



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"

UNIVERSIDAD DE SONORA

FACULTAD INTERDISCIPLINARIA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y
TECNOLÓGICAS

POSGRADO EN BIOCENCIAS

USO DEL ACEITE ESENCIAL Y EXTRACTO ACUOSO DE ORÉGANO (*Lippia palmeri* W.) COMO ANTIFÚNGICO, REPELENTE Y ANTIVIRAL EN CULTIVO DE CALABAZA

TESIS

que para obtener el grado de:

DOCTORA EN BIOCENCIAS

presenta:

GENESIS VALENZUELA QUINTERO

Hermosillo, Sonora, México

4 de agosto de 2023

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

Hermosillo, Sonora a 4 de agosto de 2023.

Asunto: Licencia de uso no exclusiva

UNIVERSIDAD DE SONORA
P R E S E N T E.

Por este conducto hago constar que soy autor y titular de la obra denominada “**Uso del aceite esencial y extracto acuoso de orégano (*Lippia palmeri* W.) como antifúngico, repelente y antiviral en cultivo de calabaza**” (LA OBRA), que realicé como trabajo terminal siendo estudiante de Doctorado, como requisito para obtener el Grado de **Doctorado en Biociencias** en la Universidad de Sonora (UNISON), y en justa retribución autorizo a la UNISON, para que divulgue total o parcialmente LA OBRA mediante repositorios, bibliotecas, distribución electrónica y reproducción, así como la digitalización de la misma, con fines educativos, de investigación, de extensión y de difusión de la cultura, las veces que se requieren y en cualquiera otra forma en que a juicio de la UNISON sea necesario utilizarla, sin fines de lucro, en el entendido de que habrá de respetar en todo momento mi autoría y a otorgarme el crédito correspondiente en todas las actividades mencionadas anteriormente.

De la misma manera, manifiesto que el contenido académico, literario, la edición y en general cualquier parte de LA OBRA son de mi entera responsabilidad, por lo que deslindo a la UNISON por cualquier violación a los derechos de autor y/o propiedad intelectual y/o cualquier responsabilidad relacionada con la OBRA del que suscribe, frente a terceros.

Esta autorización es gratuita y la otorgo por un tiempo de cinco años, renovable automáticamente por el mismo periodo, reservándome el derecho de manifestar, en un plazo de cuando menos treinta días naturales previos a su vencimiento, su revocación por escrito dirigido a la Rectoría de la Universidad de Sonora.

Así mismo, esta autorización no es exclusiva y no implica la cesión de mis derechos patrimoniales.

A T E N T A M E N T E



Nombre completo y firma: **Genesis Valenzuela Quintero**

Departamento Académico: Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas
Dirección: Luis Donald Colosio s/n, entre Sahuaripa y Reforma. Col Centro, C.P. 83000.
Hermosillo, Sonora, México.

Correo electrónico y teléfono: posgrado.biociencias@unison.mx Tel. (662) 2592169.

USO DE ACEITE ESENCIAL Y EXTRACTO ACUOSO DEL ORÉGANO (*Lippia palmeri* W.)
COMO ANTIFÚNGICO, REPELENTE Y ANTIVIRAL EN CULTIVO DE CALABAZA

T E S I S

que para obtener el grado de:

DOCTORA EN BIOCENCIAS

presenta:

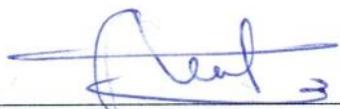
GENESIS VALENZUELA QUINTERO

Hermosillo, Sonora, México.

4 de agosto del 2023

APROBACIÓN

Los miembros del Comité designado para revisar la tesis intitulada “Uso del aceite esencial y extracto acuoso de orégano (*Lippia palmeri* W.) como antifúngico, repelente y antiviral en cultivo de calabaza” presentada por Genesis Valenzuela Quintero, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Doctorado en Biociencias.



