citrifolia*), neem (*Azadirachta indica*) y paraíso (*Melia azedarach* L.), para determinar su efectividad biológica sobre el hongo *M. phaseolina*. Se demostró que los extractos de paraíso, moringa y neem presentaron las mejores respuestas, con efectividad superior al 60 % en los tres momentos evaluados; además, señalan que moringa ofrece mejores respuestas a partir del 50 % de concentración.

Por su parte, Waheed *et al.* (2016) determinaron que el extracto etanólico de las hojas de algodón de seda (*Calotropis procera*) redujo el crecimiento *in vitro* de *Macrophomina phaseolina*, mientras que Javaid y Saddique (2012) utilizaron extractos metanólicos de hojas y frutos de la trompeta del diablo (*Datura metel*) con resultados muy satisfactorios en el control *in vitro* del hongo.

Salazar-González *et al.* (2019) Evaluaron el efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* del hongo fitopatógeno *Sclerotium rolfsii*, utilizando hojas y frutos de nueve especies vegetales y observaron que los extractos más efectivos para inhibir el crecimiento *in vitro* y evitar la formación de esclerocios del hongo fueron los preparados con pulpa de tapara, con hojas de mataradón y hojas de cundeamor.



METODOLOGÍA

UBICACIÓN DEL ESTUDIO

El estudio se dividió en dos fases, la primera fase está vinculada al Laboratorio que se realizó en la Clínica Universitaria de Diagnóstico Agrícola (CUDA) y la otra fase se desarrolló en la casa de cultivo (Invernadero N° 1) de la Comisión de Investigación del Núcleo de Monagas (Figura 1), ambos espacios ubicados en el Centro de Investigación y Postgrado, *Campus Juanico*, del Núcleo de Monagas de la Universidad de Oriente, localizado en la ciudad de Maturín, estado Monagas, Venezuela; entre las coordenadas 9° 45' LN y 63° 11' LO, a la altitud de 65 m y temperatura promedio anual de 26,37 °C (INE, 2013).



Figura 1. A) Clínica Universitaria de Diagnóstico Agrícola. B) casa de cultivo (Invernadero N° 1) de la Comisión de Investigación del Núcleo de Monagas, donde se desarrolló la investigación.

FASE DE LABORATORIO

Ensayo 1. Aislamiento y purificación de *Macrophomina phaseolina* a partir de plantas afectadas de flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) con síntomas de pata prieta

Se colectaron plantas de flor Jamaica que presentaban síntomas de marchitez, pudrición radicular y pudrición gris del tallo, los cuales son síntomas asociados al patógeno (Raut, 1983). El aislamiento, identificación del agente causal y comprobación de los Postulados de Koch se realizaron en la Clínica Universitaria de Diagnóstico Agrícola (CUDA) del Departamento de Ingeniería Agronómica, Escuela de Ciencias del Agro y del Ambiente, Núcleo de Monagas, Universidad de Oriente, ubicada en el Centro de Investigación y Postgrado, *Campus* Juanico, Maturín, estado Monagas, Venezuela.

Aislamiento e identificación del agente causal

El agente causal se aisló a partir de plantas de flor de Jamaica sintomáticas provenientes del jardín familiar ubicado en Maturín, municipio Maturín del estado Monagas, Venezuela, sembradas en suelo con las características del Cuadro 1. Las plantas presentaron síntomas de flacidez y clorosis generalizada. En la base del tallo se observó ennegrecimiento, resquebrajamiento, puntuaciones negras (picnidios) en la corteza y la presencia de microesclerocios sub-epidérmicos que le daban aspecto carbonoso.



Figura 2. A) Planta con síntomas de la enfermedad pata prieta. B) Tallo con microesclerocios en los tejidos internos

Cuadro 1. Características del suelo donde fueron extraídas las plantas de flor de Jamaica

| Determinación | Valor | Método |
|--|----------------|-------------------|
| % de humedad | 1,5936 | Incineración |
| Textura | Franco arenosa | Bouyoucos |
| Materia orgánica (%) | 18,14 | walkley-black |
| Fósforo (ppm) | 38 | Bray N° 1 |
| Aluminio (me/100 g) | 2,8 | KCl 1,0 N |
| Calcio (me/100 g) | 0,4 | Absorción atómica |
| Acidez intercambiable (me/100 g) | 0,4 | KCl 1,0 N |
| pH (agua 1:1) | 5.95 | Potenciómetro |
| CE (ds/cm) | 0,0826 | |
| CIC (me/100 g) | 0.4 | |
| CE <1 suelos libres de sales | | |

Se procedió a cortar la planta a la altura del cuello con ayuda de una segueta. Se tomó una porción basal del tallo de 20 cm que fue sometida a desinfección mediante el siguiente procedimiento:

1. Se lavó con agua y jabón (con un cepillo se limpió suavemente la corteza).
2. La porción del tallo se sumergió, por dos minutos, en una solución de 10 % de cloro comercial (3,5 % de hipoclorito de sodio).
3. Se enjuagó el fragmento del tallo con agua destilada estéril por un minuto, tres veces consecutivas.
4. Se dejó secar, sobre papel absorbente en la cámara de flujo laminar.
5. Después del secado, se eliminó cuidadosamente la corteza, dejando la epidermis desnuda.
6. Se realizaron cortes profundos y perpendiculares, tomando pequeñas porciones de tejido que se colocaron semienterrados en cápsulas de Petri con medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA).
7. Se preparó el medio de cultivo de la siguiente manera. Se agregaron 21g de a papa dextrosa (PDA) comercial, marca Hopebio®, en erlenmeyer de 1000 ml y se agregaron 500 ml de agua destilada. La mezcla se mantuvo en agitación

constante, a $90^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, en un calentador-agitador Orbital PC-351, hasta su completa homogenización. Posteriormente se esterilizó el medio en autoclave Market Forge por 25 minutos, a 15 PSI y 121°C . Una vez cumplido el proceso, se dejó enfriar hasta 50°C para luego realizar el vertido en capsulas de Petri.

Las colonias que se desarrollaron en las capsulas de petri, con aspecto algodonoso, de pigmentación oscura, características del género *Macrophomina* reportadas por Ortegon *et al.* 1993, fueron transferidas a capsulas de Petri independientes, con agar agua, para lograr la purificación del patógeno. Posteriormente, se observó en el microscopio óptico el micelio y los microesclerocios, formados por el hongo para confirmar la identificación del hongo fitopatógeno *Macrophomina*, mediante la clave taxonómica de Barnett y Hunter (1998).

Comprobación de los postulados de Koch

La patogenicidad del hongo aislado de las plantas sintomáticas se verificó mediante la inoculación del hongo aislado en plántulas sanas, se llevó a cabo la inoculación del patógeno en plántulas sanas de flor de Jamaica.



Figura 3. Establecimiento de plántulas para la determinación de la capacidad de infección del hongo aislado del material de campo

Las semillas se colocaron en contenedores de cartón para su germinación a una profundidad de 1 cm, posteriormente fueron transferidas las plántulas a vasos individuales con volumen de 60 ml de sustrato previamente esterilizado. Las plantas fueron inoculadas a los 20 días después de la siembra.

El inóculo se preparó bajo condiciones asépticas, a partir de varios cultivos puros de *M. phaseolina* sembrados en cápsulas de Petri e incubados a 27 °C y fotoperiodo de 12 hr luz durante siete días. A cada cápsula de Petri con los cultivos puros se les agregó 25 ml de agua, luego se procedió a licuar, para obtener la solución del inóculo planteada por Jiménez *et al.* 2021.

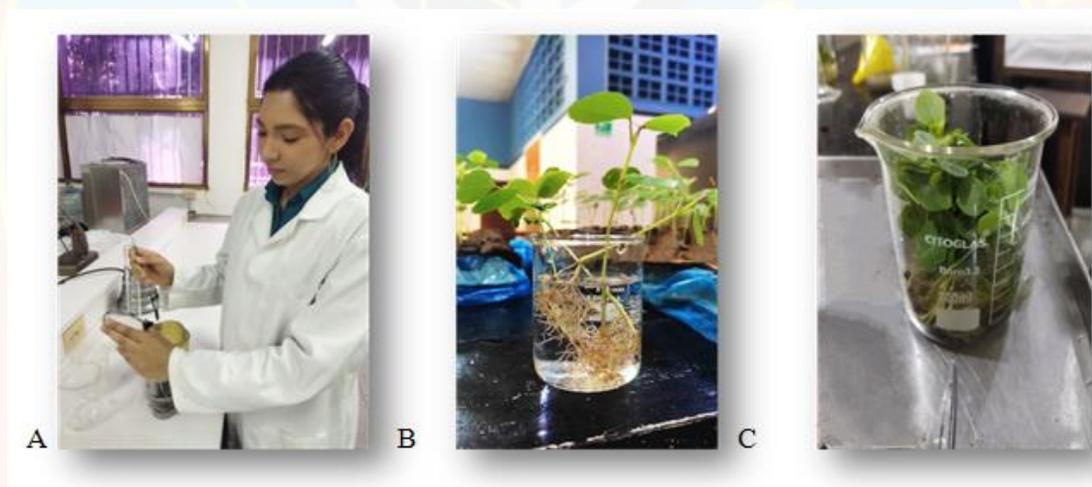


Figura 4. Proceso de preparación de la solución del inóculo. B) tratamiento testigo. C) inmersión de plántulas en la solución del inóculo

La inoculación de las plántulas se realizó mediante la técnica realizada por (Twizeyimana *et al.* 2012) la se basa en la podas de las raíces adventicias y punción de tallo mediante agujas de disección. Luego se sumergieron por 30 min en la solución del inóculo. Cumplido el tiempo, se procedió a extraer las plántulas de la solución y posteriormente fueron sembradas. El testigo estuvo representado por plántulas sin

inoculación (con la adición de 20 ml de agua estéril sin el patógeno), las plántulas se mantuvieron en la cámara de crecimiento a 27 °C y fotoperíodo de 12 hr luz durante dos semanas. Se realizaron observaciones diarias.

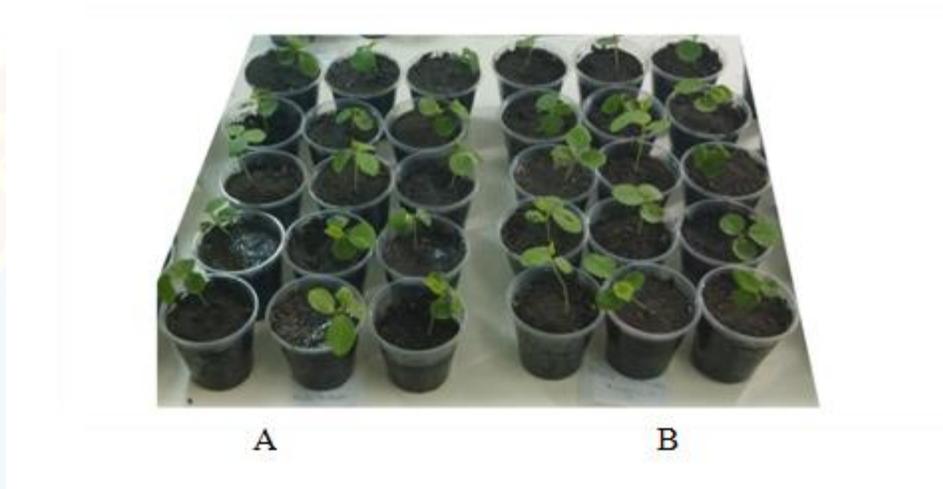


Figura 5. Establecimiento del ensayo. A) Plantas sin inoculo, b). Plantas inoculadas

Ensayo 2. Determinación del medio de cultivo más adecuado para multiplicar el hongo *Macrophomina phaseolina*, entre medios de cultivos artesanales (agar papa, agar zanahoria, agar harina de avena, agar harina de maíz, Czapek) y medios de cultivo comerciales (Agar Papa Dextrosa y Agar Czapek).

El ensayo se realizó con la finalidad de determinar el medio de cultivo más efectivo para multiplicar el hongo mediante la evaluación de las variables diámetro, área de crecimiento, velocidad y tiempo de llenado de la colonia del patógeno.

Cuadro 2. Medios de cultivo artesanal y comercial en donde se evaluó el desarrollo de *Macrophomina phaseolina*.

| Tratamientos | Caracterización | |
|--------------|--------------------------------|--------|
| | Descripción | Código |
| T1 | Agar Papa Dextrosa Artesanal | PDAA |
| T2 | Agar Zanahoria Artesanal | AZAA |
| T3 | Agar Harina de Avena Artesanal | AHAA |
| T4 | Agar Harina de Maíz Artesana | AHMA |
| T5 | Agar Czapek artesanal | CZKA |
| T6 | Agar Czapek Comercial | CZKC |
| T7 | Agar Papa Dextrosa Comercial | PDAC |

Los medios de cultivo se prepararon de la siguiente manera:

Agar papa dextrosa artesanal

Se lavaron las papas, eliminando la piel y cortándolas en cubos pequeños. Se tomaron 200 g de los cubos y se hirvieron en un litro de agua destilada durante 15 min, para finalmente filtrarlos en gasa doble sobre un colador. El líquido se completó a un litro con agua destilada. A la decocción se le adicionaron 20 g de agar-agar comestible y 20 g de azúcar de mesa, luego se mezcló homogéneamente mediante agitación magnética.

Agar zanahoria dextrosa artesanal

Se lavaron concienzudamente las zanahorias, quitándoles la piel y cortándolas en cubos pequeños; se pesaron 200 g del material cortado y se colocaron a hervir en un litro de agua destilada durante media hora. Terminado el tiempo, se filtró el preparado a través de una gasa. El líquido obtenido se completó con agua destilada hasta llegar a un litro. A la decocción se le adicionaron 20 g de agar-agar y 20 g de azúcar de mesa.

Agar harina de avena artesanal

Se procedió a hervir, a temperatura media y agitación constante, 30 g de avena en un litro de agua destilada por espacio de 30 min. Se le añadió 20 g de azúcar, las sales $\text{SO}_4\text{Mg}_7\cdot\text{H}_2\text{O}$ (1 g), $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ (1,5 g) y agar-agar comestible (20 g). Se calentó hasta disolver completamente el agar.

Agar harina de maíz artesanal

Se agregaron 60 g de la harina de maíz en un litro de agua, calentando a fuego lento durante 10 min, agregando posteriormente 20g de agar comestible y 20 g de azúcar.

Agar Czapek artesanal

Se procedió a disolver 2 g de Nitrato sódico; 0,5 g de Cloruro potásico; 0,5 g de Sulfato magnésico; 0,01 g de Sulfato ferroso; 1 g de fosfato dipotásico; 30 g de azúcar y 15 g de agar comercial (grado comestible), en un litro de agua destilada. Se calentó y agitó hasta su completa disolución.

Agar Czapek comercial

Se agregaron 50 g del medio Czapek Hopebio® en un litro de agua destilada. Se mezcló y calentó con agitación frecuente.

Agar Papa Dextrosa (PDA) comercial

Se agregaron 46g de Agar Papa Dextrosa marca Hopebio® en un litro de agua destilada, se mezcló bien, se calentó con frecuente agitación.

Posteriormente, cada uno de los medio de cultivo se mezcló homogéneamente y se llevó a autoclave para la esterilización por 25 minutos, a 15 PSI, a temperatura de 121 °C. Finalmente se dejó enfriar hasta 50 °C para luego ser servido en capsulas Petri estériles y se le adicionaron cuatro gotas de ácido láctico para acidificar el medio y evitar contaminación por bacterias; las capsulas de petri preparadas se conservaron dentro de la cámara de flujo laminar.

La siembra y multiplicación del hongo en los medios de cultivo se realizó con un disco de 1 cm² del hongo desarrollado en cultivo puro, en capsulas de petri con PDA. El disco se extrajo del borde de la colonia de capsulas de petri del hongo de 15 días de edad, con un cortador metálico estéril. Los discos fueron transferidos y colocados en el centro de las capsulas de petri contentivas de los distintos medios de cultivos.

Evaluaciones

Se cuantificó el diámetro y el área de la colonia diariamente, hasta el llenado total de la capsulas de petri de los medios. Como referencia o testigo se tomó el tratamiento de Agar Papa Dextrosa Comercial (PDAC).

El diámetro promedio de crecimiento corresponde a la distancia (cm) entre el disco sembrado y el respectivo avance del micelio medido, determinado con una cinta métrica rígida, en dos direcciones perpendicular de cada capsulas de petri. El diámetro promedio se determinó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Diámetro promedio} = \frac{\text{diámetro vertical} + \text{diámetro horizontal}}{2}$$

El área colonizada por el hongo se calculó diariamente, utilizando la fórmula:

$$A = \pi * \frac{d^2}{4}$$

Dónde:

A: Área de la colonia (cm²)

d: Diámetro promedio

Diseño y análisis estadístico

El diseño experimental utilizado fue de bloques al azar, con seis tratamientos y cuatro repeticiones. Cada unidad experimental estuvo representada por cinco capsulas de Petri (Figura 2) inoculadas con un disco del hongo. Los tratamientos estuvieron representados por los medios de cultivo a comparar.

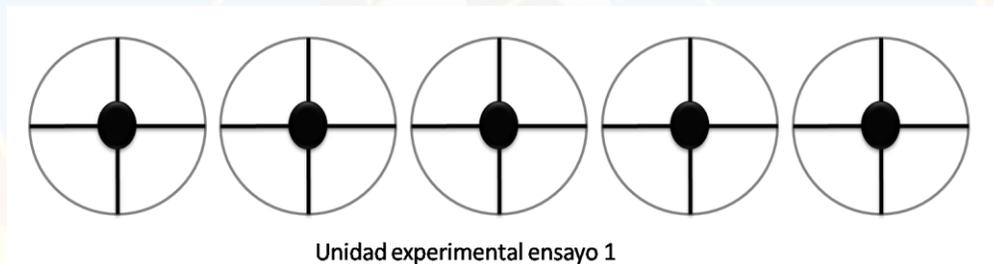


Figura 6. Representación de la unidad experimental del ensayo, compuesta por cinco capsulas de Petri.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos, fueron explorados inicialmente por las pruebas de Shapiro Wilk y de Bartlett para corroborar el cumplimiento de los supuestos de normalidad de los errores y homogeneidad de varianzas. Seguidamente, fueron analizados mediante

procedimiento ANAVA y las diferencias significativas entre tratamientos fueron interpretadas por la prueba de Scott & Knott al 5 % de probabilidad.

Ensayo 3. Evaluación del grado de inhibición que ejercen los extractos acuosos de cundeamor y moringa en el control del hongo *in vitro*

Se realizó un segundo experimento basado en la metodología descrita por Salazar *et al.* (2019), en el cual se utilizaron hojas de cundeamor y hojas de moringa para obtener extractos vegetales que fueron evaluados para determinar su eficacia en el control del hongo fitopatógeno.

Elaboración de los extractos vegetales

Ambas especies se recolectaron en el municipio Maturín e identificadas taxonómicamente en el Herbario de la Universidad de Oriente (UOJ). Las muestras de cundeamor y moringa estaban constituidas por hojas sanas, adultas y sin daños físicos, fueron secadas al aire en condiciones del laboratorio y molidas. Posteriormente se colocaron a hervir durante 15 min, para luego filtrarlas a través de dos capas de gasa para obtener el extracto acuoso correspondiente (solución madre o 100 %). También se prepararon diluciones al 25, 50 y 75 % a partir de la solución madre de cada extracto.

Medios de cultivo con extractos vegetales

A los extractos filtrados se les agregó 23 g de agar comercial y 20 g de azúcar de mesa y se completara a 1 L con agua destilada y la dilución del fungicida comercial (Benomil) al cual se le agregó 0,1 g. Posteriormente los extractos se mantuvieron en agitación constante, a $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, en un calentador-agitador Orbital PC-351, hasta su completa homogenización y luego envasados en erlenmeyer de 250

ml, previamente identificados y esterilizados en autoclave Market Forge, por 15 min a 15 PSI y 121 °C.

Preparación del testigo: PDA sin extracto

Se lavaron las papas, eliminando la piel y cortándolas en cubos pequeños. Se tomaron 200 g de los cubos y se hirvieron en un litro de agua destilada durante 15 min, para finalmente filtrarlos en gasa doble sobre un colador. El líquido se completó a un litro con agua destilada. A la decocción se le adicionaron 20 g de agar-agar comestible y 20 g de azúcar de mesa,

Luego se mezcló homogéneamente en una plancha de agitación magnética y se llevó al autoclave marca Harvey para esterilizar el medio por 25 minutos, a una presión de 15 PSI y una temperatura de 121 °C. Posteriormente se dejó enfriar hasta 50 °C para luego ser servido en capsulas Petri estériles en las que se habían colocado cuatro gotas de ácido láctico a fin de evitar contaminación. Las capsulas de petri preparadas se conservaron, selladas, en la cámara de flujo laminar.



Figura 7. Hojas sana de moringa y de cundeamor. B) Proceso de tritución para la obtención del material seco. C) Decocción del material procesado

Cuadro 3. Extractos a evaluar para el control *in vitro* de *Macrophomina phaseolina*

| Tratamientos | Caracterización | | |
|--------------|-----------------|---------------------------|---------------|
| | Código | Extracto | Concentración |
| T1 | MO25 | Moringa | 25 |
| T2 | MO50 | Moringa | 50 |
| T3 | MO75 | Moringa | 75 |
| T4 | MO100 | Moringa | 100 |
| T5 | CU25 | Cundeamor | 25 |
| T6 | CU50 | Cundeamor | 50 |
| T7 | CU75 | Cundeamor | 75 |
| T8 | CU100 | Cundeamor | 100 |
| T9 | PDAE | Testigo: PDA sin extracto | |
| T10 | PDAF | Testigo: PDA fungicida | |

Evaluaciones

Se evaluó el porcentaje de inhibición micelial (%IM) con la fórmula planteada por Ochoa *et al.*, (2012).

$$\% \text{ IM} = \frac{\text{crecimiento micelial del testigo} - \text{crecimiento micelial del tratamiento}}{\text{crecimiento micelial del testigo}} * 100$$

Análisis estadístico

Se utilizó el diseño de bloques al azar, con arreglo de cuatro repeticiones para un total de 40 unidades experimentales (Cuadro 2). La unidad experimental estaba constituida por cinco capsulas de Petri.

Los datos obtenidos fueron analizados inicialmente por las pruebas de Shapiro Wilk y de Bartlett para corroborar el cumplimiento de los supuestos de normalidad de los errores y homogeneidad de varianzas. Los datos obtenidos en la evaluación de los

extractos vegetales, fueron analizados por procedimiento ANAVA con estructura factorial. Fueron interpretadas por contraste testigo versus los extractos evaluados y donde se presentó interacción significativa, se aplicó desglosamiento y análisis de regresión y determinación del punto mínimo de inhibición.

En condiciones de casa de cultivo

Ensayo 1. Establecimiento del porcentaje de inhibición que ejercen los extractos acuosos de cundeamor y moringa en el crecimiento del hongo *in vivo*.

Se desarrolló un tercer ensayo para evaluar el control ejercido por los extractos de cundeamor y moringa *in vivo*. Estos extractos de moringa y cundeamor se evaluarían a nivel de invernadero, en tres concentraciones cada uno, en el caso del extracto de cundeamor al 25%. Se utilizaron tres diluciones: la que tuvo el mejor control *in vitro*, una dosis inferior y otra superior, al igual que en el caso de moringa al 100 %. Se utilizaron también los siguientes testigos: un testigo inoculado con agua y sin recibir extractos, otro testigo inoculado con el hongo y sin recibir extracto.

Para este ensayo, se establecieron plántulas de Jamaica en una casa de cultivo, obtenidas a partir de semilla en bandejas de vivero de 162 x 1,75 para un total de ocho bandejas de vivero, previamente desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio y se utilizó sustrato compuesto por tierra negra de vivero, materia orgánica y arena (1:1:1 p/p). El trasplante se realizó cuando las plantas obtuvieron cuatro hojas verdaderas a los 35 días después de la siembra. Después de la inoculación, las plántulas fueron trasplantadas en bandejas de vivero nuevas, con sustrato esterilizado en autoclave por 25 min a 15 PSI.

La inoculación se realizó mediante la técnica de punción del tallo con agujas de disección y de inmersión de las raíces de las plántulas, a las que se les corto las

puntas con tijeras, en una solución que contenía el inóculo (Acuña, 2019). El periodo de inmersión fue de 30 min. Cumplido el tiempo, se procedió a extraer las plántulas de la solución y posteriormente fueron sembradas en bandejas de vivero de 162 alvéolos.

El experimento se estableció con diseño de bloques al azar con arreglo factorial $(2 \times 6) + 2$ donde se evaluaron seis extractos (Cuadro 4), con cuatro repeticiones y 52 unidades experimentales. Cada unidad experimental estuvo representada por 32 alvéolos, contentivos de plantas inoculadas (Figura8). Solo las plantas centrales (oscuras) fueron evaluadas.

Cuadro 4. Extractos a evaluar para el control de *Macrophomina phaseolina* in vivo.

| Tratamientos | Código | Caracterización | |
|--------------|--------|-----------------|-------------------------------------|
| | | Extracto | Concentración (%) |
| T1 | MOA | Moringa | 37.5 |
| T2 | MOM | Moringa | 75 |
| T3 | MOB | Moringa | 100 |
| T4 | CUA | Moringa | 15.5 |
| T5 | CUM | Cundeamor | 25 |
| T6 | CUB | Cundeamor | 50 |
| T7 | TIS | Testigo | Inoculado con el hongo sin extracto |
| T8 | TSS | Testigo | Sin inoculación sin extracto |

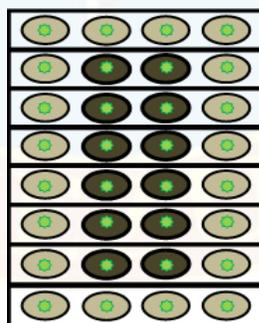


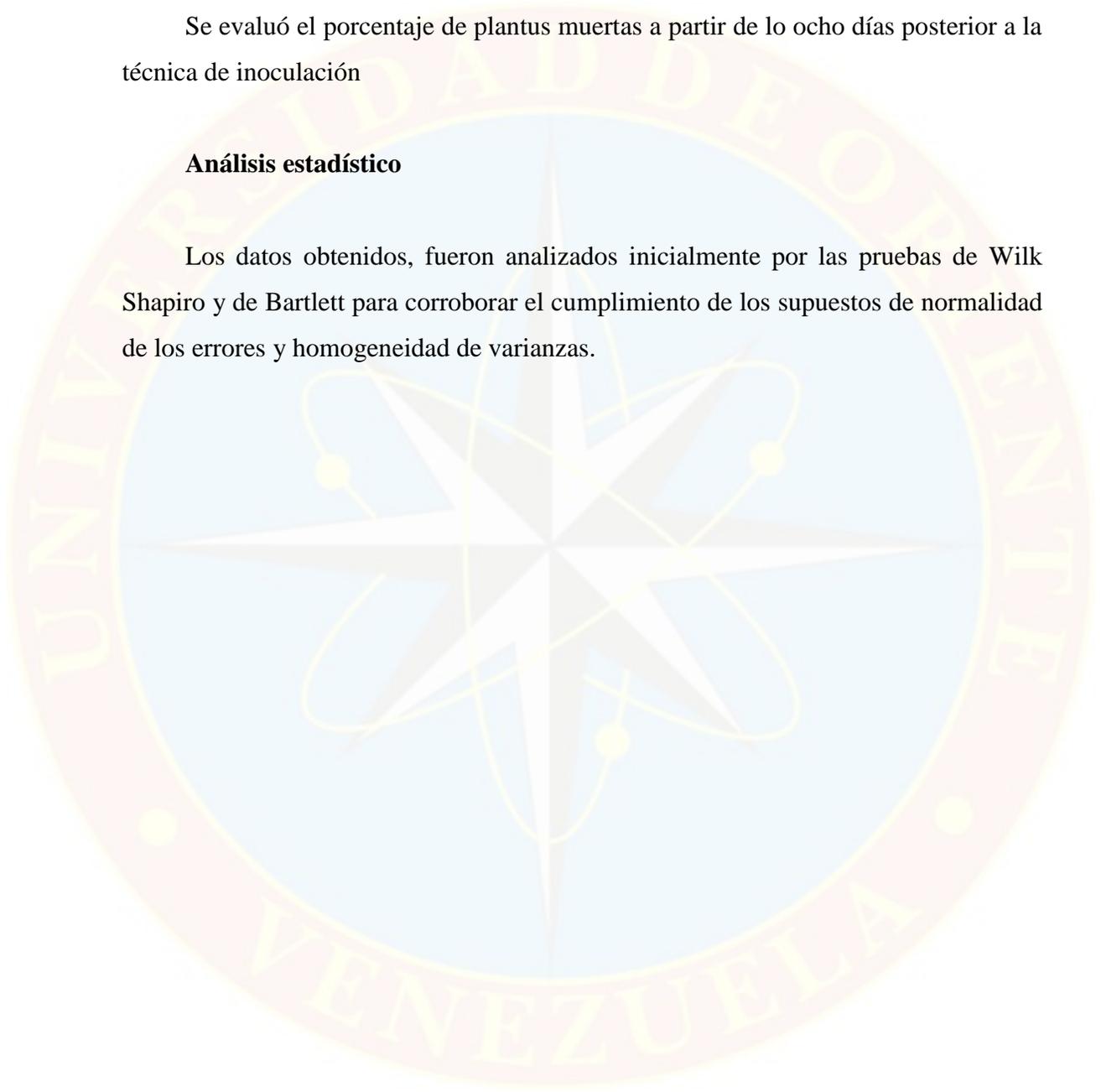
Figura 8. Representación de la unidad experimental del ensayo de evaluación de extractos para el control de *Macrophomina phaseolina* in vivo, compuesta por 32 plantas.

Evaluaciones

Se evaluó el porcentaje de plantas muertas a partir de los ocho días posteriores a la técnica de inoculación

Análisis estadístico

Los datos obtenidos, fueron analizados inicialmente por las pruebas de Wilk Shapiro y de Bartlett para corroborar el cumplimiento de los supuestos de normalidad de los errores y homogeneidad de varianzas.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parte de laboratorio. Ensayo 1. Aislamiento y purificación del hongo *Macrophomina phaseolina* a partir de plantas afectadas de Flor de Jamaica

Los resultados fueron de manera satisfactorias ya que cada aislados presentaron las caracterizas deL género *Machophomona* reportadas por ortegon *et al.* 1993.

Las colonias desarrolladas en PDA presentaron crecimiento micelial variable, tanto en coloración como en densidad. El micelio presentó tres tipos de coloración: blanco, gris y negro. Estas diferencias también han sido constatadas entre cepas del patógeno proveniente de diferentes tejidos de una misma planta (Mihail y Taylor 1995); sin embargo, el patrón de crecimiento fue similar en las colonias. En estudios de variabilidad de aislamiento realizado por Espinoza 2015 reportó que el hongo tuvo tres tipos de colonias, similares a las colonias del presente trabajo de investigación. Esta variabilidad también es reportada por Babu *et al.* (2010), quienes afirman que *M. phaseolina* es una especie muy heterogénea con respecto a su morfología, fisiología, ecología y características genéricas.

Los aislados presentaron tres patrones de crecimiento micelial con cierta diferenciación específicamente en la cantidad del micelio aéreo presente (escaso, ligero y abundante). Leyva-Mir *et al.* (2015) reportan que el patógeno presento micelio aéreo, denso y veloso de coloración de gris a negro. Resultados similares fueron obtenidos por Bedwell (2005) en el cual presentaron diferencias en el color del micelio y densidad micelial.

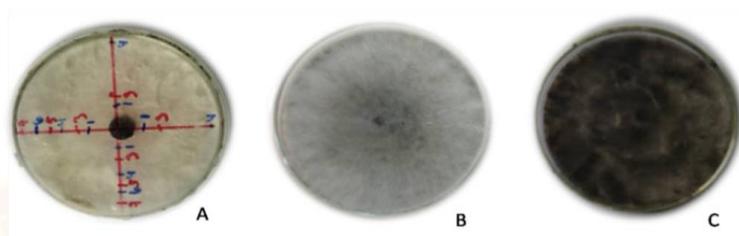


Figura 9. Aislados de *Macrophomina* con 15 días de crecimiento en PDA, A) Micelio aéreo color blanco. B) Micelio aéreo color gris. C) Micelio aéreo color negro.

A nivel morfológico, las características cualitativas de los aislados de *M. phaseolina* observados con magnificación de 40x. Los microesclerocios fueron de forma esférica e irregular, tamaño variado, negros, lisos y duros, similares a los descritos por Ortigón *et al.*, (1993) y Smits y Noruega (1988).

No se observaron picnidios en el medio, solo en la superficie del tallo de la planta que presentaba síntomas de la enfermedad. Los picnidios eran solitarios, globosos, negros y con ostiolo corto. Los conidios eran hialinos, cilíndricos o elipsoidales. Estos mismos resultados los reportaron Leyva-Mir *et al.* (2015).

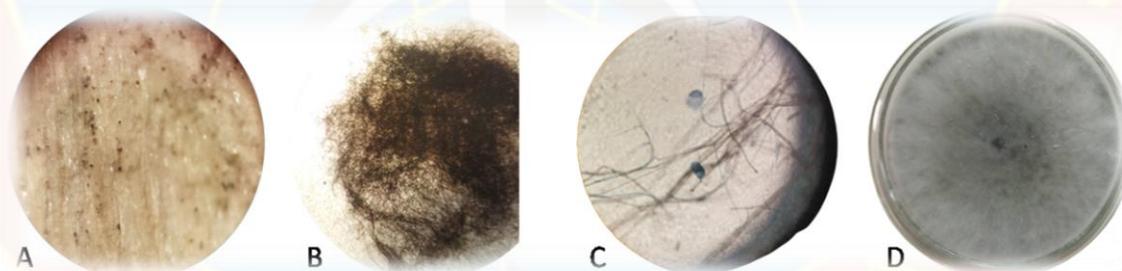


Figura 10. *Macrophomina phaseolina*. A) Presencia de esclerocios irregulares y negros desarrollados en la tallo de la planta de flor de Jamaica. B) Micelio del hongo en medio de cultivo PDA. C) Esclerocios e hifas D) Colonia de 15 días de crecimiento en medio de cultivo PDA.

El color oscuro de la colonia se debe a la producción de esclerocios, los cuales son de color negro y oscurecen el micelio que inicialmente es de color blanco. Es posible en cepas que producen mayor cantidad de esclerocios, el micelio parezca más

oscuro, lo cual se fue observado en varios de los aislamientos. Los resultados del presente trabajo coinciden parcialmente con los de Beas-Fernández *et al.* (2006) quienes reportan, para dos cepas del hongo aisladas de ajonjolí que crecieron en medio PDA, poco desarrollo de micelio aéreo, color gris del micelio y alta producción de microesclerocios. A su vez Sulcra y Franco (2006) evaluaron el crecimiento del hongo y reportaron la formación de colonias de aspecto algodonoso, inicialmente blanco que luego se tornaron de un color verde olivo, el reverso de la colonia de color negro.

Parte de laboratorio. Ensayo 2. Determinación del medio de cultivo más adecuado para multiplicar el hongo *Macrophomina phaseolina*, entre medios de cultivos artesanales (agar papa, agar zanahoria, agar harina de avena, agar harina de maíz, Czapek) y medios de cultivo comerciales (Agar Papa Dextrosa y Agar Czapek)

Crecimiento de las colonias

A partir del tercer día después de la siembra, el micelio empezó a adquirir coloraciones grises y formación de microesclerocios, especialmente en los medio de cultivo PDAC, PDAA, AZAA, CZKC y CZKA. La coloración oscura es mayor en estos medios en comparación con los medios de cultivo AHMA y AHAA.

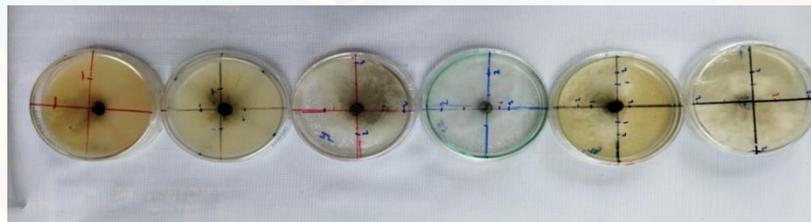


Figura 11. Crecimiento micerial de *maccrophomina* al tercer día posterior a la siembra en los diferentes medios de cultivo

A los 6 días posteriores a la siembra, el hongo en los medios de cultivos CZKC y AZAA empezó a presentar colocación verde oscura. Sin embargo, en algunas

capsulas el patógeno aún tenía apariencia algodonosa de color blanco. En los medios de cultivos PDAC y PDAA, el micelio aéreo era oscuro.

A partir del día 9 hasta el día 15 posterior a la siembra, el patógeno presentó las mismas características. En los medios de cultivo CZKC, CZKA, PDAC, PDAA Y AZAA el patógeno presentó abundante micelio oscuro, con presencia de esclerocios, a diferencia del desarrollo en los medios AHMA y AHAA, donde el micelio del hongo es escaso y de color oscuro.

Diámetro de la colonia

El análisis de varianza del diámetro de crecimiento en el cuadro 5 permite observar que en todos los medios de cultivo hubo crecimiento y diferencias altamente significativas desde el tercer día hasta el sexto día y diferencias significativas desde el noveno hasta el día 15 de evaluación. Se observa también que los coeficientes de variación son bajos y se reducen a medida que transcurre el período de evaluación, desde 15,98 % en el día 3 hasta 7,49 % en el día 15.

Cuadro 5. Resumen del análisis de varianza del diámetro de crecimiento en los medios de cultivo más adecuado para multiplicar el hongo *Macrophomina phaseolina*, entre medios de cultivos artesanales medios de cultivo comerciales

| Cuadrados medios | | | | | | |
|-------------------------|----|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| FV | gl | 3d | 6d | 9d | 12d | 15d |
| Medio de cultivo | 6 | 8,34** | 4,97** | 2,00* | 1,51* | 1,46* |
| Bloque | 3 | 1,14 ^{ns} | 0,50 ^{ns} | 0,37 ^{ns} | 0,31 ^{ns} | 0,37 ^{ns} |
| Error | 18 | 0,65 ^{ns} | 0,33 ^{ns} | 0,33 ^{ns} | 0,32 ^s | 0,32 ^s |
| CV (%) | | 15,98 | 8,47 | 7,73 | 7,51 | 7,49 |
| W (Wilk Shapiro) | | 0,88 ^{ns} | 0,96 ^{ns} | 0,95 ^{ns} | 0,95 ^{ns} | 0,93 ^{ns} |
| P (Bartlett) | | | | >0,05 | | |

La comparación de los promedios mediante la prueba de Scott & Knott al 5 % de probabilidad para la variable diámetro de la colonia se puede observar en la Figura 12. En todos los medios de cultivo hubo crecimiento del hongo *Macrophomina phaseolina*. En las evaluaciones realizadas al tercer día después de la siembra se observa que el hongo tuvo mayor diámetro de crecimiento en los medio Czapek Comercial (CZKC), Agar Papa Artesanal (PDAA), Agar Zanahoria (AZAA) y Agar Harina de Maíz (AHMA), sin diferencias estadísticas entre ellos y superiores al resto de los tratamientos.