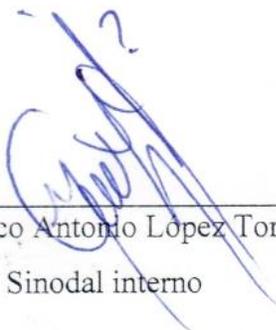
Dra. María Guadalupe Burboa Zazueta

Directora y Presidenta



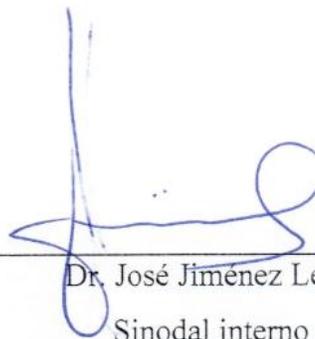
Dr. Enrique De la Re Vega

Sinodal interno y Secretario



Dr. Marco Antonio López Torres

Sinodal interno



Dr. José Jiménez León

Sinodal interno



Dr. Gilberto Curlango Rivera

Sinodal externo

DEDICATORIA

A MI MADRE ARTEMISA:
QUE ME HA ENSEÑADO A LUCHAR
Y POR MOSTRARME EL VERDADERO
SIGNIFICADO DE FORTALEZA,
POR TODO EL AMOR, APOYO Y SER MI GUÍA.

A LA DRA. MALENA †:
QUE DESDE EL CIELO ME SIGUE
ACOMPAÑANDO EN CADA PASO
QUE DOY EN EL CAMINO
DE LA INVESTIGACIÓN.

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD DE SONORA, AL POSGRADO EN BIOCENCIAS Y AL CONACYT POR BRINDARME LA OPORTUNIDAD DE FORMAR MI VIDA PROFESIONAL Y POR SU APOYO INCONDICIONAL EN ESTE CAMINO.

A LA DRA. MARÍA MAGDALENA ORTEGA †, POR HABERME ABIERTO UNA VEZ MÁS LAS PUERTAS Y PODER SEGUIR EN EL CAMINO DE LA INVESTIGACIÓN. SIEMPRE LE AGRADECERE POR ESTAR AL PENDIENTE DE MI, DEPOSITAR SU CONFIANZA Y DARME ESTA GRAN OPORTUNIDAD.

DRA. MARÍA GUADALUPE BURBOA ZAZUETA, POR SU CONSTANTE PREOCUPACIÓN Y ESTAR AL PENDIENTE DENTRO Y FUERA DE LA INVESTIGACIÓN, GRACIAS POR HABER ACEPTADO LA RESPONSABILIDAD DE SEGUIR COMO MI DIRECTORA Y POR NO DEJARME SOLA EN ESTE CAMINO.

DR. JOSÉ JIMÉNEZ LEÓN, POR SIEMPRE APOYARME Y CONSTANTEMENTE ENSEÑARME VALIOSAS LECCIONES DE AGRICULTURA Y LO MARAVILLOSA QUE ES LA VIDA EN EL CAMPO.

DR. GILBERTO CURLANGO RIVERA, QUE A PESAR DE ESTAR LEJOS SIEMPRE ESTUVO AL PENDIENTE DE LA INVESTIGACIÓN, APOYANDONOS EN TODO Y SIENDO PARTE IMPORTANTE DE ELLA.

DR. ENRIQUE DE LA RE-VEGA, GRACIAS POR HABER ACEPTADO FORMAR PARTE DEL PROYECTO Y ASÍ PODER CONCLUIRLO, SIEMPRE APOYANDOME EN CUALQUIER SITUACIÓN.

DR. MARCO LOPEZ TORRES, GRACIAS POR TODA LA PACIENCIA Y LA CONFIANZA DEPOSITADA PARA PODER CULMINAR ESTE PROCESO, SIEMPRE AGRADECIDA POR EL CONOCIMIENTO QUE NOS COMPARTIO.

A MI PAPÁ JOSE ALBERTO VALENZUELA, MI MAMA ARTEMISA QUINTERO Y HERMANA SHALOM VALENZUELA POR HABERME SOPORTADO EN TODO ESTE CAMINO Y SIEMPRE APOYARME EN TODO, SABEN QUE LOS AMO INCONDICIONALMENTE.