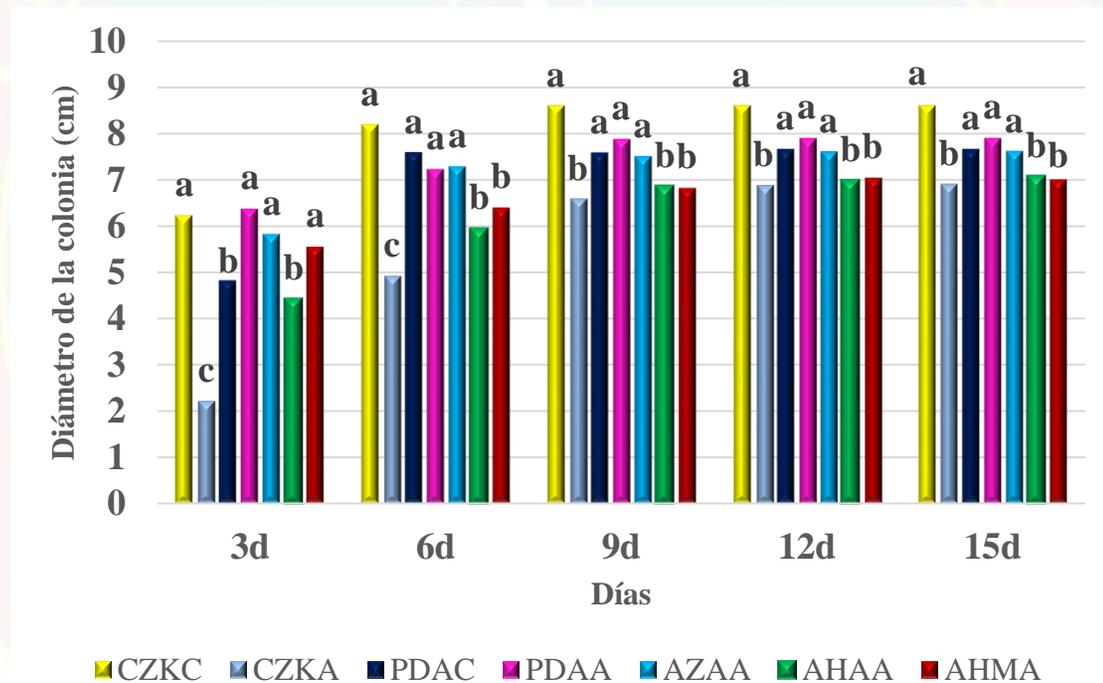


Figura 12. Diámetro de crecimiento de *Macrophomina phaseolina* en los medios de cultivos artesanales y comerciales, evaluados desde el día 3 hasta el día 15 posterior a la siembra. Estadística comparativa (Media \pm CO) del diámetro de micelio, comparado en diferentes medios de cultivo.

El crecimiento del diámetro de la colonia de *M. phaseolina* oscila entre 2,21 cm en el medio de cultivo CZKA y 6,38 cm en el medio de cultivo PDAA el día tres posterior a la siembra. Este rango de crecimiento es comparable con datos obtenido

por Beas-Fernández *et al.*, (2006) y Mahdizadeh *et al.*, (2011), quienes reportaron diámetros de crecimiento que oscilan entre 1,68-2,23 cm por día en PDA y Rayatpanah *et al.*, (2009) reportó diámetro de 2,06-2,53 cm en el lapso de 24 h.

Al sexto día después de la siembra, al igual que el día 9 y el día 15, los medios de cultivo que permitieron el mayor desarrollo de la colonia de *M. phaseolina* fueron en los medios de cultivo Agar Czapek Comercial (CZKC), Agar Papa Dextrosa Comercial (PDAC), Agar Papa Dextrosa Artesanal (PDAA) y Agar Zanahoria Artesanal (AZAA), sin diferencias estadísticas entre ellos, con diámetro que oscilaba entre 7,90 y 8,59 cm. El menor promedio de diámetro (6,90 cm) el cual se observa en el medio CZKA. Esta similitud en el crecimiento de hongos en diferentes medios de cultivo fue observado por Echeverría *et al.*, (2015) en *Alternaria padwickii* en Agar Zanahoria (AZ), el crecimiento promedio de fue de 1,29 cm, sin diferencias significativas en comparación con el medio de cultivo PDA que fue de 1,23 cm.

Según expresan Hernández y Rosón (2005), la composición del medio de cultivo puede influir en el desarrollo y esporulación de los hongos debido a que estos requieren fuentes de carbono, nitrógeno, azufre, hierro, sodio y potasio para su metabolismo; sin embargo, no hubo presencia de picnidios en los distintos medios de cultivo. Leyva-Mir *et al.* (2015) en la caracterización morfológica de *macrophomina* no observó la formación de picnidios en medio de cultivo PDA.

En los medios de cultivo CZKC, PDAC, PDAA, AZAA, el hongo presenta un rango de crecimiento similar, en cambio, en los medios de CZKA, AHMA y AHAA el hongo presenta menor diámetro de crecimiento y micelio aéreo escaso. Está demostrado que el medio de cultivo ejerce efecto importante sobre el crecimiento y secreción de metabolitos en hongos, especialmente en patógenos del suelo (Westphal *et al.*, 2021); además, se ha demostrado que existe producción diferencial de

metabolitos cuando el hongo es crecido en medios enriquecidos con suplemento de tejido del hospedero (Vander Molen *et al.*, 2013).

Las colonias de *Macrophomina phaseolina* varían su color con el transcurso del tiempo; las colonias van de gris a negro. También presentan producción abundante de micelio aéreo con esclerocios. En investigaciones realizadas por Martínez y Laurentin (2012) se observó que a las 24 horas después de la siembra en el medio de PDA el micelio es de color blanco y a partir de las 36 horas empieza a tornarse de coloración oscura. En el caso de los medio de cultivo artesanales como AHAA y AAMA no observaron las estructuras del patógeno ya que no son medios de cultivo transparentes como los medios comerciales PDAC y CZKC. Tanmy (2018) señala que *M. Phaseolina* produce colonias negras en el medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) crece a temperaturas que oscilan entre los 15 y los 40 °C; sin embargo, el crecimiento óptimo se produce a los 30-35 °C.

En cuanto al análisis de varianza presentado en el Cuadro 6 permite observar diferencias significativa al 5% de probabilidad entre medios de cultivo para la variable de área de crecimiento, sin diferencia estadística entre bloques, con coeficiente de variación de 29,9 reportando homogeneidad entre datos.

Cuadro 6. Análisis de la varianza para el área de crecimiento de la colonia de *Macrophomina phaseolina* en los medios de cultivo artesanales y medios de cultivos comerciales.

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------------|----------|-----|---------|------|----------------------|
| Medios de cultivo | 8621,01 | 6 | 1436,83 | 11,6 | <0,0001** |
| bloque | 595,42 | 3 | 198,47 | 1,6 | 0,1921 ^{ns} |
| Error | 16107,59 | 130 | 123,9 | | |
| Total | 25324,03 | 139 | | | |

R²: 0.36; R² Aj: 0,32; CV: 28,9

La comparación de los promedios resultantes presentados en la figura 13 mediante la prueba de Scott & Knott al 5% de probabilidad para la variable de área de crecimiento. El mayor área de crecimiento micelial corresponde al medio de cultivo Czapek Comercial (CZKC) reportando un área de 51,77 el cual es diferente a los demás, seguido de la agar papa dextrosa artesanal (PDAA) con un área de 44,85 similar a los medios de cultivo agar papa dextrosa comercial (PDAC), agar zanahoria (AZAA) y con menor área en los medios de cultivos agar harina de avena artesanal (AHAA) y agar harina de maíz artesanal (AHMA) iguales entre sí. Estos valores concuerdan con el diámetro de crecimiento micelial (Figura 4) en donde el CZKC presentó el mayor diámetro de (8,59 cm), diferente estadísticamente a todos los otros medios de cultivo.

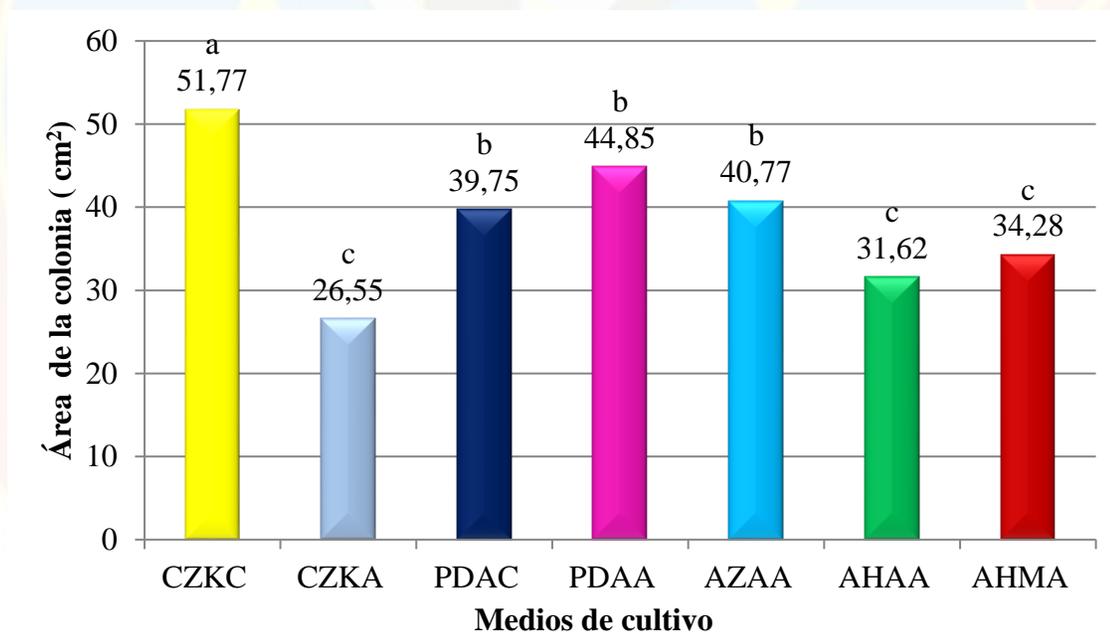


Figura 13. Área de crecimiento micelial de *Macrophomina phaseolina* en los medios de cultivo artesanales (CZKA, PDAA, AZAA, AHAA, AHMA) y en los medios de cultivos comerciales (CZKC Y PDAC).

En estudios realizado por Salazar *et al.* (2019), en evaluación de extractos acuosos en el crecimiento *in vitro* del hongo fitopatógeno *Sclerotium rolfsii*, utilizaron el área y el diámetro como referencia al crecimiento micelial. En la presente investigación se utilizaron ambas variables, debido a que el crecimiento micelial de *Macrophomina* es irregular. Así mismo, en ambas investigaciones, los resultados del diámetro y del área de crecimiento de las colonias fueron semejantes.

Como se puede observar en el Cuadro 7, el análisis de varianza para la variable de velocidad de crecimiento de las colonias permitió destacar diferencias significativas ($p > 0,5\%$) entre medios de cultivos y no presenta diferencia significativa entre bloques, su coeficiente de variación es de 8,78 presentando homogeneidad entre los datos.

Cuadro 7. Análisis de la varianza para la velocidad de crecimiento de la colonia de *Macrophomina phaseolina* en los medios de cultivo artesanales y medios de cultivos comerciales

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|------------------|----------|----|----------|------|----------------------|
| Medio de cultivo | 0,04 | 6 | 0,01 | 4,43 | 0,0064* |
| Bloque | 4,80E-03 | 3 | 1,60E-03 | 1,99 | 0,3776 ^{ns} |
| Error | 0,03 | 18 | 1,50E-03 | | |
| Total | 0,07 | 27 | | | |

R²: 0,62; R² Aj: 0,44; CV: 8,78

En la Figura 14 se presenta la velocidad de crecimiento de las colonias del patógeno. Al realizar la comparación de los promedios mediante la prueba de Scott & Knott al 5 % de probabilidad, se deduce que el hongo presenta la mayor velocidad de crecimiento en los medios de cultivos Czapek Comercial (CZKC), Czapek artesanal (CZKA), Agar Papa Dextrosa Comercial (PDAC) y Agar Papa Dextrosa Artesanal (PDAA), los cuales son similares estadísticamente entre sí y diferentes a los

demás. En los medios de cultivo donde se obtuvo menor velocidad de crecimiento son Agar Zanahoria (AZAA), Agar Harina de Avena Artesanal (AHAA) y Agar Harina de Maíz Artesanal (AHMA).

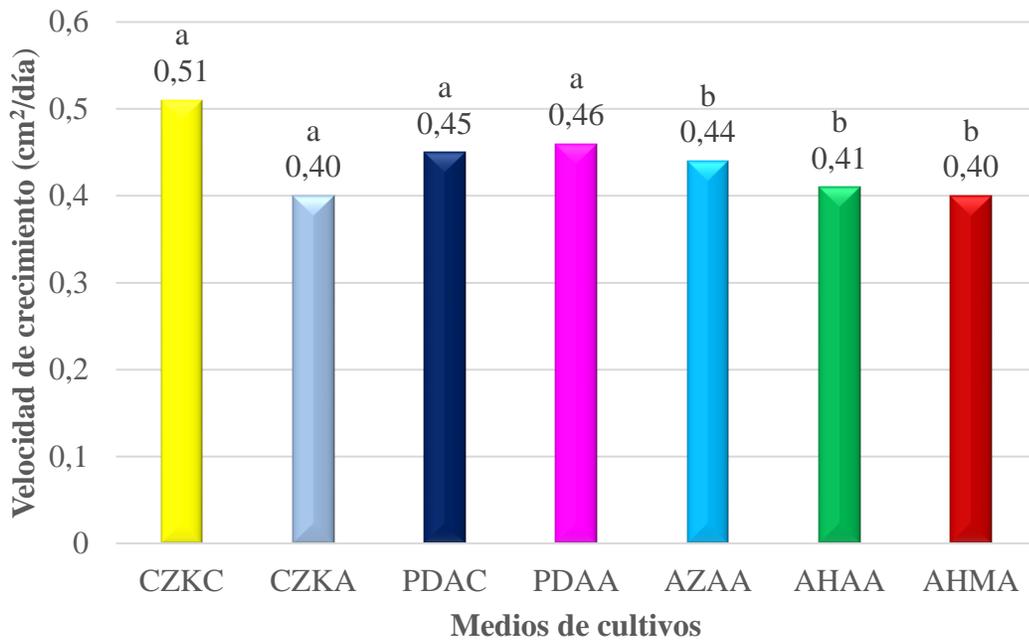


Figura 14. Velocidad de crecimiento de la colonia de *Macrophomina phaseolina* en medios de cultivos artesanales y medios de cultivos comerciales

Las colonias de *Macrophomina* en el medio de cultivo PDAA presentaron crecimiento micelial aéreo de color gris oscuro y luego de diez días se observaron microesclerocios de forma irregular, similares a los descritos por Avilés *et al.* (2008). Laurentin y Martínez (2008) señalan que la velocidad de crecimiento de *Macrophomina* medida sobre cápsulas de Petri estuvo en un rango de 2,22-3,90 cm² en 24 horas, valores que son mucho más altos que los obtenidos en el presente ensayo.

El análisis de varianza presentado en el Cuadro 8 para la variable de tiempo de llenado de las capsulas de petri permite constatar diferencias significativas al 5 % de probabilidad entre medios de cultivos y no presenta diferencia estadística entre bloques, con coeficiente de variación de 8,83, por lo tanto, presenta homogeneidad entre los datos.

Cuadro 8. Análisis de la varianza del tiempo de llenado de la colonia de *Macrophomina phaseolina* en los medios de cultivo artesanales y medios de cultivos comerciales

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------------|-------|----|------|------|----------------------|
| Medios de cultivo | 37,69 | 6 | 6,28 | 4,7 | 0,0480* |
| Bloque | 1,32 | 3 | 0,44 | 0,33 | 0,8047 ^{ns} |
| Error | 24,07 | 18 | 1,34 | | |
| Total | 63,08 | 27 | | | |

R²: 0,62; R² Aj: 0,43; CV: 8,83

Aunado a lo anteriormente explicado, en la Figura 15 se muestra la comparación de los promedios resultantes mediante la prueba de Scott & Knott al 5 % de probabilidad para la variable de tiempo de llenado. El medio de cultivo Czapek Comercial (CZKC) es estadísticamente diferente a los demás, fue el primero en llenar las capsulas de petri con tiempo de llenado de 10 días, seguida del agar papa dextrosa artesanal (PDAA) con tiempo de llenado de 13 días el cual es estadísticamente similar a los medios de cultivo Czapek artesanal (CZKA), agar papa dextrosa comercial (PDAC), agar zanahoria (AZAA), agar harina de avena artesanal (AHAA) y agar harina de maíz artesanal (AHMA). Según Liofilchem 2015 el medio de cultivo Czapek tiene presente sacarosa la cual es fuente de carbono, nitrato sódico aporta el nitrógeno, dipotasio fosfato es el agente tampón. El sulfato de magnesio, cloruro potásico y sulfato ferroso suministran iones esenciales. En cuantos a los medios de cultivo de zanahoria y papa pueden ser utilizados para la elaboración de

medios ya que estos presentan las proteínas y azúcares esenciales para el desarrollo del patógeno Moros *et al.* (2003),

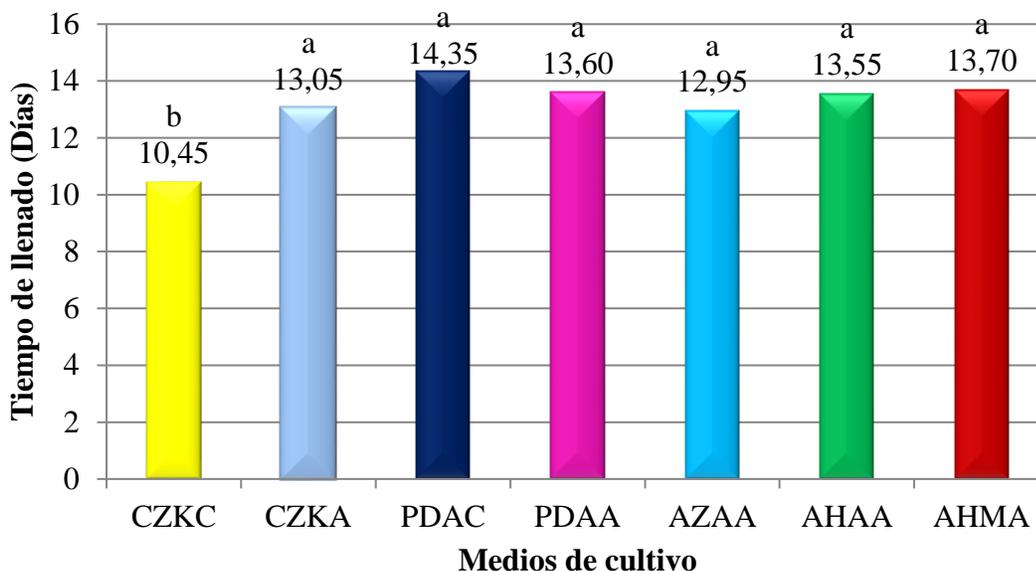


Figura 15. Tiempo de llenado de la colonia de *Macrophomina phaseolina* en los medios de cultivo artesanales y en los medios de cultivos comerciales

A los medios de cultivo artesanales se les agregó azúcar de mesa, un disacárido formado por glucosa y fructosa a partes iguales (Martín 2006), bajo condiciones de laboratorio, con la temperatura promedio de 27 °C. En la mayoría de los medio de cultivos *in vitro*, este hongo muestra preferencia por la glucosa y la fructosa como fuente principal del carbono, por lo que todos los medios artesanales proveyeron al hongo de esa fuente de energía. La temperatura óptima de crecimiento del hongo se encuentra en los 25 y 35°C (Chaudhar y Kumar, 2020), por lo que la temperatura de crecimiento del patógeno en el laboratorio (27°C) está dentro del rango óptimo. Con respecto al pH, su rango óptimo de crecimiento de 3,6 a 6,0 (Dhingra y Sinclair, 1997); sin embargo, Chaudhar y Kumar (2020) señalan que el rango de crecimiento micelial y la formación de esclerocios de *M. phaseolina* se encuentran en pH comprendido entre 6 a 7.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede recomendar la utilización de los medios de cultivos artesanales ya que en todos hubo crecimiento, especialmente en agar papa dextrosa artesanal (PDAA) lo cual se traduciría en un ahorro considerable de materiales para su preparación y pueden ser adquiridos en el mercado local.

Es importante mencionar que el uso de medios de cultivo sintéticos no se ha convertido en una práctica generalizada en países en vías en desarrollo, por el contrario, diversas circunstancias, especialmente el costo o la poca accesibilidad de los medios de cultivos sintéticos en el mercado local, ha llevado a la práctica de utilizar medios de cultivo alternativos, con la decocción de diferentes órganos de las plantas para el crecimiento y desarrollo de los hongos (Rodríguez *et al.*, 2021).

Parte de laboratorio. Ensayo 3. Evaluación del grado de inhibición de crecimiento que ejercen los extractos acuosos de cundeamor y moringa en el control del hongo *in vitro*

En el presente estudio el efecto de los extractos obtenidos mediante el método de decocción de moringa y cundeamor sobre la inhibición del patógeno es muy semejante en las cuatro concentraciones evaluadas a lo largo del tiempo de evaluación.