A MI ESPOSO JORGE CEJA LOPÉZ, POR SIEMPRE MOSTRARME LO BONITO DE LA VIDA, TENERME PACIENCIA Y NO DEJARME NUNCA SOLA EN ESTE CAMINO TAN AGITADO, TE AMO MUCHÍSIMO.

A MANUEL VINDIOLA POR APOYARME DESDE LEJOS Y ESTAR AL PENDIENTE.

A JUAN PEDRO LOPÉZ Y MIGUEL CORONADO POR COMPARTIR SUS CONOCIMIENTOS DENTRO DEL LABORATORIO Y EN EL CAMPO.

A MIS AMIGOS JOSE PABLO LOVIO FRAGOSO LOVIO Y KARLA FABIOLA YESCAS ROMO POR TODAS LAS AVENTURAS VIVIDAS EN ESTE PROCESO, POR SIEMPRE ESCUCHARME, AYUDARME, POR SU AMISTAD Y SUS CONSEJOS. A FERNANDO RAZO, MARIELENA CLARK, YEIMI CECILIA VEGA Y VICTOR DE LA TORRE POR LOS BUENOS MOMENTOS Y RECUERDOS FORMADOS DENTRO Y FUERA DEL LABORATORIO.

A MI ABUELA, TÍAS, TÍOS Y PRIMOS, POR EL AMOR QUE ME DAN Y SIEMPRE ESTAR AL PENDIENTE DE MI.

AVECES VOLTEO AL CIELO, SONRIÓ Y DIGO “YO SE QUE FUISTE TÚ”, GRACIAS DIOS.

RESUMEN

En los últimos años en la agricultura ha existido una creciente necesidad de disminuir y sustituir el uso de químicos sintéticos por la aplicación de extractos vegetales y aceites esenciales en los cultivos para el control de fitopatógenos estos son productos autorizados en Agricultura Ecológica y poseen un amplio potencial de empleo en sanidad vegetal. Se caracterizan principalmente por ser productos de baja toxicidad para los vertebrados, no dan lugar al desarrollo de resistencias, se degradan con rapidez y son amigables con el ambiente. Estos productos son de gran importancia por su efecto en el control de plagas y enfermedades de las plantas, debido a sus compuestos que les confieren diversas propiedades de interés agroindustrial. Por lo que se planteó como objetivo general para este trabajo evaluar el efecto repelente, antiviral y fungicida del aceite esencial y extracto acuoso del orégano cultivado (*Lippia palmeri* W.) sobre mosquita blanca (*Bemisia tabaci* G.), el virus del enrollamiento de la hoja de la calabaza y los hongos patógenos (*Thanatephorus* sp. y *Fusarium oxysporum* Schltdl.). La actividad antifúngica se realizó mediante el método de difusión en agar sobre los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* y *Thanatephorus* sp. Se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de las concentraciones de aceite esencial 0, 100, 150, 200, 250 y 300 $\mu\text{L}/\text{mL}$ y del extracto acuoso 0, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 g, el cual fue evaluado mediante un análisis de varianza (ANOVA) y posterior comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$). El aceite esencial y el carvacrol de *L. palmeri* W. lograron inhibir al 100 % el crecimiento de *Fusarium oxysporum*, a diferencia de *Thanatephorus* sp. que obtuvo entre 90 y 100 %. El extracto acuoso inhibió según la dosis aplicada a *F. oxysporum* entre el 20 y 100 % y para *Thanatephorus* sp. fue de 10 a 100 %. En este trabajo se estableció un bioensayo donde se probaron 2 diferentes dosis de aceite esencial y extracto acuoso del orégano, *Lippia palmeri* W. en cultivo de calabaza; la repelencia se midió por el promedio de insectos posados en plantas tratadas. El aceite esencial en concentraciones de 40 y 60% presentó en promedio de 7 a 11 mosquitas blancas por planta, el extracto acuoso obtuvo un promedio de repelencia entre 10 y 15; el análisis de variancia mostró diferencias significativas entre los tratamientos del extracto acuoso y la cipermetrina utilizada como control positivo, mientras que para el aceite esencial no se encontraron diferencias.