Los resultados obtenidos no mostraron porcentajes de inhibición para las cepas de hongo, si no que más bien tuvo el efecto contrario al esperado, ya que los extractos estudiados promovieron el crecimiento micelial del hongo. De manera general, en todas las tasas de crecimiento de este patógeno en las diferentes concentraciones en los primeros 3 días de realizada la siembra.

Como se puede observar en la Figura 16, el ajuste de la regresión para el índice de inhibición del patógeno en las diferentes concentraciones, tanto de cundeamor como de moringa, fueron de tipo cuadrática con diferentes comportamiento entre extracto con tasas de crecimiento negativo, lo cual refleja promoción del crecimiento del patógeno.

El primer patrón de crecimiento a los 3 días después de la siembra demuestra que en todas las concentraciones de cundeamor hubo crecimiento, presentando valores de $R^2 = 0,90$. El comportamiento de la parábola es cóncava pronunciada hacia arriba, con punto mínimo de inhibición micelial en 63,40 %, desde ese punto hasta la concentración del 100 % es de manera ascendente. Lo cual refleja que el patógeno tuvo comportamiento diferente entre concentraciones.

En relación al comportamiento del extracto de moringa, la parábola es ligeramente cóncava hacia arriba, descendente desde la concentración del 25 % hasta el punto mínimo de inhibición ubicado en el 58,46 %, desde ese punto hasta la concentración del 100 % es de manera ascendente, presentando valores de $R^2 = 0,93$. Lo cual hace referencia a que hay ligeras diferencias entre las concentraciones.

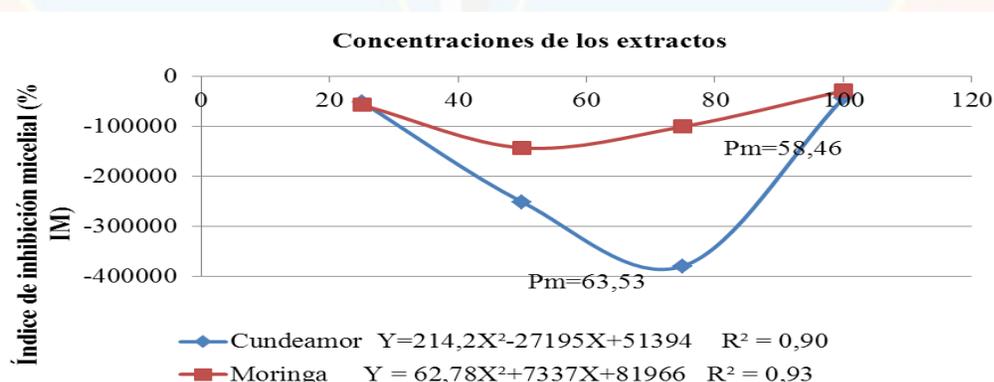


Figura 16. Inhibición del crecimiento micelial de *Macrophomina phaseolina* con las diferentes concentración de los extractos de cundeamor y moringa en el día 3 después de la siembra.

Como se puede observar en la Figura 17 el crecimiento de *Macrophomina phaseolina* al tercer día después de la siembra fue menor en los extractos moringa 100 % y cundeamor 25 %

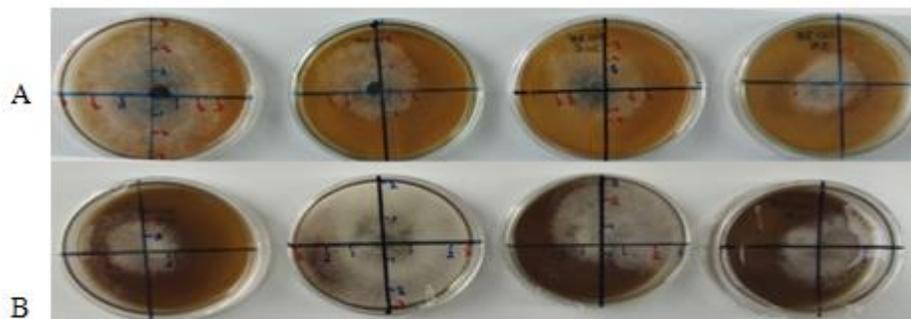


Figura 17. Crecimiento de *Macrophomina phaseolina* en los medio de cultivos que contienen los extractos vegetales. A) Cundeamor al 25 % con 3 días de crecimiento del patógeno. B) Moringa al 100 % con 3 días de crecimiento del patógeno.

En relación al segundo patrón corresponde al crecimiento a los 15 días posterior a la siembra señalada en la figura 18. El análisis de la regresión para el índice de inhibición micelial, resulto ser de tipo cúbica para los distintos extractos de moringa y cundeamor, con diferentes comportamientos entre extractos y concentraciones, presentando tasa de crecimiento negativo y positivo respectivamente.

El comportamiento del patógeno en el extracto de cundeamor la línea de tendencia presento doble concavidad, la cual se puede dividir en dos comportamientos, el primero está vinculado a la concentración del 25 % hasta la concentración del 75 %, la cual es de manera cóncava pronunciada hacia arriba, con ligera descendencia a medida que aumentan las concentraciones, presentado punto de inflexión está ubicado en el 78,27 % de concentración, desde ese punto inicia el segundo comportamiento el cual la línea de tendencia es ligeramente

convexa hacia abajo. Reportando valores de $R^2 = 1$, lo cual da certeza de la distribución y tendencia de cada uno de los datos.

En el extracto de moringa el patógeno tubo crecimiento en todas las concentraciones, la línea de tendencia presento doble concavidad, esta se puede dividir en dos comportamientos. El primer comportamiento está asociado a las concentraciones del 25 % hasta la concentración del 50 %, es ligeramente cóncava hacia arriba, ascendente a medida que aumentan las concentraciones, presentando punto de inflexión ubicado en el 42,75 % de concentración. El segundo comportamiento está relacionado desde la concentración del 50 % hasta la del 100 %, la cual es de manera convexa hacia abajo, presentando valores de $R^2 = 1$, lo cual da certeza en la tendencia de las concentraciones en el extracto de moringa, promoviendo el crecimiento micelial de *Macrophomina*, causando un efecto contrario al esperado.

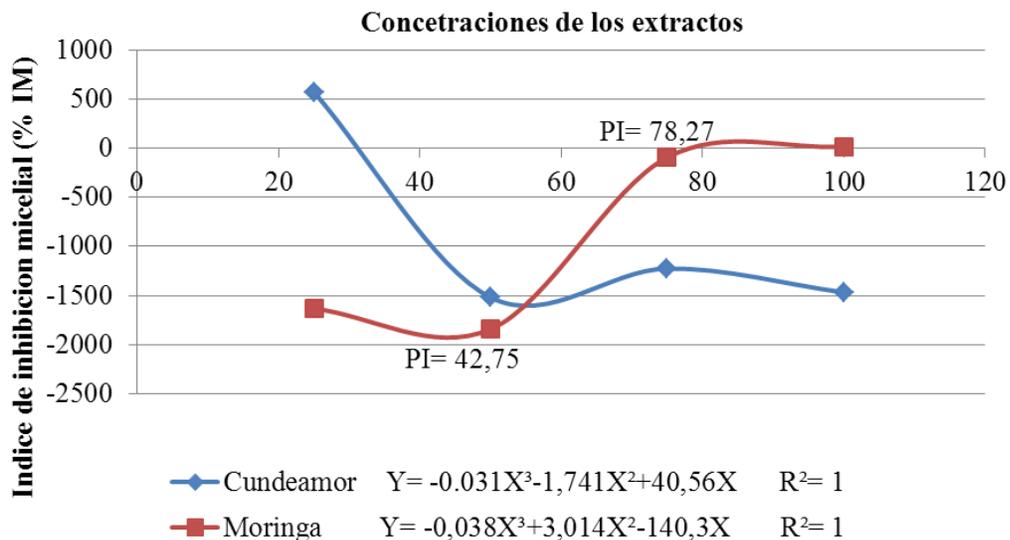


Figura 18. Inhibición del crecimiento micelial de *Macrophomina phaseolina* con las diferentes concentraciones de los extractos de cundeamor y moringa en el día 15 después de la siembra.

Flores *et al.* (2014) demuestran en su investigación que el extracto de cundeamor presentan niveles de inhibición en el crecimiento de *Sclerotium rolfsii* durante los primeros tres días posterior a la siembra. La concentración utilizada fue de 277 g/L. El rango de crecimiento estuvo comprendido entre valores inferiores (0,96 a 1,12). El rango de crecimiento en este trabajo de investigación son superiores, posiblemente se deba a la concentración madre utilizada.

Kumar *et al.* (2010) mencionan que la susceptibilidad del patógeno a extractos vegetales será distinta según la especie, forma específica, raza y patogenicidad del hongo. Asimismo, esta susceptibilidad será distinta según la concentración del tratamiento a la que se someta al organismo. En diferentes estudios realizados en todas las partes de la planta de moringa se han identificado la presencia de las principales clases de fitoquímicos como taninos, flavonoides, ácido gálico, entre otros (Alhakmani *et al.* 2013); sin embargo, los taninos y flavonoides en la presente investigación no ejercieron el efecto inhibitorio en el patógeno que se esperaba.

En la presente investigación se utilizaron hojas sanas de plantas adultas de moringa. En esta reportan variabilidad del contenido de metabolitos secundarios dependiendo de la edad y la altura de las plantas, haciendo notar que las hojas son una fuente segura de metabolitos secundarios que pueden ser usados como ingredientes anti fúngicos (Cabrera *et al.*, 2017).

Morales (2017) evaluó *in vitro* y en campo, el efecto del extracto de la hoja de moringa preparado mediante la extracción alcohólica para el control de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en el cultivo de banano, encontrando efecto antifúngico tanto *in vitro* con extractos de moringa al 25 %, siendo esto un aporte para disminuir la incidencia y severidad de la enfermedad y por ende, mejor control; sin embargo, en el presente estudio el extracto de moringa fue preparado por

el método de decocción reportando valores negativos de inhibición micelial, aún en la concentración del 100 %.

En estudios similares, Castro (2013), logra con extractos, por el método de inmersión de noni y de moringa frente al hongo *Macrophomina phaseolina*, a los siete días porcentajes de inhibición del hongo de 100% con la concentración del 75 %. Estos resultados difieren del presente trabajo de investigación ya que en la concentración del 75 % de moringa a los 15 días, el índice de inhibición presenta valor de -91,25 %.

Los metabolitos secundarios juegan un papel importante en las estrategias defensivas de las plantas frente a patógeno, como la reparación de daños por el sistema antioxidante (Matsuura *et al.*, 2017) y el establecimiento de barreras defensivas de naturaleza bioquímica (Zacarés, 2008). sin embargo estos metabolitos no tuvieron gran efecto en la inhibición del patógeno.

En estudios realizados por mediante la metodología de extracción de polifenoles de hojas sanas de moringa utilizando concentración de 600 mg/L, logro 94,5 % de inhibición del crecimiento de *Macrophomina*. Rosas *et al.* 2022. Estos resultados difieren a los del presente trabajo es posible que se deba al método de elaboración del extracto acuoso

Los extractos de la planta de cundeamor poseen sustancias bioactivas como alcaloides, flavonoides, saponinas, glucósidos, azúcares reductores, resinas, constituyentes fenólicos, aceite fijo y ácidos libres (Chandravadana *et al.*, 1997). Por otra parte, Pernía *et al.* (2001) mencionan que a los extractos preparados por maceración alcohólica atribuyen a los compuestos fenólicos, la inhibición en el crecimiento y desarrollo de hongos fitopatógenos cultivados en condiciones *in vitro*. Es posible que el bajo efecto inhibitorio en los extractos vegetales ya sea en

cundeamor o moringa se deba a la preparación, vía decocción acuosa, de dichos extractos. En investigaciones realizadas por Aboelfetoh y Riad (2014) reportan que los aceites esenciales en concentración del 15 % de moringa inhiben el crecimiento y esporulación de *Macrohomina*.

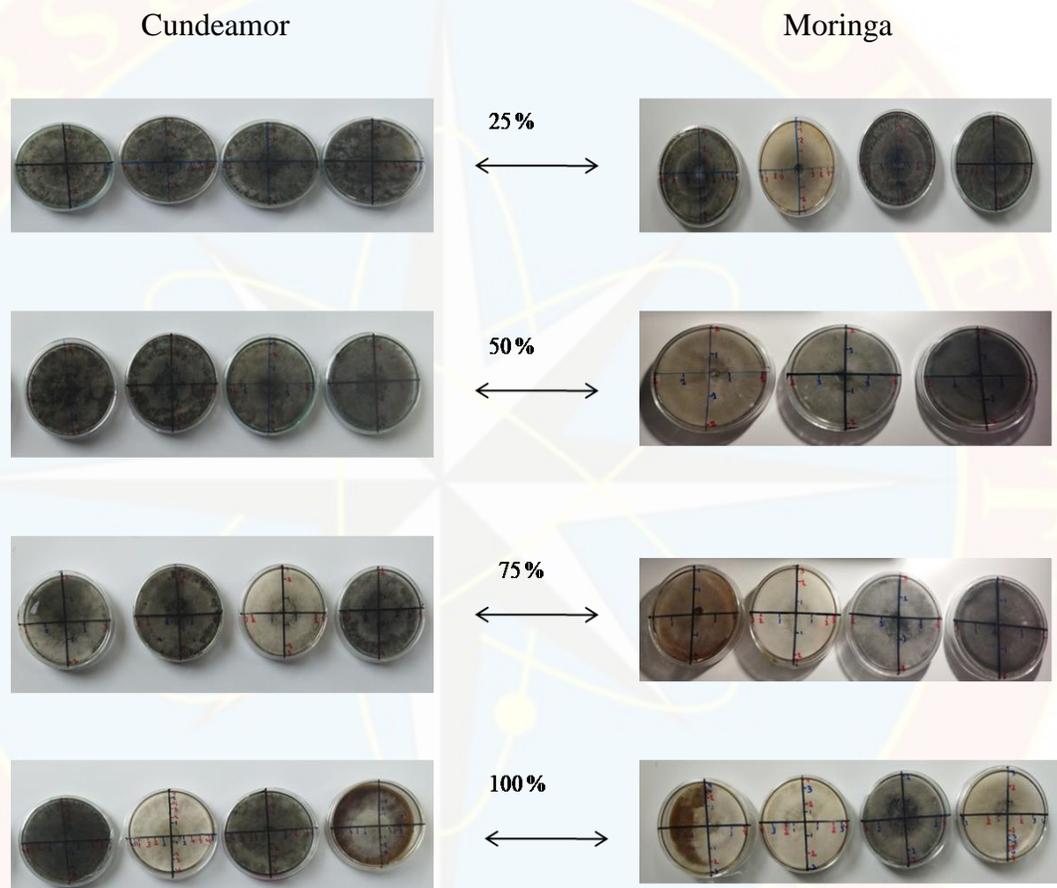


Figura 19. Crecimiento de *macrophonina* en medios de cultivo que contienen los extractos vegetales de cundeamor y moringa con las diferentes concentraciones, a los 15 días posteriores a la siembra

En casa de cultivo. Ensayo 1. Determinación del porcentaje de inhibición que ejercen los extractos acuosos de cundeamor y moringa en el crecimiento del hongo *in vivo*

Como se puede apreciar en la Figura 20, en los primeros ocho días posterior de la inoculación, el promedio de mortalidad de las plántulas fluctuó entre 18,75 % hasta los 43,75 % que representa el mayor promedio de mortalidad, en cada uno de los tratamientos a los cuales se les aplicarían los extractos para controlar el hongo fitopatógeno *Macrophomina phaseolina*. Es posible que la alta tasa de mortalidad de las plántulas se haya debido a la técnica de inoculación, ya que se realizó mediante la punción en el cuello de la planta y cortes en las puntas de las raíces adventicias. Las plantas fueron sometidas a un periodo de incubación por 8 días, en el cual estuvieron protegidas de la fuerte radiación solar. Transcurrido ese lapso de tiempo, las plantas fueron trasladadas a la casa de cultivo. Es probable que el cambio de temperatura, además de la alta incidencia de radiación solar imperante para la fecha haya influido en el marchitamiento y muerte gradual de las plántulas.

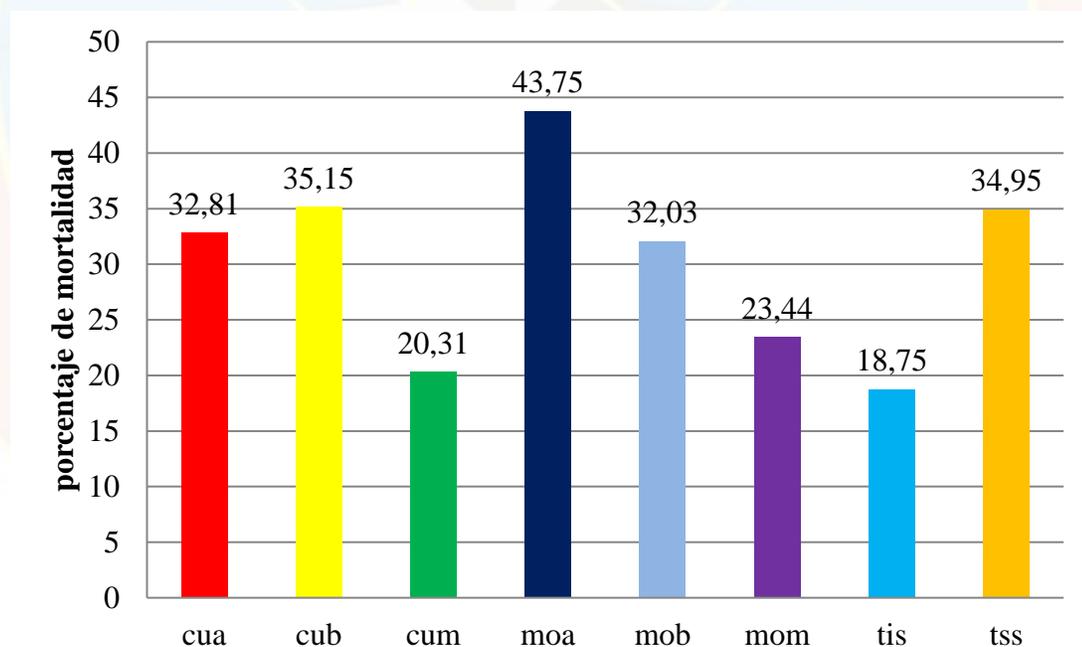


Figura 20. Porcentaje de mortalidad de plántulas de flor de Jamaica a 8 días de la inoculación con *Macrophomina phaseolina*.

Es posible que, como consecuencia del sistema de inoculación utilizado, los factores ambientales y el tipo de sustrato utilizado, se haya producido la alta tasa de mortalidad observada. Las plántulas continuaron muriendo, a pesar de incrementar el riego, de tal manera, que en la semana 5 observadas en la Figura 21, algunos de los tratamientos habían llegado a más de 90 % de mortalidad. Debido a esta alta mortalidad, no se aplicaron los extractos para el control de *Macrophomina phaseolina*

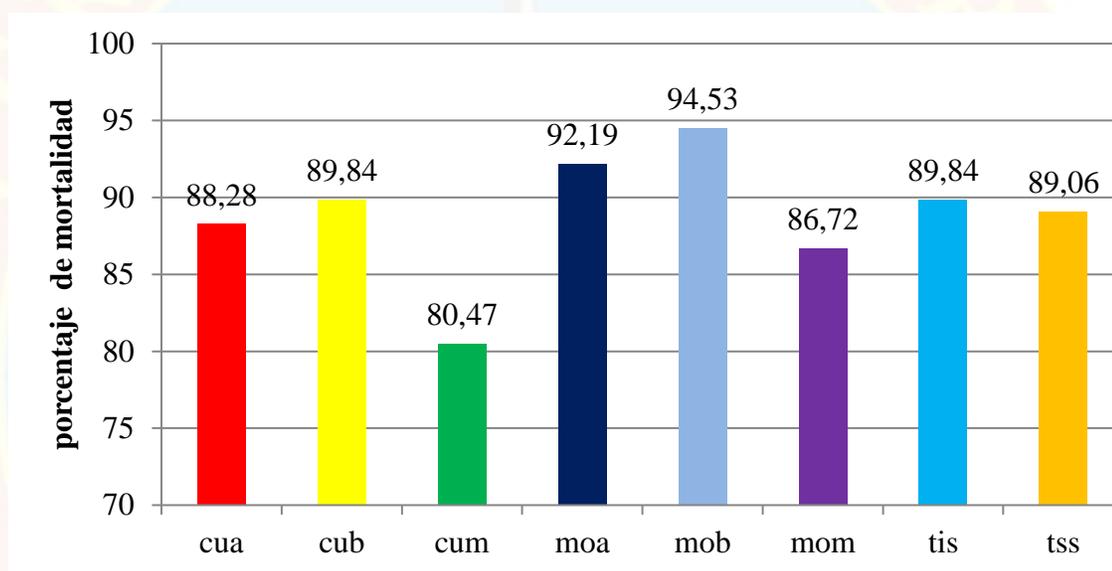


Figura 21. Porcentaje de mortalidad de plántulas de flor de Jamaica a la semana N°5 después de la inoculación con *Macrophomina phaseolina*.

El desarrollo de la flor de Jamaica es óptimo a temperaturas que oscilan entre los 25 a 38 grados centígrados y con precipitaciones de 900 a 1400 mm al año, y mejor desarrollo con precipitaciones anuales promedio de 900 mm y suelos franco-arenosos, sin que se produzca encharcamiento a fin de evitar condiciones favorables para el desarrollo de enfermedades originadas por hongos (Meza, 2012). Sin embargo es un cultivo susceptible al ataque de enfermedades, como pata prieta entre otras. Muchas plántulas plantas presentaron síntomas de tizón, marchitamiento, pudrición de tallo de la raíz y de coloración marrón en los tejidos, por lo que la inoculación fue efectiva, pero muchas plántulas se marchitaron sin presentar esos síntomas. El pH del

sustrato estaba en 6,15, pH que favorece el crecimiento de hongos, ya que éstos toleran un amplio rango de pH (5 a 9) sin impedir su desarrollo (Rousk *et al.*, 2010), por lo cual el sustrato estaba en el rango adecuado para el crecimiento del patógeno.



Figura 22. Plántulas de Jamaica a los 8 días posteriores a la inoculación

CONCLUSIONES

- El hongo fitopatógeno *Macrophomina phaseolina* fue aislado y purificado exitosamente a partir de una planta con síntomas de marchitez y pudrición del cuello de la planta.
- El medio de cultivo agar papa artesanal (PDAA) tuvo comportamiento estadísticamente similar a los medios de cultivo comerciales PDAC y CZKC, en cuanto a diámetro y área del micelio, velocidad de crecimiento y tasa de llenado de la capsulas de Petri. Por esta razón, aunado a su bajo costo y fácil adquisición de los materiales para su preparación en el mercado local, influyeron para que fuera seleccionado para multiplicar el hongo en los ensayos.
- Los extractos de cundeamor y moringa no ejercieron el control esperado en condiciones *in vitro*. Se observó cierto efecto inhibitorio sobre *M. phaseolina* con el extracto de cundeamor al 25 %.
- No se logró determinar efecto *in vivo* de los extractos debido a la alta mortalidad sufrida por las plántulas en la casa de cultivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aboshosha, S. Atta, S.I El-Korany, A.E and El-Argawy, E. 2007. Characterization of *Macrophomina phaseolina* isolates affecting sunflower growth in El-Beheragovernorate, Egypt. [Documento en línea]: International Journal of Agricultura & Biology, 9 (6):807-815 Disponible en https://www.researchgate.net/publication/265218125_Characterization_of_Macrophomina_phaseolina_Isolates_Affecting_Sunflower_Growth_in_El-Behera_Governorate_Egypt [Consultado: Enero 2022].
- Acuña T, O. 2019. Determinación del rango de hospedante de especies patogénicas asociadas al género *Fusarium* en cinco cultivos agrícolas. Tesis de profesional de Ingeniero Agrónomo Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto. Tarapoto – Perú grado.[Documento en línea] Disponible en línea: <http://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/3319/AGRONOMIA%20-%20Oscar%20Acu%C3%B1a%20Tananta.pdf?sequence=1> [Consultado:Enero, 2022]
- Águila, R. Almarales, M.yLorenzo. M. 2011. Efectividad biológica *in vitro* de extractos naturales de plantas en el control del hongo *Macrophomina phaseolina* aislado de semillas de habichuela. [Documento en línea]. Agroecosistemas 3(1):379-386. Disponible en: <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/24> [Consultado: Febrero, 2022].
- Aguirre, S. y Muñiz. G. 2003. Evolución de diferentes tipos de fertilizantes en el rendimiento del cultivo de Jamaica, trabajo de grado. Universidad Nacional Agraria.Nicaragua.26pp. Disponible en: <https://repositorio.una.edu.ni/771/1/tnf04a284.pdf> [Consultado: Enero, 2022].
- Alipi, A.M. y Mondragón Pichardo J. 2009. Malezas de México, HeikeVibrans (ed.). Ficha: Cucurbitaceae:Cucurbitaceae, Momordica charantia L., melón amargo, [Documento en línea] disponible en : <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/cucurbitaceae/momordica-charantia/fichas/ficha.htm> [Consultado: Enero, 2022].
- Almeida, A. Ferreira, L. Yorinori, J. Henning, A. Godoy, C. Costamilan, L. Neyer, M. 2005.Doesça da soja (*Glicine max*).in: Kimati, H. Amorin, L. Rezende, J. Bergamin, A. Camargo, L.(Eds) Manual de fitopatologia- Sao Pablo brasil 569-588 pp.

- Altieri, M. A. 1983. Bases científicas de la agricultura alternativa. Centro de Estudios en Tecnologías Apropriadas para América Latina (CETAL). Agroecología. Chile,
- Avilés, M., Castillo, S., Bascon, J., Zea-Bonilla, T., Martín-Sánchez, P.M., y Pérez-Jiménez, R.M. 2008. First report of *Macrophomina phaseolina* causing crown and root rot of strawberry in Spain. *Plant Pathol.* 57:382.
- Babu, B.K. Saikia, R and Arora, D.K. 2010. Molecular characterization and diagnosis of *Macrophomina phaseolina*: a charcoal rot fungus. In: Gherbawy Y. y K. Voigt (eds.). *Molecular Identification of Fungi*. Springer. New York. pp. 179-193.
- Baird, R.E. Watson, C.E., and Scruggs, M. 2003. Relative longevity of *Macrophomina phaseolina* and associated mycobiota on residual soybean roots in soil. *Plant Disease.* 87:563-566.
- Balami, A. 1998. The effect of processing conditions, packaging and store on selected quality attributes of Mungza Ntusa. M. Sc. Thesis, University of Ibadan, Nigeria.
- Barnard, E.L. Gilly, S.P. 1986. Charcoal root rot of pines. *Plant Pathol. Circ.* 290. Gainesville: Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry. 4 p.
- Barnett H.L. and Hunter. B.B. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota. USA. 218p.
- Beas-Fernández, R. A. De Santiago A., S. Hernández-Delgado y N. Mayec-Pérez. 2006. Characterization of Mexican and non-Mexican isolates of *Macrophomina phaseolina* based on morphological characteristics, pathogenicity on bean seeds and endoglucanase genes. *Journal of Plant Pathology* 88: 53-60.
- Bedwell C. 2005. Caracterización de cepas de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. Colectadas desde viveros y plantaciones forestales. Memoria para optar al título de Ingeniero Forestal. Universidad de Concepción. Facultad de Ciencias Forestales. Depto. Silvicultura, Chile.
- Benner, J.P. 1993. Pesticidal compounds from higher plants. *Pesticide Science* 39: 95-102.

- Bennett, R.N. and Wallsgrove, R.M. 1994. Secondary metabolites in plant defense mechanisms. *New Phytologist*, Philadelphia, 127 (4):617-633.
- Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenarez, Y. 2014. Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe. Facultad de Agronomía Universidad de la República, Montevideo. 404 p
- Bianchi, A. Zambonelli. A. Zechini D'Aulerio, A. and Bellesia, F. 1997. Ultrastructural studies of the effects of *Allium sativum* on phytopathogenic fungi *in vitro*. *Plant Disease* 81: 1241-1246.
- Bowers, J.H. y Locke, J.C. 2000. Effect of botanical extracts on the population density of *Fusarium oxysporum* in soil and control of Fusarium wilt in greenhouse. *Plant Disease* 84: 300-305.
- Brundtland, G. 1987. Our common future: The World Commission on Environment and Development. Oxford, Oxford University Press. 201 p.
- Buss, E.A. and. Park-Brown, S.G. 2002 Natural products for insect pest management Florida, US UF/IFAS.[Documento en línea] Disponible en: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN19700.pdf> [Consultado: Febrero, 2022].
- Cabrera, J.L. Jaramillo, C. Dután, F. Cun, J.C. García, P. A. y Rojas, L. (2017). Variación del contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en *Moringa Oleifera* Lam. en función de su edad y altura. *Bioagro* 29(1): 53-60. Recuperado el 25 de mayo del 2020, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612017000100006
- Cardona, R. 2006. Distribución vertical de esclerocios de *Macrophomina phaseolina* en un suelo infestado naturalmente en el estado Portuguesa. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 23:284- 291.
- Castro, B. Lorenzo, M. E. y Castellanos, L. (2013). Acción antifúngica *in vitro* de extractos naturales de plantas sobre *Swietenia macrophylla* (King) en semillas de caoba. Tesis Maestría. Cienfuegos: Universidad de Cienfuegos.
- Cavaliere, C. Rea, P. Lynch, M. and Blumenthal, M. 2009. Herbal supplement sales experience slight increase in 2008. *Herbal-Gram* 82: 58-61.
- Celis, A. Mendoza, C.; Pachón, M. Cardonal, J. Delgado, W. y Cuca, L.E. 2008. Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la Familia Piperaceae. *Agronomía Colombiana* 26(1):97-106.

- Chandravadana M, Nirdiry E, Venkateshwarlu G. 1997. Antifungal activity of momordicines from *Momordica charantia*. *Fitoterapia*. 68(4):383-384.
- Christian, S.N. 2009. La flor de Jamaica [Documento en línea]. Disponible en: <http://fjamaica.blogspot.com/> [Consultado: Febrero, 2022].
- Contreras, G. J. A., Soto, J. R., y Huchin, A. C. (2009). Tecnología para el cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en Quintana Roo. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Sureste. Chetumal, Quintana Roo, México. Folleto técnico No. 3. pp: 4-6.
- Cordell, G. 2000. Biodiversity and drug discovery-a symbiotic relationship [Artículo en línea]. *Phytochemistry*, 55: 463-480. Disponible en: <https://pharmacy.hebmu.edu.cn/trywhx/resources/43/20196189161.pdf> [Consultado: Febrero, 2022].
- Costa, M.J.N. Campos, V.P. Oliveira, D.F. y Pfenning, L.H. 2001. Toxicidade de extratos vegetais e de estorços a *Meloidogyne incognita*. *Summa Phytopathologica* 27 (2): 245-250.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12 (4):564-582.
- Cruz De Matos, O. 2000. Uso de sustancias naturales de origen vegetal con actividades biológicas para proteccion de La cultura agrícolas. *Agronomía Lusitana* 48 (Suplemento 2) 1-44.
- Dhingra ,O.D. and Sinclair, J.B. 1974. Effect of soil moisture and carbon: nitrogen ratio on the survival of *Macrophomina phaseolina* in soybean stems in soil. *Pl.Dis. Repr.* 58: 1034-1037.
- Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini. M.G.; González, L.; Tablada, M. y Robledo, C.W. InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina [Documento en línea] Disponible en: <http://www.infostat.com.ar> [Consultado: Enero, 2022].
- Díaz Pérez, B. y Ramos Delgado, J. 2011. El cultivo de rosa de Jamaica. Nicaragua. [Documento en línea] Disponible en: https://oa.upm.es/12612/1/INVE_MEM_2011_106653.pdf [Consultado: Enero, 2022].

- Erwin, D.C. and Ribeiro, O.K. 1996 Phytophthora diseases world wide, the American phytopathological society. St Paul, Minnesota, USA 562pp [document en línea] disponible en <https://www.redalyc.org/pdf/612/61242145004.pdf> [Consultado: febrero, 2022]
- Estévez F. B. 1989. El problema de la comercialización de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en la Costa Chica de Guerrero. Tesis profesional. Universidad Autónoma de Chapingo. 37 p.
- FHIA. 2009. Evaluación del efecto de diferentes tutorados en el cultivo de Cundeamor Honduras. [Documento en línea] Disponible en <http://infoagro.net/shared/docs/a2/FHIAHojaTecnicaTutoradoCundeamor.pdf> [Consultado: Febrero, 2022].
- Flores Y, Romero A, Mujica Y. 2014 Efectividad de extractos vegetales y microorganismos eficientes sobre el crecimiento *in vitro* de *Sclerotium rolfsii*. Rev. Unellez Ciencia y Tecnología 32(1):82-90.
- Foild, N. Makkar, H.P.S and Becker. K. 1999. The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial use. . In : Development potential for moringa products : International workshop, 29th October - 2nd November 2001, Dar Is Salaam, Tanzania= Potentiel of développement pour les produits of moringa : atelier international, 29 octobre - 2 novembre 2001, Dar is Salaam, Tanzanie. oe Saint Sauveur Armelle (ed.), Appora Viviane (ed.), Besse François (ed.). PROPAGE, CDE, CTA, CWS, SILVA, ASIAFCO. Montpellier : CIRAD, 1 Cd-Rom ISBN 2-87614-516-2 International Workshop on Development Potential for Moringa Products, Dar is Salam, Tanzanie, 29 Octobre 2001/2 Novembre 2001.
- Fonnegra, R. y Jiménez, S. L. (1999) Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Ed. Universidad de Antioquia, serie Yuluka, 1.Ed, pp. 15-17.
- Fundación para la innovación tecnológica agropecuaria. la agricultura sostenible (2008) <http://www.fiagro.org.sv/archivos/0/548.pdf>,
- García C., G. Mier, D. Alzate, A. Mora y K. Afanador. 2006. Evaluación de la actividad biológica de aceites esenciales contra *Collectotrichum acutatum* y su acción fitotóxica sobre *Solanum betacea* (Cav) Sendt. pp. 8-31. En: Memorias XXVI Congreso Ascolfi, Bogotá.
- García, C.L.G.; Correa, E. y Rojas. N. 1995. Estudio fitoquímico preliminar y evaluación de la actividad antimicrobiana de algunas plantas superiores colombianas. Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas 23(1): 42-48.

- Garrido Bigotes, A.; Espinoza Galindo, G.I.; Sáez Delgado, P.; Cañal Villanueva, M.J.; Von Stowaser, E. and Hasbún Zaror, R. 2016. Early events in the infection process of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. In *Pinus radiata* seedlings and its effects on photosynthetic efficiency as biotic stress indicator. *GayanaBot* 73(2):430–437.
- Gispert, C. 1985. Biblioteca práctica agrícola y ganadera, frutales y bosque. Barcelona, España. Industrias Gráficas Océano.204 p.
- Gliessman, S. 1985. Multiple cropping systems: A basis for developing an alternative agriculture. Innovative Biological Technologies for Lesser Developed Countries Workshop Proceedings. Washington, D. C., U. S. Congress, Office of Technology Assessment.
- Gopalakrishnan, T. R. 2007. Vegetable Crops. New Delhi: New India Publishing Agency
- Gupta, M.; Sharma, S.; Gautam, A. K. and Bhadauria, R. 2011. *Momordica charantia* Linn.(Karela) International Journal of Pharmaceutical Sciences 1(1): 32-37.
- Hernández Lauzardo, A.N.; Bautista, S. y Velásquez del Valle. M. G. 2007. Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades post cosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30 (2):119-123.
- Hernández, A. A.; C. Roson: Evaluación del crecimiento y esporulación de *Aschersonia aleyrodis* (Webber) en medios de cultivo convencionales», *Fitosanidad* 9 (3): 61-63, Cuba, 2005.
- Hernández, F. Martínez, M. 1959. Sociedad Mexicana de Historia Natural. Primera Serie Vol. IV 1879; Sociedad Farmacéutica de México. 1952
- Hernández, M. J. 1988. Estudio de la interacción entre *Phytophthora parasítica* Dastur y *Meloidogyne* spp en la pata prieta de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) e histología de ambos patógenos. Tesis de Maestría especialidad en Fitopatología. Chapingo, México. 75pp.
- Hodges, C. 1962. Black root rot of pine seedlings. *Phytopathology*, 52: 210-219.
- House, P. Lagos-Witte, S. y Torres, C.2007. Manual Popular de 50 Plantas Medicinales de Honduras .Honduras: Editorial Guaymuras.

- Innecco, D. 2017. Beneficios de la flor de Jamaica.[Documento en línea] Disponible en: <http://salud.uncomo.com/articulo/cuales-son-los-beneficios-de-la-flor-de-jamaica26852.html> [Consultado: Febrero, 2022].
- Iqbal, U. and Mukhtar, T. 2014. Morphological and pathogenic variability among *Macrophomina phaseolina* isolates associated with mungbean (*Vigna radiata* L.) from Pakistan. The Scientific World Journal [Documento en línea] 2014.ID 950175, pp: 1-9 disponible en: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/MorphologicalandPathogenicVariabilityamongMacrophominaphaseolinaIsolatesAssociatedwithMungbeanVignaradiataL.WilczekfromPakistan.pdf>[Consultado: Febrero, 2022].
- Ivancovich, A. C. Flores y M. Lavilla. 2016. Podredumbre carbonosa de la soja causada por *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.[Documento en línea]disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_pergamino_podredumbre_carbonosa_de_la_soja_causada_por_macrophomina_phaseolina.pdf. [Consultado: Febrero, 2022].
- Izquierdo, J. L. Ciampi y E. García. 1995. Biotecnología apropiable: racionalidad de su desarrollo y aplicación en América Latina y el Caribe. Oficina regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Santiago. [Documento en línea] Disponible en: <http://www.rlc.fao.org/prior/segalim/prodalim/prodveg/aprop.pdf> [Consultado:Febrero.2022].
- Javaid, Arshad, and Amna Saddique. 2012. “Control of Charcoal Rot Fungus *Macrophomina Phaseolina* by Extracts of *Datura Metel*.” Natural Product Research 26(18): 1715–20.
- Jeyalakshmi, C. Dinakaran, D.Rettinas sababady, C. 2015. Characterization of bioactive compounds from botanicals for the management of plant diseases. En: GANESAN, S.; VADIVEL, K. JAYARAMAN, J. (ed.). Sustainable Crop Disease Management Using Natural Products.Cabi. 424pp.
- Jiménez, J. 2001 Uso de biocontroladores en la agricultura sostenible en Pohlen, J. (ed.) La fruticultura orgánica en el Cauca, Colombia – un manual para el campesinado. Shaker Verlag, Alemania, 133-146 pp.
- Jiménez, J.D. Lacayo, A.L. Rodriuez, I.Y, Colbert, R.W. Rosas-Sotomayor, J.C. 2021. Validación de técnicas para el aislamiento y caracterización de la patogenicidad del hongo *Macrophomina* en frijol común. Ceiba. Zamorano 102-111.

- Kaur S.; Dhillon, G and Chauhan, V. 2013. Morphological and pathogenic variability in *Macrophomina phaseolina* isolates of pigeon pea and their relatedness using principle component analysis. Archives of Phytopathology & Plant protection. DOI: 10.1080/03235408.2013.792538.
- Kaur S.; Singh.G.;Edward, G. ; Chand, R. and Bahadur, V. 2012. Emerging phytopathogen *Macrophomina phaseolina*: biology, economic importance and current diagnostic trends. Critical Reviews in Microbiology, 38(2): 136-151.
- Kendig, S. R. Rupe, J.C. and Scott, H.D.2000. Effect of irrigation and soil water stress on densities of *Macrophomina phaseolina* in soil and roots of two soybean cultivars. University Arkansas, Fayetteville. Plant Disease 84: 895-900.
- Koul, O. and Walia, S. 2009. Comparing impacts of plant extracts and pure all chemicals and implications for pest control. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 4(49):1-30.
- Kumar DS, Sharathnath KV, Yogeshwaran P, Harani A, Sudhakar K, Sudha P, Banji D (2010) A Medical Potency of *Momordica charantia*. Int. J Pharm Sci Rev Res 1(2): 95-100.
- La Torre, F. 1992. Fisiología vegetal para tercer curso de Ingeniería Agronómica. Quito: Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas. 248 p.
- Larios, J. 1998. El cultivo de la jamaica. Revista. Agricultura para el productor diversificado. Noviembre- Diciembre No. 55. pp 9-11.
- Larios, J. 1999. Ficha técnica sobre el cultivo de la jamaica. Universidad Autónoma de Chapingo. México pp 1-2.
- Leiva-Mora, M., Alvarado-Capó, Y., Acosta-Suárez, M., Cruz-Martín, M., Sánchez-García, C., Roque, B.2010. Protocolo para la inoculación artificial de plantas de *Musa* spp. Con *Mycosphaerella fijiensis* y evaluación de su respuesta mediante variables epifitológicas y componentes de la resistencia Recuperado de: <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/download/274/248>
- León, J. 2000. Botánica de los cultivos tropicales. 3era. ed. [Revista en línea] Disponible en:https://books.google.co.cr/books?id=NBtu79LJ4h4C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false [Consultado: Enero, 2022].