ABSTRACT

In recent years in agriculture there has been a growing need to reduce and replace the use of synthetic chemicals by the application of plant extracts and essential oils in crops for the control of phytopathogens. These are authorized products in Organic Agriculture and have great potential employment in plant health. They are characterized mainly by being products of low toxicity for vertebrates, they do not give rise to the development of resistance, they degrade quickly and are friendly to the environment. These products are of great importance for their effect on the control of pests and plant diseases, due to their compounds that give them various properties of agro-industrial interest. Therefore, the general objective of this work was established to evaluate the repellent, antiviral and fungicidal effect of the essential oil and aqueous extract of cultivated oregano (*Lippia palmeri* W.) on whiteflies (*Bemisia tabaci* G.), the SLCV virus and fungi pathogens (*Thanatephorus* sp. and *Fusarium oxysporum* Schldl.). The antifungal activity was carried out using the agar diffusion method on the phytopathogenic fungi *Fusarium oxysporum* and *Thanatephorus* sp. The percentage of mycelial growth inhibition of the essential oil concentrations 0, 100, 150, 200, 250 and 300 $\mu\text{L}/\text{mL}$ and the aqueous extract 0, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 and 0.30 g was determined, which was evaluated through an analysis of variance (ANOVA) and subsequent comparison of Tukey means ($p \leq 0.05$). The essential oil and carvacrol from *Lippia palmeri* W. managed to inhibit 100 % the growth of *Fusarium oxysporum* unlike *Thanatephorus* sp. who got between 90 and 100%. Depending on the dose applied, the aqueous extract inhibited *F. oxysporum* between 20 and 100% and *Thanatephorus* sp. It was from 10 to 100%. In this research, a bioassay was established to teste the efficacy of essential oil and aqueous extracts of oregano (*Lippia palmeri* W.) native to Mexico., as a repellent against whiteflies. Repellency was measured by the average number of adult whiteflies perched on treated zucchini squash plants. The essential oil in concentrations of 40 and 60% presented an average of 7 to 11 whiteflies per plant, while the aqueous extract showed an average repellency between 10 and 15 whiteflies per plant. Statistical significant differences were observed between the aqueous extract treatment and the positive control cypermethrin, while no differences were found for the essential oil treatments.

INDICE GENERAL

	Página
APROBACIÓN	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
INDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE TABLAS	xi
INTRODUCCIÓN	1
I. ANTECEDENTES	4
I.1. Los aceites esenciales.....	4
I.1.2. Características fisicoquímicas de los aceites esenciales	5
I.1.3. Mecanismos de acción de compuestos obtenidos de aceites que poseen actividad antifúngica, antiviral y repelencia.	6
I.1.4. Usos de los aceites esenciales en la agricultura.	7
I.2. El orégano	8
I.2.1. Composición química del orégano.....	8
I.2.2. Especies de orégano.....	10
I.2.3. Género <i>Lippia</i>	13
I.2.4. Clasificación del género <i>Lippia</i>	15
I.2.5. Aceite esencial del género <i>Lippia</i>	15
I.2.6. Técnicas de extracción de aceites esenciales	16
I.2.7. Control de calidad de los aceites esenciales.....	18
I.3. Horticultura en el mundo	19
I.4. Familia Aleyrodidae.....	19
I.4.1. Mosquita blanca (<i>Bemisia tabaci</i> G.).....	20
I.4.2. Clasificación taxonómica de <i>Bemisia tabaci</i>	20
I.4.3. Ciclo biológico de <i>Bemisia tabaci</i>	21
I.4.4. Enfermedades transmitidas por <i>Bemisia tabaci</i>	21
I.5. Importancia de los virus fitopatogénicos	22
I.5.1. Familia Geminiviridae	23
I.5.2. Clasificación taxonómica del virus <i>Begomovirus</i>	24