- Liofilchem 2015. Czapek dox agar. Medios de cultivo de hongos y bacterias a partir de muestras clínicas y ambientales 2 p.
- Lira-Saldivar, R.H. Hernández-Suarez, M. Chavez-Betancurt, C. Hernández- Carrillo, F.D. y Cuellar-Villareal, E. 2007. Bioplaguicidas y Control Biológico. CIQA- Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Serna Impresos, Monterrey, México. pp. 13-29.
- Lovato Echeverria, A M. A. Carmona, S.A. Gutiérrez. 2015 «Transmisión de *Trichoconiella padwickii* a coleoptilos de arroz», Tropical Plant Pathology 38 (4): 346-348.
- Mahdizadeh, V. N. Safaie y E. Goltapeh. 2011. Diversity of *Macrophomina phaseolina* based on morphological and genotypic characteristics in Iran. Plant Pathology Journal 27: 128-137.
- Martín-Aragón, S. (2006). Azúcares y edulcorantes en la dieta: características y usos. Farmacia profesional, 20(2), 66-70.
- Martinez-Hilders, A y Laurentin H (2012) Caracterización fenotípica y molecular de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. Proveniente de la zona de producción de ajonjolí en Venezuela. Bioagro, 24(3): 187-196.
- Martínez-Sánchez, C. 2010. Etiología e incidencia de hongos asociados al manchado de cálices de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) Colegio de Postgraduados, campus Montecillo, México, pp. 88.
- Matsuura, H. N. and Fett, N. A. G. 2017. Plant alkaloids: main features, toxicity, and mechanisms of action. Plant toxins Gopalakrishnakone, P.; Carlini, C. R. and Igabue, B. R. (Ed.). 243-261p. doi 10.1007/978-94-007-6728-7-2-1.
- Mayek-Pérez, N., López-Castañeda, C., y Acosta-Gallegos, J.A. 1997. Variación en características culturales *in vitro* de aislamientos de *phaseolina* y su virulencia en frijol. Agrociencia 31:187-195 Documento en línea. Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_pergamino_podredumbre_carbonosa_d_e_la_soja_causada_por_Macrophomina_phaseolina.pdf [Consultado: febrero, 2022].
- Mazid, S; Kalita, J.; Rajkhowa, R. 2011. A review on the use of biopesticides in insect pest management. International Journal of Science and Advanced Technology. 1(7):169-178.

- McSpadden-Gardener, B. y D. Fravel. 2002. Biological control of plant pathogens: research, commercialization and application in the USA. Online. Plant Health Progress 10:1094/PHP-2002- 0510-01-RV.
- Mena M. 2003, Elaboración de Abonos Orgánicos. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, de la Universidad de Guadalajara. pp, 9-10.
- Meza Chavarrí. 2012. Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) e (*Hibiscus cruentus Bertol*).documento en línea disponible en: <http://adeesnic.org/wp-content/uploads/2022/10/Gui%CC%81a-Flor-de-Jamaica.pdf>.
- Mihail JD and Taylor SJ. 1995. Interpreting of variability among isolates of *Macrophomina phaseolina* in pathogenicity, pycnidium production, and chlorate utilization. Canadian Journal of Botany, 73: 1596-1603.
- Mihail, J.D. 1992. *Macrophomina*. Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi. Singleton LL, Mihail JD and Rush CM, eds. American Phytopathological Society, St. Paul, Pp 134-136.
- Mihail, J.D. and Taylor, S.J. 1995. Interpreting of variability among isolates of *Macrophomina phaseolina* in pathogenicity, pycnidium production, and chlorate utilization. Canada Journal of Botany, 73: 1596-1603
- Morales, F.H. (2017). Evaluación de dosis creciente del extracto de moringa (*Moringa oleifera*) sobre *Mycosphaerella fijiensis*, bajo condiciones de campo y laboratorio. Universidad Técnica de Machala. Trabajo de grado ingeniería agronómica. 57pp. .[Documento en línea] Disponible en línea http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/10530/1/DE00004_TRAB_AJODETI_TULACION.pd
- Moreno, J.R. 2002. Clasificación taxonómica de la familia de las malváceas. Enciclopedia Encarta. pp s/no.
- Moros, A. H. Fontalvo, J. Niño, L. Sánchez, J. Delgado, A. & Villalobos, R. (2003). Crecimiento de *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium oxysporum* en medios de cultivo de harina de semillas de frijol *Vigna unguiculata* (L.) Walp., frijol chino *Vigna radiata* L. y quinchoncho *Cajanus cajan* (L.) Millsp. Ciencia, 11, 14-21. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/view/9144>
- Muhl, Q.E. Du Toit, E. &Robbertse, P.J. 2011. Adaptability of *Moringa oleifera* Lam. (Horseradish) tree seedlings to three temperature regimes. American Journal of Plant Sciences, pp776-780.

- Muñoz, M. Hernández, S. y Mayek Pérez, Netzahualcóyotl 2005. Análisis patogénico y genético de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. En diferentes hospedantes. Revista Mexicana de Fitopatología, 23(1),11-18[Artículo en línea.] Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61223102> [Consultado: Enero de 2022].
- Muñoz-Cabañas R. Hernández-Delgado S and Mayek-Pérez N. 2004. Análisis patogénico y genético de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. En diferentes hospedantes. Universidad Autónoma de Aguascalientes. México. Revista Mexicana de Fitopatología, 23(1):11-18.
- Nene, Y. L.Thapilyal, P. N. 2000. Fungicides in Plant Disease Control (5 ed.), Oxford and IBH Publishing Company, Nueva Delhi. 691 pp.
- Norton, D. 1953. Linear growth of *Sclerotium bataticola* through soil. Phytopatology 43: 633- 636 pp.
- Nuez, F. 1995. El cultivo del Jitomate. 1 era. Edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 793 pp.
- Núñez, P.G. 2003. Fenología de materiales genéticos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) Tesis de Maestro en ciencias en agrobiotecnología. ITA- GIGAT lajomulco de Zúñiga, Jalisco, México. 163 pp.
- Ochoa, Y. Chávez, C. Landeros, J. Hernández, S. y Delgado, J.2012. Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de cuatro extractos vegetales metanólicos para el control de tres especies de *Fusarium* spp. [Documento en línea]:En línea disponible en http://revistaphyton.fundromuloraggio.org.ar/vol81/9-OCHOA_FUENTES.pdf [Consultado, Marzo.2022].
- Olson, M.E. Fahey, J.W. 2011. *Moringa oleifera*: un árbol multipropósito para las zonas tropicales secas. Revista Mexicana de Biodiversidad, 82: 1071-1082
- Ortega, S. Hernández, J. Sandoval, J. Ayala, V. Soto, L. Y Alejo, A. 2015. Distribución y Frecuencia de Organismos Asociados a la Enfermedad "Pata Prieta" de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*L.) [Artículo en línea] Rev. mex. fitopatol vol.33 no.2 Guerrero, México.Diponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092015000200173[Consultado: Marzo, 2022]

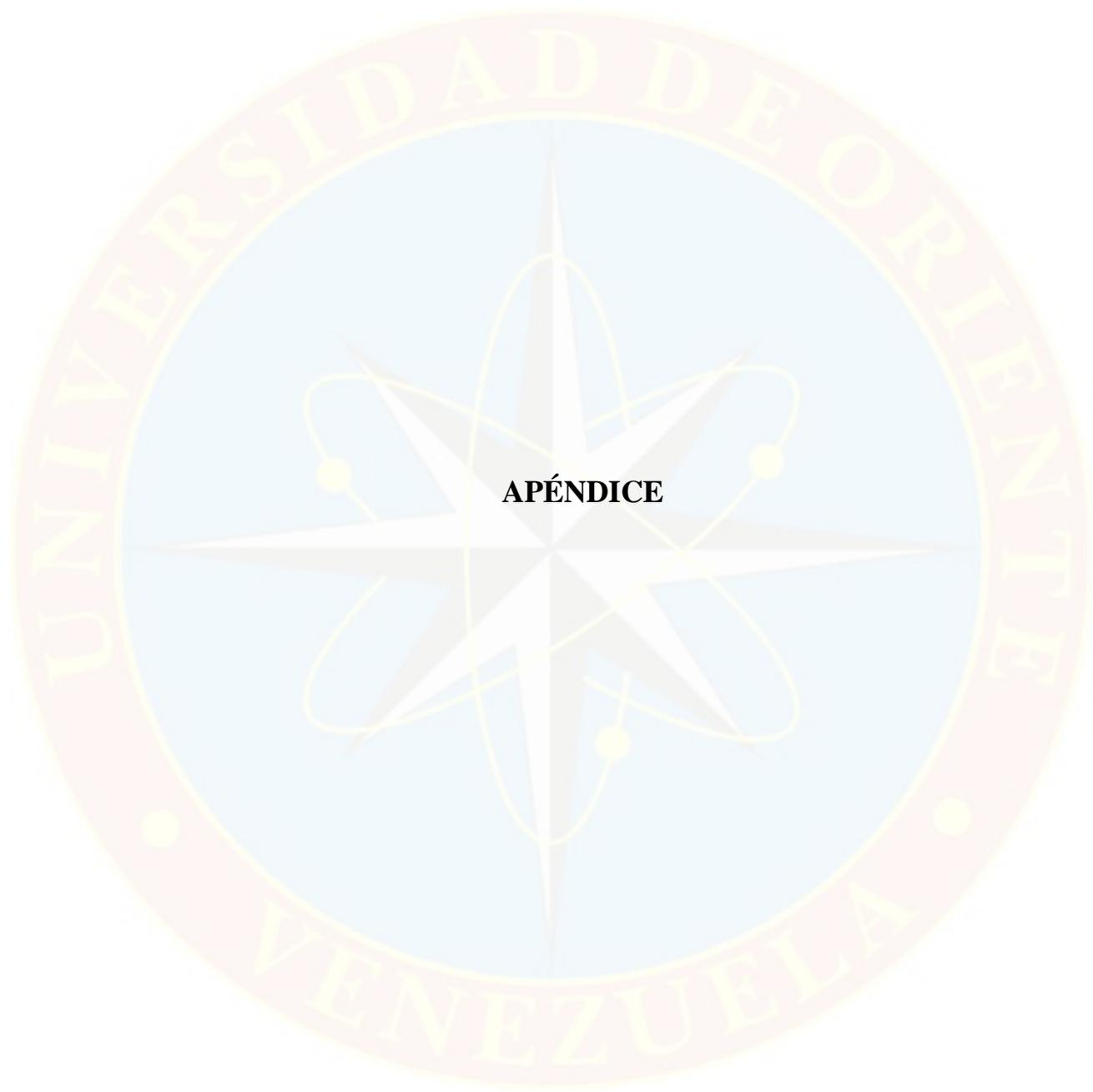
- Ortega, S. Hernández, J. Sandoval, J. Ayala, V. Soto, L. Y Alejo, A. 2015. Distribución y Frecuencia de Organismos Asociados a la Enfermedad "Pata Prieta" de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) [Artículo en línea] Rev. mex. Fitopatol vol.33no.2Guerrero, México. Diponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092015000200173 [Consultado: Marzo, 2022].
- Ortegon, A. Mendoza, A. Lovera, J. Díaz, A. Rosales, E. 1993 El girasol, México, D.F. 161pag.
- Pardo, A.K.; Arenas, J.J. Gómez, M.; Lora, F.M. Gómez, J.E. 2011. Determinación de la actividad antifúngica de extractos de *Lantana camara* frente a *Candidas* pp. Infectio, 15(4): 235-242.
- Patiño, N. 1978. Cultivo y aprovechamiento de la jamaica. Folleto Dirección general de Extensión Agrícola. Divulgación Chapingo México. pp 1-1.
- Pérez, C. 2012. *Moringa oleifera* Lam. especie forestal de usos múltiples. Revisión bibliográfica, Trabajo de grado. E.U.I.T. Forestal (U.P.M.) Madrid.
- Piñeiro A.1989 Evaluación de la influencia de diferentes dosis de nitrógeno, fósforo y potasio en el rendimiento y resistencia a *Macrophomina* (Tassi) Goid. en sorgo granero *Sorghum bicolor* (L.) Moench., Pioneer 815, Maracaibo (Venezuela), pp. 49, 1991.
- Prakash, A. RAO, J. 1997. Botanical pesticides in agriculture. CRC Lewis Publishers. Boca Raton. 461 p.
- Puente, M. A. Campos y A. L. León. 2005. Efecto fungicida o fungistático de un extracto vegetal sobre plantas susceptibles al hongo fitopatógeno del suelo *Sclerotium rolfsii* Sacc. en condiciones de cultivo protegido. pp. 637-643. En: Memorias XVII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM). Varadero, Matanzas, Cuba.
- Raut, J. G. 1983. Transmission of seed borne *Macrophomina phaseolina* in seed. Science and Technology 11:807–817. [Documento en línea]. Disponible en https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_pergamino_podredumbre_carbonosa_de_la_soja_causada_por_Macrophomina_phaseolina.pdf [Consultado: Marzo, 2022].
- Rayatpanah, S. Nanagulyan, S. Alavi y E. Yasari. 2009. Phenotypic variations of isolates of *Macrophomina phaseolina* from different hosts in Northern Iran. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 3: 2908-2913.

- Reigart, J. y Roberts, J. 1999. Reconocimiento y manejo de los envenenamientos por pesticidas. Washington, D.C. [Documento en línea]. Disponible en: <http://www.epa.gov/oppfod01/safety/spanish/healthcare/handbook/contents.htm> [Consultado: Enero. 2022].
- Riad S.R. El-Mohamedy y Aboelfetoh M. Abdalla. 2014 Evaluation of antifungal activity of *Moringa oleifera* extracts as natural fungicide against some plant pathogenic fungi In-vitro. Journal of Agricultural Technology 2014 Vol. 10(4): 963-982
- Rodríguez, E. Gómez, A. Anaya. J. Miniet, A. Velásquez, C. Elaboración de medios de cultivo alternativos y viables para el crecimiento microbiano. Vol 8 (1). ssn 2773-756x.
- Rojas, J. J. García, A. M. López, A. 2005. Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. Boletín latinoamericano del caribe de las plantas medicinales y aromáticas, 4(2): 28-35 pp.
- Rojas, P, J. 1999. Perspectivas de ampliación del mercado de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*),.México. 67 pp.
- Rosas ivon, Hernández, F. Palomo, L. Martínez, S, Acacio, J, Herrera, R. 2022. Polifenoles de diferentes fuentes vegetales y su efecto *in vitro* contra patógenos del garbanzo. Rev. Agríc vol (12)8 articulo en línea disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342021000801415. [Consultado: enero 2024].
- Rousk J, Brookes PC, Bååth E . (2010b). Investigating the mechanisms for the opposing pH-relationships of fungal and bacterial growth in soil. *Soil Biol Biochem* **42**: 926–934.
- Salazar-González, M., Sánchez-Cuevas, M.C, Silva-Acuña, R., Romero-Marcano, G. 2019. Saber, Universidad de Oriente, Venezuela. 31: 271-282. ISSN: 2343-6468 Digital / Depósito Legal ppi 198702SU4231 ISSN: 1315-0162 Impreso / Depósito Legal pp 198702SU187.
- Sanjay, Sanjeev Kumar and Balkishan Chaudhary. 2020. Effect of Different Media, Temperature and pH on Growth and Microsclerotia Formation of *Macrophomina phaseolina* Causing CharcoalRot of Soybean. 2278-6783

- Saravanakumar, D.Karthiba, L.RAmjegathesh, R. Prabakar, K. RAGUCHANDER, T. 2015.Characterization of bioactive compounds from botanicals for the management of plant diseases. En: GANESAN, S.; VADIVEL, K.; JAYARAMAN, J. (ed.). Sustainable Crop Disease Management Using Natural Products.Cabi.
- Sarr M. Ndiaye M. Groenewald J and Crous P. 2014. Genetic diversity in *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of charcoal rot.Phytopathologia Mediterranea, 53(2): 250-268.
- Short, G.E. Wyllie, T.D. and Bristow, P.R. 1980. Survival of *Macrophomina phaseolina* in soil and in residue of bean. Phytopathology 70: 13-17.
- Silva, A. Lagunés, J. Rodríguez, C. y Rodríguez, D.. 2002. Insecticidas vegetales; Una vieja-nueva alternativa en el control de plagas. [Revista en línea]No. 66 p . 4 - 1 2 , 2 0 0 2 Disponible en <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A2008e/A2008e.pdf> [Consultado: Marzo,2022].
- Singh, D. 2014. Advance in Plant Biopesticides. Springer. 401 pp.
- Singh, R.P. 2000. Botanicals in pest management: an ecological perspective. En: DHALIWAL, G.S.; SINGH, B.; (ed.). Pesticides and Environment.Commonwealth Publishers, Nueva Delhi.p.279-343 pp.
- Smith, R. S. Hodges, C. S. and Cordell, C. E. 1989. Charcoal root rot and black root rot. Department of Agriculture, Forest Service, Washington D.C., USA 112–113 pp..[Document en línea].Disponible enhttps://uadeo.mx/wp-content/uploads/2021/06/TESIS_EDGAR_RODRIGUEZ.pdf [Consultado: febrero, 2022].
- Smith, W. H. 1969. Germination of *Macrophomina phaseolisclerotia* as affected by *Pinuslambertiana* root exudate.The Journal of Microbiology 15:1387-13910[.Documento en línea] disponible en: https://uadeo.mx/wp-content/uploads/2021/06/TESIS_EDGAR_RODRIGUEZ.pdf [Consultado: febrero, 2022].
- Smits, B, Noruega, R. 1988. Ontogenia y morfogenesis de esclerocios de picnidios de *Macrophomina Phaseolina* [Documento en línea], disponible en: www.redpav.avepagro.org.ve/agrotrop/v384-6/v386a007.html. [Consultado: febrero, 2022].

- Stewart, S. y Rodríguez, M. 2013. Manual de identificación de enfermedades de la soja. Boletín de Divulgación N° 104. INIA. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Uruguay. 74 pp.
- Su, G. Sush S.O. Schneider R.W. and Russin J.S. 2001. Host specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*, Phytopathology 91: 120-126.
- Sulcra, L. y P. Franco 2006. Estudio de la microflora presente en la rizosfera de plantaciones de olivo, *Olea europea* L., con muerte regresiva en la zona de Yarada del Departamento de Tacna. Ciencia y Desarrollo 9: 33-36.
- Tanmay. Ghosh, M. k. Biswas, Chiranjib, Guin y Pradipta, Roy 2018 A review on characterization, therapeutic approaches and pathogenesis of *macrophomina phaseolina*. plant cell biotechnology and molecular biology 19(3&4):72-84;
- Teniente, O. R. 1983. Respuesta de la fertilización mineral y densidades de población por el sistema de producción maíz-jamaica, en la región de Tecoaapa, Guerrero. Tesis de Licenciatura. Monterrey. Monterrey N. L 56-57. pp.
- Torrealba, J.A.; Pineda, J.; Ulacio, D.; Escalante, H.; y Hernández, A. 2015. La pudrición carbonosa (*Macrophomina phaseolina*) en soya y su manejo mediante aplicaciones de *Trichoderma* spp. Y *Rhizobium* sp. Bioagro 27(3): 159-166.
- Tropicos.org.Jardín Botánico de Misuri disponible en:<https://tropicos.org/name/19600047>[consultado marzo de 2022].
- Trujillo, C. J. 2013 Evaluación de Seis Genotipos de Cundeamor (*Momordica charantia*) Variedad China para Exportación. Trabajo de grado. Universidad Rafael Landívar. Pp s/n.
- Twizeyimana, M. Hill, C.B. Pawlowski, M. PAUL.C. HARTMAN.G.L.2012 A cut-steminoculation technique to evaluate soybean for resistance to *Macrophomina*. Plant Disease 96:1210-1215.
- VanderMolen, K. M. Raja, H. A. El-Elimat, T. & Oberlies, N. H. (2013). Evaluation of culture media for the production of secondary metabolites in a natural products screening program. *AMB Express*, 3, 71. . Documento en línea disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172022000200007.