I.5.3. Begomovirus	24
I.5.4. Síntomas inducidos por <i>Begomovirus</i>	24
I.6. Clasificación Taxonómica de <i>Thanatephorus cucumeris</i> Anamorfo: <i>Rhizoctonia solani</i> :	25
I.6.1. <i>Thanatephorus cucumeris</i> Anamorfo: <i>Rhizoctonia solani</i>	25
I.6.2. Descripción básica <i>Thanatephorus cucumeris</i> Anamorfo: <i>Rhizoctonia solani</i>	26
I.6.3. Infección por <i>Thanatephorus sp.</i>	27
I.6.4. Síntomas de la enfermedad por <i>Thanatephorus sp.</i>	27
I.7. Clasificación taxonómica de <i>Fusarium oxysporum</i>	28
I.7.1. <i>Fusarium oxysporum</i> Schldl.....	28
I.7.2. <i>F. oxysporum</i> descripción básica	29
I.7.3. Infección por <i>F. oxysporum</i>	29
I.7.4. Síntomas de la enfermedad por <i>F. oxysporum</i>	29
I.8. Daños e importancia económica en México de <i>Thenatephorus sp.</i> y <i>F. oxysporum</i>	30
I.8.1. Control de <i>Thenatephorus sp.</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> Schldl.	31
II. HIPÓTESIS	32
III. OBJETIVOS	33
III.1. Objetivo general	33
III.2. Objetivos específicos.....	33
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	34
IV.1. Material vegetal utilizado.....	34
IV.2. Extracción de los aceites esenciales (AE) y extracto acuoso (EA)	34
IV.3. Análisis GC-MS del aceite esencial de orégano cultivado (<i>Lippia palmeri</i> W.)	35
IV.4. Aislamiento de <i>Thenatephorus sp.</i>	35
IV.5. Aislamiento de <i>Fusarium oxysporum</i>	36
IV.6. Bioensayos de la actividad de aceites esenciales, extracto acuoso y sus compuestos.....	36
IV.7. Siembra de calabaza <i>Cucurbita pepo</i> L.....	36
IV.7.1. Repelencia de mosquita blanca	37
IV.8. Inoculación del virus del enrollamiento de la hoja en plantas de calabaza	37
IV.9. Diseño experimental.....	37
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
V.1. Composición química del aceite esencial de <i>Lippia palmeri</i> W.....	38
V.2. Actividad biológica de los aceites esenciales sobre <i>Thanatephorus sp.</i> y <i>F. oxysporum</i>	39
V.3. Actividad biológica de los extractos acuosos sobre <i>Thanatephorus sp.</i> y <i>F. oxysporum</i>	40

V.4. Actividad biológica del aceite esencial del orégano sobre <i>Bemisia tabaci</i>	43
V.5. Actividad biológica del extracto acuoso del orégano sobre <i>Bemisia tabaci</i>	44
V.6. Inoculación del Virus del Enrollamiento de la Hoja en plantas de calabaza	46
VI. CONCLUSIÓN	48
VII. RECOMENDACIONES.....	49
VIII. LITERATURA CITADA	50
IX. APÉNDICES	64