- Waheed, KhajistaJabeen, Sumera Iqbal, Arshad Javaid. 2016. BIOPESTICIDAL ACTIVITY OF *Calotropis procera*L. AGAINST *Macrophomina phaseolina*.13(6):163-167.
- Westphal, K. R. Heidebach, S. Zeuner, E. J. Riisgaard-Jensen, M. Nielsen, M. E. 2021. The effects of different potato dextrose agar media on secondary metabolite production in *Fusarium*.International Journal of Food Microbiology, 347, 10917.
- Wilson, C. L. El Glaouth, A. y Wisniewski M. E. 1999. Prospecting in nature's store house for biopesticides. Rev. Mex. Fitopatol. 17: 49-53.
- Zacarés, L. 2008. Nuevas aportaciones al metabolismo secundario del tomate, identificación y estudio de moléculas implicadas en la respuesta a la infección con *Pseudomonas syringae* pv. Tomato. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. documento disponible en línea en : <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/3021>. [Consultado: noviembre 2023].



APÉNDICE

Cuadro 1 Determinación del medio de cultivo más adecuado para multiplicar el hongo *Macrophomina phaseolina*, entre medios de cultivos artesanales (agar papa, agar zanahoria, agar harina de avena, agar harina de maíz, Czapek) y medios de cultivo comerciales (Agar Papa Dextrosa y Agar Czapek).

| Medios de cultivos | Diámetro de crecimiento (dds en capsula de petri) | | | | |
|-------------------------|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | 3d | 6d | 9d | 12d | 15d |
| CZKC | 6,23 ± 0,46 ^a | 8,19 ± 0,80 ^a | 8,59 ± 0,86 ^a | 8,59 ± 0,86 ^a | 8,59 ± 0,86 ^a |
| CZKA | 2,21 ± 0,36 ^c | 4,91 ± 0,87 ^c | 6,58 ± 0,85 ^b | 6,87 ± 0,79 ^b | 6,90 ± 0,76 ^b |
| PDAC | 4,83 ± 1,56 ^b | 7,59 ± 0,59 ^a | 7,58 ± 0,50 ^a | 7,66 ± 0,56 ^a | 7,66 ± 0,56 ^a |
| PDAA | 6,38 ± 0,35 ^a | 7,23 ± 0,32 ^a | 7,88 ± 0,31 ^a | 7,90 ± 0,35 ^a | 7,90 ± 0,35 ^a |
| AZAA | 5,82 ± 0,91 ^a | 7,28 ± 0,29 ^a | 7,50 ± 0,27 ^a | 7,60 ± 0,20 ^a | 7,61 ± 0,18 ^a |
| AHAA | 4,43 ± 1,05 ^b | 5,94 ± 0,52 ^b | 6,86 ± 0,59 ^b | 6,98 ± 0,48 ^b | 7,07 ± 0,54 ^b |
| AHMA | 5,55 ± 0,49 ^a | 6,40 ± 0,53 ^b | 6,82 ± 0,32 ^b | 7,04 ± 0,39 ^b | 7,00 ± 0,45 ^b |
| Promedio general | 5,06 ± 107,99 | 6,79 ± 157,21 | 7,4 ± 145,42 | 7,52 ± 137,61 | 7,53 ± 136,88 |

Cuadro 2. Prueba de Shapiro-Wilks para el diámetro de crecimiento

| Tiempo | Variable | n | Media | D.E. | W* | p(Unilateral D) |
|---------------|-----------------|----------|--------------|-------------|-----------|------------------------|
| 3 | POT_Diámetro | 28 | 162,74 | 107,99 | 0,89 | 0,0191 |
| 6 | POT_Diámetro | 28 | 339,49 | 157,21 | 0,96 | 0,6113 |
| 9 | POT_Diámetro | 28 | 420,64 | 145,42 | 0,91 | 0,0737 |
| 12 | POT_Diámetro | 28 | 438,21 | 137,61 | 0,9 | 0,0454 |
| 15 | POT_Diámetro | 28 | 440,26 | 136,88 | 0,9 | 0,0286 |

Cuadro 3. Prueba F para igualdad de varianzas para el diámetro de crecimiento

| Tiempo | Variable | Grupo(1) | Grupo(2) | n(1) | n(2) | Var(1) | Var(2) | F | p | prueba |
|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------|-------------|---------------|---------------|----------|----------|---------------|
| 3 | Diámetro | {AHAA} | {AHMA} | 4 | 4 | 0,24 | 1,1 | 0,22 | 0,2464 | Bilateral |
| 6 | Diámetro | {AHAA} | {AHMA} | 4 | 4 | 0,29 | 0,27 | 1,05 | 0,9705 | Bilateral |
| 9 | Diámetro | {AHAA} | {AHMA} | 4 | 4 | 0,1 | 0,34 | 0,29 | 0,3374 | Bilateral |
| 12 | Diámetro | {AHAA} | {AHMA} | 4 | 4 | 0,15 | 0,23 | 0,66 | 0,7411 | Bilateral |
| 15 | Diámetro | {AHAA} | {AHMA} | 4 | 4 | 0,2 | 0,29 | 0,71 | 0,7856 | Bilateral |

Cuadro 4. Análisis de la varianza para diámetro de crecimiento a los 3 días

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 53,48 | 9 | 5,94 | 9,08 | <0,0001 |
| Tratamiento | 50,04 | 6 | 8,34 | 12,75 | <0,0001 |
| Bloque | 3,43 | 3 | 1,14 | 1,75 | 0,1929 |
| Error | 11,78 | 18 | 0,65 | | |
| Total | 65,25 | 27 | | | |

R²: 0,82; R² Aj: 0,73; CV: 15,98

Cuadro 5. Prueba de Scott & Knott para los medios de cultivo a los 3 días

| Tratamiento | Medias | n | E.E. | | |
|--------------------|---------------|----------|-------------|---|---|
| PDAA | 6,38 | 4 | 0,4 | A | |
| CZKC | 6,23 | 4 | 0,4 | A | |
| AZAA | 5,82 | 4 | 0,4 | A | |
| AHMA | 5,55 | 4 | 0,4 | A | |
| PDAC | 4,83 | 4 | 0,4 | | B |
| AHAA | 4,43 | 4 | 0,4 | | B |
| CZKA | 2,21 | 4 | 0,4 | | C |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$); Error: 0,6542 gl: 18

Cuadro 6. Análisis de la varianza para diámetro de crecimiento a los 6 días

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 31,3 | 9 | 3,48 | 10,51 | <0,0001 |
| Tratamiento | 29,8 | 6 | 4,97 | 15,01 | <0,0001 |
| Bloque | 1,5 | 3 | 0,50 | 1,51 | 0,2456 |
| Error | 5,95 | 18 | 0,33 | | |
| Total | 37,25 | 27 | | | |

R²: 0,84; R² Aj: 0,76; CV: 8,47

Cuadro 7 Prueba de Scot t& Knott para los medios de cultivo a los 6 días

| Tratamiento | Medias | n | E.E. | |
|--------------------|---------------|----------|-------------|---|
| CZKC | 8,19 | 4 | 0,29 | A |
| PDAA | 7,59 | 4 | 0,29 | A |
| AZAA | 7,28 | 4 | 0,29 | A |
| PDAC | 7,23 | 4 | 0,29 | A |
| AHMA | 6,4 | 4 | 0,29 | B |
| AHAA | 5,94 | 4 | 0,29 | B |
| CZKA | 4,91 | 4 | 0,29 | C |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$); Error: 0,3308 gl: 18

Cuadro 8. Análisis de la varianza para diámetro de crecimiento a los 9 días

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| modelo | 13,12 | 9 | 1,46 | 4,46 | 0,0034 |
| tratamiento | 12,01 | 6 | 2,00 | 6,12 | 0,0012 |
| bloque | 1,11 | 3 | 0,37 | 1,13 | 0,3625 |
| error | 5,89 | 18 | 0,33 | | |
| total | 19,02 | 27 | | | |

R²: 0,69; R² Aj: 0,54; CV7,73

Cuadro 9. Prueba de Scott & para los medios de cultivo a los 9 días

| Tratamiento | Medias | n | E.E. | |
|--------------------|---------------|----------|-------------|---|
| CZKC | 8,59 | 4 | 0,29 | A |
| PDAA | 7,88 | 4 | 0,29 | A |
| PDAC | 7,58 | 4 | 0,29 | A |
| AZAA | 7,5 | 4 | 0,29 | A |
| AHAA | 6,86 | 4 | 0,29 | B |
| AHMA | 6,82 | 4 | 0,29 | B |
| CZKA | 6,58 | 4 | 0,29 | B |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$): Error: 0,3273 gl: 18

Cuadro 10. Análisis de la varianza para diámetro de crecimiento a los 12 días

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 10,03 | 9 | 1,11 | 3,49 | 0,0115 |
| Tratamiento | 9,08 | 6 | 1,51 | 4,75 | 0,0046 |
| Bloque | 0,94 | 3 | 0,31 | 0,99 | 0,4213 |
| Error | 5,74 | 18 | 0,32 | | |
| Total | 15,77 | 27 | | | |

R²: 0,64; R² Aj: 0,45; CV: 7,51

Cuadro 11. Prueba de Scott & Knott para los medios de cultivo a los 12 días

| Tratamiento | Medias | n | E.E. | |
|--------------------|---------------|----------|-------------|---|
| CZKC | 8,59 | 4 | 0,28 | A |
| PDAA | 7,9 | 4 | 0,28 | A |
| PDAC | 7,66 | 4 | 0,28 | A |
| AZAA | 7,6 | 4 | 0,28 | A |
| AHMA | 7,04 | 4 | 0,28 | B |
| AHAA | 6,98 | 4 | 0,28 | B |
| CZKA | 6,87 | 4 | 0,28 | B |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$); Error: 0,3190 gl: 18

Cuadro 12. Análisis de la varianza para diámetro de crecimiento a los 15 días

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 9,86 | 9 | 1,1 | 3,44 | 0,0123 |
| Tratamiento | 8,75 | 6 | 1,46 | 4,58 | 0,0055 |
| Bloque | 1,11 | 3 | 0,37 | 1,16 | 0,3506 |
| Error | 5,73 | 18 | 0,32 | | |
| Total | 15,59 | 27 | | | |

R²: 0,63; R² Aj: 0,45; CV: 7,49

Cuadro 13. Prueba de Scott & Knott para los medios de cultivo a los 15 días

| Tratamiento | Medias | n | E.E. | |
|--------------------|---------------|----------|-------------|---|
| CZKC | 8,59 | 4 | 0,28 | A |
| PDAA | 7,9 | 4 | 0,28 | A |
| PDAC | 7,66 | 4 | 0,28 | A |
| AZAA | 7,61 | 4 | 0,28 | A |
| AHAA | 7,07 | 4 | 0,28 | B |
| AHMA | 7 | 4 | 0,28 | B |
| CZKA | 6,9 | 4 | 0,28 | B |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$); Error: 0,3184 gl: 18

Cuadro 14. Resumen de velocidad de crecimiento y llenado de capsula de petri para la determinación de las medio de cultivos más adecuado para la multiplicación de *M. phaseolina*

| FV | gl | Cuadrados medios | |
|------------------|----|--|---|
| | | Velocidad de crecimiento (cm ² /día) | Tiempo de llenado (días) (Datos transformados Log2) |
| Medio de cultivo | 6 | 02,43 | 37,69 |
| Bloque | 3 | 111,78 | 1,32 |
| Error | 18 | 65,25 | 24,07 |
| CV (%) | | 8.78 | 8.83 |
| W (ShapiroWilk) | | 0,93 | 0,93 |
| P (Bartlett) | | > 0,05 | |

Cuadro 15. Velocidad de crecimiento y tiempo de llenado de capsula de petri comparado en diferentes medios de cultivo

| Medios de cultivo | Velocidad de crecimiento (cm²/día) | Tiempo de llenado (días) (Datos transformados Log₂) |
|--------------------------|--|---|
| CZKC | 0,51 | 10,45 |
| CZKA | 0,46 | 13,05 |
| PDAC | 0,45 | 16.35 |
| PDAA | 0,44 | 13,6 |
| AZAA | 0,40 | 12.95 |
| AHAA | 0,40 | 13.7 |
| AHMA | 0,40 | 10.45 |

Estadística comparativa (Media \pm CO) del Velocidad de crecimiento y Tiempo de llenado de capsula comparado en diferentes medios de cultivo

Cuadro 16. Prueba de Shapiro-Wilks para determina la velocidad de crecimiento de *Macrophomina*

| Variable | n | Media | D.E. | W* | p(Unilateral D) |
|-----------------|----------|--------------|-------------|-----------|------------------------|
| Velocidad | 28 | 0,44 | 0,05 | 0,93 | 0,1836 |

Cuadro 17. Prueba F para igualdad de varianzas para determina la velocidad de crecimiento *Macrophomina*

| Variable | Grupo(1) | Grupo(2) | n(1) | n(2) | Var(1) | Var(2) | F | p | prueba |
|-----------|----------|----------|------|------|----------|----------|------|--------|-----------|
| Velocidad | {AHAA} | {AHMA} | 4 | 4 | 1,60E-04 | 4,70E-04 | 0,34 | 0,3984 | Bilateral |

Cuadro 18. Prueba de Scott & Knott para la velocidad de crecimientode crecimiento *Macrophomina*

| Medio | Medias | n | E.E. | |
|-------------|--------|---|------|---|
| CZKC | 0,51 | 4 | 0,02 | A |
| PDAA | 0,46 | 4 | 0,02 | A |
| PDAC | 0,45 | 4 | 0,02 | A |
| AZAA | 0,44 | 4 | 0,02 | A |
| AHAA | 0,41 | 4 | 0,02 | |
| AHMA | 0,40 | 4 | 0,02 | B |
| CZKA | 0,40 | 4 | 0,02 | B |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$); Error: 0,0010 gl: 18

Cuadro 19. Prueba F para la igualdad de variancia para el tiempo de llenado

| Variable | Grupo(1) | Grupo(2) | n(1) | n(2) | Var(1) | Var(2) | F | p | prueba |
|-----------------------|----------|--|------|------|--------|--------|------|--------|-----------|
| POT_Tiempo de llenado | {PDAC} | {AHAA, AHMA, AZAA, CZKAPDAA .} | 4 | 24 | 0,57 | 2,32 | 0,24 | 0,2689 | Bilateral |

Cuadro 20. Prueba de Scott & Knott para el tiempo de llenado de crecimiento *Macrophomina*

| Medio | Medias | n | E.E. | |
|-------|--------|---|------|---|
| PDAC | 14,35 | 4 | 0,58 | A |
| AHMA | 13,70 | 4 | 0,58 | A |
| PDAA | 13,60 | 4 | 0,58 | A |
| AHAA | 13,55 | 4 | 0,58 | A |
| CZKA | 13,05 | 4 | 0,58 | A |
| AZAA | 12,95 | 4 | 0,58 | A |
| CZKC | 10,45 | 4 | 0,58 | B |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$); Error: 1,3373gl: 18

Cuadro 21. Prueba F para igualdad varianza para el área de crecimiento de *Macrophomina*

| Variable | Grupo(1) | Grupo(2) | n(1) | n(2) | Var(1) | Var(2) | F | p | prueba |
|----------|----------|------------------------------|------|------|--------|--------|------|--------|-----------|
| área | {PDAC} | {AHAA,AHMA,AZAA,CZKA,CZKC,.. | 20 | 120 | 164,37 | 186,26 | 0,88 | 0,7903 | Bilateral |

Cuadro 22. Prueba de Shapiro-Wilks para determinar el área crecimiento de *Macrophomina*

| Variable | n | Media | D.E. | W* | p(Unilateral D) |
|----------|-----|-------|------|------|-----------------|
| área | 140 | 38,51 | 13,5 | 0,96 | <0,0001 |

Evaluación del grado de inhibición de crecimiento que ejercen los extractos acuosos de cundeamor y moringa en el crecimiento del hongo *in vitro*

Cuadro 23. Análisis de la varianza para la determinación del extracto acuoso par el control de *Macrophomina*

| FV | gl | Cuadrados medios | | | | |
|------------------------|--------------|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | 3d | 6d | 9d | 12d | 15d |
| Extracto | 1 | 7,83E+10 | 87612920 | 71555,64 | 5913728,3 | 3760,59 |
| Concentración | 3 | 8,284E+10 | 116638601 | 11646240 | 13639542 | 2234046,5 |
| Extracto-concentración | 3 | 3,368E+10 | 64525811 | 665106,14 | 28656332 | 5659429,5 |
| Bloque | 3 | 1,979E+10 | 407108570 | 17565692 | 20623308 | 10994709 |
| Error | 21 | 7,721E+09 | 53854032 | 4856078,6 | 7375439,1 | 1399590,2 |
| CV (%) | 66,67 | 81,36 | 81,37 | 99,22 | 149,35 | 131,66 |
| W (ShapiroWilk) | | | | | | |
| P (Bartlett) | | $P < 0,05$ | | | | |

Cuadro 24. Análisis de la varianza para la determinación del extracto vegetal más efectivo para del control de *Macrophomina* a los 3 días después de la siembra

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|------------------------|-----------------|----|-----------------|-------|---------|
| Modelo | 487217555166,94 | 10 | 487217555166,94 | 6,31 | 0,0002 |
| Extracto | 78303482393,35 | 1 | 78303482393 | 10,14 | 0,0045 |
| Concentración | 248524750229,13 | 3 | 82841583410 | 10,73 | 0,0002 |
| Extracto-concentración | 101033251447,43 | 3 | 33677750482 | 4,36 | 0,0155 |
| Bloque | 59356071097,04 | 3 | 19785357032,35 | 2,56 | 0,0821 |
| Error | 162134242586,72 | 21 | 772067218,4 | | |
| Total | 649351797753,66 | 31 | | | |

R²: 0,75; R² Aj: 0,63; CV: 66,67

Cuadro 25. Análisis de la varianza para la determinación del extracto vegetal más efectivo para del control de *Macrophomina* a los 6 días después de la siembra

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------------------------|---------------|-----------|--------------|----------|----------------|
| Modelo | 1852431867,92 | 10 | 185243186,79 | 3,44 | 0,0082 |
| Extracto | 87612920,18 | 1 | 87612920,18 | 1,63 | 0,2161 |
| Concentración | 349915804,19 | 3 | 116638601,40 | 2,17 | 0,1223 |
| Extracto-concentración | 193577343,36 | 3 | 64525811,45 | 1,2 | 0,3347 |
| Bloque | 1221325709,19 | 3 | 407108569,7 | 7,56 | 0,0013 |
| Error | 1130934681,19 | 21 | 53854032,44 | | |
| Total | 2983366549,12 | 31 | | | |

R²:0,62; R² Aj: 0,44; CV: 81,37

Cuadro 26. Análisis de la varianza para la determinación del extracto vegetal más efectivo para del control de *Macrophomina* a los 9 días después de la siembra

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------------------------|--------------|-----------|-------------|----------|----------------|
| Modelo | 89702672,11 | 10 | 8970267,21 | 1,85 | 0,1135 |
| Extracto | 71555,64 | 1 | 71555,64 | 0,01 | 0,9045 |
| Concentración | 34938721,22 | 3 | 11646240,41 | 2,40 | 0,0967 |
| Extracto-concentración | 1995318,42 | 3 | 665106,14 | 0,14 | 0,9368 |
| Bloque | 52697076,82 | 3 | 17565692,27 | 3,62 | 0,0300 |
| Error | 701977651,17 | 21 | 4856078,63 | | |
| Total | 191680323,28 | 31 | | | |