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Estructura química de compuestos del aceite esencial (Sigma-Aldrich).	10
Figura 2.	Planta de orégano <i>Lippia palmeri</i> W. (Ortega-Nieblas, 2011).	16
Figura 3.	Actividad antifúngica del aceite esencial de <i>L. palmeri</i> en dosis de 100, 150, 200, 250 y 300 $\mu\text{L/ml}$; como control positivo carvacrol 100 y 300 $\mu\text{L/ml}$ expresado en porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo <i>Thanatephorus</i> sp. Prueba de medias entre las diferentes concentraciones ($p \leq 0.05$). Letras diferentes representan las diferencias significativas.....	40
Figura 4.	Actividad antifúngica del extracto acuoso liofilizado de <i>L. palmeri</i> en dosis de 0.10, 0.15, 0.20, .025 y 0.30 g, expresada en porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo <i>Thanatephorus</i> sp. Prueba de medias entre las diferentes concentraciones ($p \leq 0.05$). Letras diferentes representan las diferencias significativas.....	41
Figura 5.	Actividad antifúngica del extracto acuoso liofilizado de <i>L. palmeri</i> en dosis de 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 g; como control positivo carvacrol 100 y 300 $\mu\text{L/ml}$ expresado en porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo <i>F. oxysporum</i> . Prueba de medias entre las diferentes concentraciones ($p \leq 0.05$). Letras diferentes representan las diferencias significativas.....	42
Figura 6.	Repelencia del aceite esencial de <i>L. palmeri</i> en concentraciones de 40 (AEA) y 60 % AEB) y la cipermetrina utilizada como control positivo expresada en promedio de moscas presentes. Prueba de medias entre las diferentes concentraciones ($p \leq 0.05$). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos.	44
Figura 7.	Repelencia del extracto acuoso de <i>L. palmeri</i> en concentraciones de 40 y 60 %; cipermetrina como control positivo expresada en promedio. Prueba de medias entre las diferentes concentraciones ($p \leq 0.05$). Las letras representan diferencia significativa entre los tratamientos.	45
Figura 8.	Detección molecular del Virus del Enrollamiento de la Hoja de la Calabaza utilizando electroforesis en gel de agarosa de los productos de PCR. Los pozos 2, 4, 5 y 6 corresponden a muestras positivas del SLCV.	46
Figura 9.	Emergencia de la planta de calabaza en macetas b) inoculación del virus del enrollamiento de la hoja de calabaza c) desarrollo de la planta de calabaza control d) desarrollo de la planta de calabaza inoculada.	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Especies usadas comercialmente a nivel mundial con el nombre de orégano (Paludosi, 1997)...11
Tabla 2. Clasificación taxonómica de manera esquemática del género <i>Lippia</i>15
Tabla 3. Clasificación taxonómica de manera esquemática de la mosquita blanca (Gennadius, 1889).21
Tabla 4. Clasificación taxonómica de los <i>Begomovirus</i>24
Tabla 5. Clasificación taxonómica de <i>Thanatephorus</i> sp. anamorfo <i>Rhizoctonia solani</i>25
Tabla 6. Clasificación taxonómica de <i>Fusarium oxysporum</i>28

INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales (AE) son conocidos por ser mezclas complejas de líquidos altamente volátiles, que se evaporan al interactuar con el aire (Bello, 1999). Se obtienen de distintas partes de las plantas como flores, yemas, semillas, hojas, ramas, corteza, hierbas, madera, frutos y raíces (Burt, 2007). Su composición química es de entre 50 y 300 compuestos los cuales pertenecen a los terpenos, monoterpenos y sesquiterpenos, también se componen de sustancias azufradas y nitrogenadas (Acevedo *et al.*, 2007). Se clasifican como resultado de los metabolitos secundarios de las plantas, como lo son ciertos alcaloides, flavonoides, taninos y saponinas (Madsen y Bertelsen, 1995; Bandoni *et al.*, 2009).

La constitución química de los AE puede cambiar según su entorno, el origen de la planta y la técnica que se usó para su extracción (Combariza *et al.*, 1994). El importe monetario de los aceites esenciales y su uso en la industria están vinculados a sus compuestos químicos y la acción biológica que estos puedan llegar a tener (Stashenko *et al.*, 2010). Los aceites esenciales tienen un amplio campo de aplicaciones en diversas ramas de la industria de perfumes, aromatizantes, cosméticos, alimentos y la industria farmacéutica (Güenther, 1995; Stashenko y Combariza, 1995; Bandoni, 2000; Xuang y Dinh, 2005).