R²:0,47; R² Aj: 0,21; CV: 92,2

Cuadro 27. Análisis de la varianza para la determinación del extracto vegetal más efectivo para del control de *Macrophomina* a los 12 días después de la siembra

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------------------------|--------------|-----------|-------------|----------|----------------|
| Modelo | 200585001,48 | 10 | 18235000,13 | 2,47 | 0,0379 |
| extracto | 11827456,68 | 1 | 5913726,34 | 0,80 | 0,4624 |
| concentración | 40918624,74 | 3 | 13639541,58 | 1,85 | 0,1708 |
| extracto-concentración | 85968996,98 | 3 | 28656332,33 | 3,89 | 0,0244 |
| bloque | 61869923,09 | 3 | 20623307,70 | 2,8 | 0,0666 |
| error | 147508782,38 | 21 | 7375439,12 | | |
| total | 348093783,85 | 31 | | | |

R²:0,58; R² Aj: 0,34; CV: 149,3

Cuadro 28. Prueba de Shapiro-wilks para la determinación del extracto vegetal más efectivo para del control de *Macrophomina*

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------------------------|-------------|-----------|-------------|----------|----------------|
| Modelo | 56668316,14 | 10 | 5666831,61 | 4,05 | 0,0033 |
| extracto | 3760,59 | 1 | 3760,59 | 0,0027 | 0,9591 |
| concentración | 6702139,42 | 3 | 2234046,47 | 1,60 | 0,2202 |
| extracto-concentración | 16978288,58 | 3 | 5659429,53 | 4,04 | 0,0204 |
| bloque | 32984127,55 | 3 | 10994709,18 | 7,86 | 0,0011 |
| error | 29391394,48 | 21 | 1399590,21 | | |
| total | 86059710,61 | 31 | | | |

R²: 0,66; R² Aj: 0,50; CV: 131,

Cuadro 29. Análisis de la varianza para la determinación del extracto vegetal más efectivo para del control de *Macrophomina* a los 15 días después de la siembra

| Tiempo | variable | N | Media | D.E | W* | p-unilateral |
|--------|----------|----|------------|----------|------|--------------|
| 3 | POT_&IM | 32 | -131800,53 | 144730,2 | 0,83 | 0,5 |
| 6 | POT_&IM | 32 | -9018,46 | 9810,08 | 0,96 | 0,5489 |
| 9 | POT_&IM | 32 | -3289,58 | 2486,61 | 0,97 | 0,8083 |
| 12 | POT_&IM | 32 | -1818,42 | 3350,94 | 0,63 | 0,5 |
| 15 | POT_&IM | 32 | -898,54 | 1666,17 | 0,98 | 0,9702 |

Cuadro 30. Prueba F para igualdad de varianza para para la determinación del extracto vegetal más efectivo para del control de *Macrophomina*

| Tiempo | Variable | Grupo(1) | Grupo(2) | N(1) | N(2) | Var(1) | Var(2) | F | P | Prueba |
|--------|----------|-----------|----------|------|------|----------------|-------------|------|--------|-----------|
| 3 | POT_%IM | cundeamor | Moringa | 16 | 16 | 26964940108,25 | 11104947582 | 2,43 | 0,0962 | bilateral |
| 6 | POT_%IM | cundeamor | Moringa | 16 | 16 | 144326682,3 | 48723559,65 | 2,96 | 0,433 | bilateral |
| 9 | POT_%IM | cundeamor | Moringa | 16 | 16 | 8913594,86 | 3860322,98 | 2,31 | 0,116 | bilateral |
| 12 | POT_%IM | cundeamor | Moringa | 16 | 16 | 2826638,85 | 19641218,33 | 0,14 | 0,005 | bilateral |
| 15 | POT_%IM | cundeamor | Moringa | 16 | 16 | 3646812,83 | 2090250,50 | 1,74 | 0,2922 | bilateral |

Determinación del porcentaje de inhibición que ejercen los extractos acuosos de cundeamor y moringa en el crecimiento del hongo *in vivo*.

Cuadro 31. Resumen de plantas muertas después de la inoculación con *Macrophomina*

| | | Cuadrados medios | | | | | | | |
|---------------------|-----------|------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | CUA | CUB | CUM | MOA | MOB | MOM | TIS | TSS |
| modelo | 1 | 4922,85 | 5062,60 | 6328,37 | 4449,46 | 6566,41 | 6646,73 | 8720,95 | 4582,28 |
| semana | 1 | 4922,895 NS | 5062,50 | 6328,37 | 4449,46 | 6566,41 | 6646,73 | 8720,95 | 4582,28 |
| error | 18 | 353,79 NS | 464,19 | 4790,19 | 311,46 | 549,34 | 379,87 | 448,77 | 397,56 |
| P (Bartlett) | | $P < 0,05$ | | | | | | | |

Cuadro 32. Análisis de regresión lineal para la determinación de plantas muertas (CUA)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|--------------------|------------|----|---------|-------|---------|
| Modelo | 4922085,00 | 1 | 4922,85 | 13,91 | 0,0015 |
| tratamiento | 4922,85 | 1 | 4922,85 | 13,91 | 0,0015 |
| Error | 6365,16 | 16 | 353,79 | | |
| Total | 11291,02 | 19 | | | |

R²:0,44; R² Aj: 0,4; ECMP: 445,95; AIC: 178,02; BIC:181,01

Cuadro 33. Coeficiente de regresión y estadísticos asociados para la determinación de plantas muertas (CUA)

| Coef. | Est. | E.E, | LI(95\$) | LS(95%) | T | P-valor | CpMallowe | VIF |
|--------------|-------------|-------------|-----------------|----------------|----------|----------------|------------------|------------|
| Const | 43,39 | 9,86 | 23,18 | 64,63 | 4,45 | 0,0003 | | |
| semanas | 11,09 | 2,97 | 4,85 | 17,34 | 3,73 | 0,0015 | 13,91 | 1 |

Cuadro 34. Análisis de regresión lineal para la determinación de plantas muertas (CUB)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|----------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 5062,50 | 1 | 5062,5 | 10,91 | 0,004 |
| SEMANAS | 5065,50 | 1 | 5062,5 | 10,91 | 0,004 |
| Error | 8355,47 | 18 | 464,19 | | |
| total | 13417,97 | 19 | | | |

R²: 0,38; R² Aj.: 0,34; ECMP: 610,66; AIC: 183,43; BIC. 186,44

Cuadro 35. Coeficiente de regresión y estadísticos asociados a la determinación de plantas muertas (CUB)

| Coef. | Est. | E.E, | LI(95\$) | LS(95%) | T | P-valor | CpMallowe | VIF |
|--------------|-------------|-------------|-----------------|----------------|----------|----------------|------------------|------------|
| Const | 44,38 | 11,3 | 20,64 | 68,11 | 3,93 | 0,001 | | |
| semanas | 11,45 | 3,41 | 4,09 | 18,41 | 3,3 | 0,004 | 10,91 | 1 |

Cuadro 36. Análisis de regresión lineal para la determinación de plantas muertas (CUM)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|----------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 6328,37 | 1 | 6328,37 | 13,21 | 0,0019 |
| SEMANAS | 6328,37 | 1 | 6328,37 | 13,21 | 0,0019 |
| Error | 8624,76 | 18 | 479,15 | | |
| total | 14953,13 | 19 | | | |

R²: 0,44; R² Aj: 0,41; ECMP: 411,81; AIC: 175,48; BIC: 187,46

Cuadro 37. Coeficiente de regresión y estadísticos asociado para la determinación de plantas muertas (CUM)

| Coef. | Est. | E.E, | LI(95\$) | LS(95%) | T | P-valor | CpMallowe | VIF |
|--------------|-------------|-------------|-----------------|----------------|----------|----------------|------------------|------------|
| Const | 27,27 | 11,48 | 3,15 | 51,38 | 2,38 | 0,289 | | |
| semanas | 12,58 | 3,46 | 5,31 | 19,85 | 3,63 | 0,0019 | 13,21 | 1 |

Cuadro 38. Análisis de regresión lineal para la determinación de plantas muertas (MOA)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|----------------|----------|----|---------|-------|---------|
| Modelo | 4449,46 | 1 | 4449,46 | 14,24 | 0,0014 |
| SEMANAS | 4449,46 | 1 | 4449,46 | 14,28 | 0,0014 |
| Error | 5606,69 | 18 | 311,48 | | |
| total | 10056,15 | 19 | | | |

R²:
0,4; R²
Aj:

0,37; ECMP: 723,11; AIC: 186,82; BIC: 189,81

Cuadro 39. Coeficientes de regresión y estadísticos asociados para la determinación de plantas muertas (MOA)

| Coef. | Est. | E.E. | LI(95\$) | LS(95%) | T | P-valor | CpMallowe | VIF |
|---------|-------|------|----------|---------|------|---------|-----------|-----|
| Const | 48,83 | 9,26 | 29,38 | 68,27 | 5,28 | 0,0001 | | |
| semanas | 10,55 | 2,79 | 4,68 | 16,41 | 3,78 | 0,0014 | 14,28 | 1 |

Cuadro 40. Análisis de regresión lineal para la determinación de plantas muertas (MOB)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|----------------|----------|----|---------|-------|---------|
| Modelo | 6566,41 | 1 | 6566,41 | 11,95 | 0,0028 |
| SEMANAS | 6566,41 | 1 | 6566,41 | 11,95 | 0,0028 |
| Error | 9888,59 | 18 | 549,36 | | |
| total | 16454,59 | 19 | | | |

R²: 0,48; R² Aj: 0,38; ECMP: 464,38; AIC: 187,48; BIC: 182,43

Cuadro 41. Coeficiente de regresión y estadísticos asociados para la determinación de plantas muertas (MOB)

| Coef. | Est. | E.E. | LI(95\$) | LS(95%) | T | P-valor | CpMallowe | VIF |
|--------------|-------------|-------------|-----------------|----------------|----------|----------------|------------------|------------|
| Const | 42,97 | 12,29 | 17,15 | 68,78 | 3,5 | 0,0026 | | |
| semanas | 12,81 | 3,71 | 5,03 | 20,6 | 3,46 | 0,0028 | 11,95 | 1 |

Cuadro 42. Análisis de regresión lineal para la determinación de plantas muertas (MOM)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|----------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 6646,73 | 1 | 6646,73 | 17,5 | 0,0006 |
| SEMANAS | 6646,73 | 1 | 6646,73 | 17,5 | 0,0006 |
| Error | 6837,65 | 18 | 379,87 | | |
| total | 13484,38 | 19 | | | |

Cuadro 43. Coeficiente de regresión y estadísticos asociados para la determinación de plantas muertas (MOM)

| Coef. | Est. | E.E. | LI(95\$) | LS(95%) | T | P-valor | CpMallowe | VIF |
|--------------|-------------|-------------|-----------------|----------------|----------|----------------|------------------|------------|
| Const | 35,08 | 10,22 | 13,61 | 56,55 | 3,43 | 0,003 | | |
| semanas | 12,89 | 3,08 | 6,42 | 19,36 | 4,18 | 0,0006 | 17,5 | 1 |

Cuadro 44. Análisis de regresión lineal para la determinación de plantas muertas TIS

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|----------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 8720,95 | 1 | 8720,95 | 19,43 | 0,0003 |
| SEMANAS | 8720,95 | 1 | 8720,95 | 19,43 | 0,0003 |
| Error | 8077,88 | 18 | 448,77 | | |
| total | 16798,83 | 19 | | | |

R²:0,52; R² Aj: 0,49; ECMP: 473,12; AIC: 182,78; BIC: 185,77

Cuadro 45. Coeficiente de regresión y estadísticos asociados para la determinación de plantas muertas TIS

| Coef. | Est. | E.E. | LI(95\$) | LS(95%) | T | P-valor | CpMallowe | VIF |
|--------------|-------------|-------------|-----------------|----------------|----------|----------------|------------------|------------|
| Const | 29,77 | 11,11 | 6,43 | 55,1 | 2,68 | 0,153 | | |
| semanas | 14,77 | 3,35 | 7,73 | 21,8 | 4,41 | 0,0003 | 19,43 | 1 |

Cuadro 46. Análisis de regresión lineal para la determinación de plantas muertas TSS

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|----------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 4582,28 | 1 | 4582,28 | 11,7 | 0,003 |
| SEMANAS | 4582,28 | 1 | 4582,328 | 11,7 | 0,003 |
| Error | 7048,1 | 18 | 391,56 | | |
| total | 11630,37 | 19 | | | |

R²: 0,39; R² Aj: 0,36; ECMP: 508,07; AIC: 180,05; BIC: 183,04

Cuadro 47. Coeficiente de regresión y estadísticos asociados para la determinación de plantas muertas TSS

| Coef. | Est. | E.E, | LI(95\$) | LS(95%) | T | P-valor | CpMallowe | VIF |
|--------------|-------------|-------------|-----------------|----------------|----------|----------------|------------------|------------|
| Const | 29,77 | 11,11 | 6,43 | 53,1 | 2,68 | 0,0153 | | |
| semanas | 14,77 | 3,35 | 7,73 | 21,8 | 4,41 | 0,0003 | 19,43 | 1 |

HOJAS METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso - 1/6

| | |
|---------------|---|
| Título | CONTROL DE <i>Macrophomina phaseolina</i> MEDIANTE EL USO DE EXTRACTOS VEGETALES |
|---------------|---|

El Título es requerido. El subtítulo o título alternativo es opcional.

Autor(es)

| Apellidos y Nombres | Código CVLAC / e-mail | |
|----------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| Sarahys Alexandra Morales | CVLAC | C.I: 24865394 |
| Cardozo | e-mail | sarahystesis@gmail.com |
| | CVLAC | C.I: |
| | e-mail | |

Se requiere por lo menos los apellidos y nombres de un autor. El formato para escribir los apellidos y nombres es: "Apellido1 InicialApellido2., Nombre1 InicialNombre2". Si el autor esta registrado en el sistema CVLAC, se anota el código respectivo (para ciudadanos venezolanos dicho código coincide con el numero de la Cedula de Identidad). El campo e-mail es completamente opcional y depende de la voluntad de los autores.

Palabras o frases claves:

| |
|---|
| Flor de Jamaica, Hibiscus sabdariffa, , |
| cultivo in vitro |
| tasa de crecimiento micelial, |
| pata prieta de flor de Jamaica y control biológico. |

El representante de la subcomisión de tesis solicitará a los miembros del jurado la lista de las palabras claves. Deben indicarse por lo menos cuatro (4) palabras clave.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso - 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

| Área | Sub-área |
|---------------------------------|-----------------------|
| Tecnología y Ciencias Aplicadas | Ingeniería Agronómica |
| | |
| | |

Debe indicarse por lo menos una línea o área de investigación y por cada área por lo menos un subárea. El representante de la subcomisión solicitará esta información a los miembros del jurado.

Resumen (Abstract):

La enfermedad conocida como pudrición carbonosa o pata prieta, causada por *Macrophomina phaseolina* (*Mp*), puede ocasionar pérdidas considerables en varios cultivos, incluyendo flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Los medios de cultivo comerciales para el aislamiento y multiplicación del hongo tienen alto costo y baja disponibilidad en el mercado local, por lo que se requieren sustituirlos por otros accesibles y económicos. Se estudió el efecto de medios de cultivo comerciales [Agar Papa Dextrosa Hopebio® (PDAC), Agar Czapek Hopebio® (CZK)] y artesanales [Agar Papa Dextrosa (PDAA), Czapek-artesanal (CZKA), Agar-zanahoria (AZAA), Agar-harina de maíz (AHMA), Agar-harina de avena (AHAA)], en el desarrollo *in vitro* de *Mp* aislado de plantas de flor de Jamaica afectadas por el patógeno. Cada capsula de petri se inoculó con un disco de 1cm² del hongo en cultivo puro y se midió el diámetro y área de la colonia cada 24 h hasta el llenado de las capsula de petri. Se utilizó el diseño de bloques al azar, con siete tratamientos, cuatro repeticiones y cinco capsula de Petri por unidad experimental. Los resultados mostraron que todos los medios de cultivo permitieron el crecimiento del hongo. El PDAA fue uno de los medios de cultivos artesanales que presentó mayor diámetro de crecimiento, con la ventaja de prepararse con materiales económicos y de fácil acceso en el mercado local. En cuanto al control *in vitro*, se utilizó los extractos de moringa (*Moringa oleifera*) y cundeamor (*Momordica charantia*) en distintas concentraciones (25, 50, 75 y 100 %). El control *in vitro* de *Mp* fue más efectivo con los extractos de moringa al 100 % y cundeamor al 25 %. Por último, se evaluó la técnica de inoculación de punción del tallo con aguja de disección y poda de raíz.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso - 3/6

Contribuidores:

| Apellidos y Nombres | Código CVLAC / e-mail | |
|---------------------|-----------------------|--|
| Dra. Maria Sanchez | ROL | CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/> |
| | CVLAC | C.I 12154713 |
| | e-mail | sanchezcuevas@gmail.com |
| Dr. Ramon Silva | ROL | CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> |
| | CVLAC | C.I 4334972 |
| | e-mail | drramonsilvaa@gmail.com |
| Ing. Yurima Campos | ROL | CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> |
| | CVLAC | C.I 19090064 |
| | e-mail | Ycampos.udomonagas@gmail.com |

Se requiere por lo menos los apellidos y nombres del tutor y los otros dos (2) jurados. El formato para escribir los apellidos y nombres es: "Apellido1 InicialApellido2., Nombre1 InicialNombre2". Si el autor esta registrado en el sistema CVLAC, se anota el código respectivo (para ciudadanos venezolanos dicho código coincide con el numero de la Cedula de Identidad). El campo e-mail es completamente opcional y depende de la voluntad de los autores. La codificación del Rol es: CA = Coautor, AS = Asesor, TU = Tutor, JU = Jurado.

Fecha de discusión y aprobación:

| Año | Mes | Día |
|------|-----|-----|
| 2024 | 02 | 20 |

Fecha en formato ISO (AAAA-MM-DD). Ej: 2005-03-18. El dato fecha es requerido.

Lenguaje: spa

Requerido. Lenguaje del texto discutido y aprobado, codificado usando ISO 639-2. El código para español o castellano es spa. El código para ingles en. Si el lenguaje se especifica, se asume que es el inglés (en).

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso - 4/6

Archivo(s):

| |
|-----------------------------|
| Nombre de archivo |
| Sarahys.Morales.docx |

Caracteres permitidos en los nombres de los archivos: **A B C D E F G H I J K L M
N O P Q R S T U V W X Y Z a b c d e f g h i j k l m n o p q r s t u v w x y z 0 1 2
3 4 5 6 7 8 9 _ - .**

Alcance:

Espacial: _____ (opcional)

Temporal: _____ (opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

Ingeniero Agrónomo

Dato requerido. Ejemplo: Licenciado en Matemáticas, Magister Scientiarum en Biología Pesquera, Profesor Asociado, Administrativo III, etc

Nivel Asociado con el trabajo: Ingeniería

Dato requerido. Ejs: Licenciatura, Magister, Doctorado, Post-doctorado, etc.

Área de Estudio:

Tecnología y Ciencias aplicadas

Usualmente es el nombre del programa o departamento.

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente Núcleo Monagas

Si como producto de convenciones, otras instituciones además de la Universidad de Oriente, avalan el título o grado obtenido, el nombre de estas instituciones debe incluirse aquí.

Hoja de metadatos para tesis y trabajos de Ascenso- 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI-139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

SISTEMA DE BIBLIOTECA

RECIBIDO POR *Mazpuz*

FECHA 5/8/09 HORA 5:30

Cordialmente,

Juan A. Bolaños Currello

JUAN A. BOLAÑOS CURRELLO
Secretario

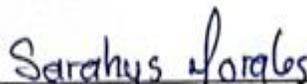
C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/marija

Hoja de metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

Derechos:

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (VIGENTE a partir del II Semestre 2009, según comunicado CU-034-2009): "Los Trabajos de Grado son de exclusiva propiedad de la Universidad, y solo podrán ser utilizados a otros fines, con el consentimiento del Consejo de Núcleo Respectivo, que deberá participarlo previamente al Consejo Universitario, para su autorización."



Br. Sarahys Alexandra Morales Cardozo
C.I. 24.865.394
Estudiante



Dra. María Claudia Sánchez Cuevas
C.I. 12.154.713
Tutora académica