La mosca blanca *Bemisia tabaci*, es una de las plagas en plantas más importante mundialmente; se ha encontrado en gran parte de los países ubicados en los trópicos y afecta a más de 600 especies de plantas, ya sea en cultivos o en estado silvestre (Mound y Halsey 1978; Greathead 1986; Secker *et al.*, 1998). Este insecto se caracteriza por su hábito alimenticio el cual es polífago y causa estragos al alimentarse, como el declive de la planta por la obtención de nutrientes (Hilje, 2003; Cardona, 1997); deficiencias fisiológicas, como por ejemplo el cultivo de tomate se ve afectado en la madurez irregular mientras que las cucurbitáceas presentan el plateado de la hoja, ambos producidos por el biotipo B de *B. tabaci*; secreción de sustancias azucaradas que promueven el crecimiento de hongos saprofitos sobre las plantas, entre ellos el más común que es la fumagina; por último, es importante mencionar que se han demostrado casos en que los *Begomovirus* provenientes de malezas pueden ser transmitidos a especies cultivadas a través del vector mosca blanca (*Bemisia tabaci* biotipo B) (Morales y Anderson,

2001). *Begomovirus* (Familia: Geminiviridae) es un género de virus encontrados en América y están divididos por dos grandes linajes: *Begomovirus* típicos, representados principalmente en México por el virus de la vena amarilla del pimiento huasteco (*Pepper Huastec Yellow Vein*, PHYVV) y, por otra parte, se encuentra el clado de los virus del enrollamiento de la hoja de la calabaza (*Squash Leaf Curl Virus*, SLCV), los dos se han identificado en cultivos y en malezas (Cuéllar y Morales 2006; Reveles-Torres *et al.*, 2019).

El uso de agroquímicos es la manera más común de controlar poblaciones de *B. tabaci* en América Latina (Murillo-Cuevas *et al.*, 2019). Los plaguicidas aplicados son usualmente compuestos que ya no son efectivos, generando en la mosca blanca un aumento de resistencia a estos productos (Muñiz-Reyes *et al.*, 2016). En diferentes países se ha destacado que *B. tabaci* ha generado resistencia a agroquímicos organofosforados, carbamatos y piretroides, el exceso de estos conlleva a contaminación ambiental e imposición selectiva a insecticidas, por lo que se ha sugerido a los agricultores hacer un cambio en el manejo integral de plagas de formas más ecológicas y eficaces (Dittrich *et al.*, 1990; Denholm *et al.*, 1996; Castle *et al.*, 2009 Muñiz-Reyes *et al.*, 2016). Consecuentemente, el uso de plaguicidas orgánicos y agentes de control biológico se está abriendo paso en el mercado de América Latina. Tal es el caso de plaguicidas botánicos como el extracto de *Azadirachta indica* Adr. Juss. y *Nicotiana tabacum* L.; parasitoides como *Eretmocerus* spp. y *Encarsia* spp.; entomopatógenos como *Lecanicillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Esparza-Díaz *et al.*, 2010), así como el uso de algunos jabones biodegradables (Cuéllar *et al.*, 2006).

Otras propiedades de los aceites esenciales es que tienen un rol importante en los mecanismos de defensa del hospedero contra agentes dañinos para las plagas como insectos, hongos y virus (Mihalik *et al.*, 1991). Se ha confirmado que los aceites esenciales y las sustancias que los componen poseen un efecto fungicida (Wilson *et al.*, 1997; Gogoi *et al.*, 1997; Pitarokili *et al.*, 1999; Meepagala *et al.*, 2002), los cuales son inocuos para el medio ambiente, para los consumidores y para el control de enfermedades poscosecha. Algunos investigadores han descrito la acción fungicida de los aceites esenciales y sus compuestos: Muller-Riebau *et al.* (1995) valoraron nueve aceites esenciales contra cuatro especies de hongos fitopatógenos. En 2003 Daferera *et al.* experimentaron con ocho aceites esenciales contra dos

especies de hongos; La actividad antifúngica en estos trabajos estuvo fuertemente asociada con fenoles monoterpénicos, especialmente el timol, carvacrol y eugenol (Barrera *et al.*, 2008).

El descubrimiento de nuevos fungicidas está fundamentado en la búsqueda de diversas fuentes de compuestos bioactivos, se hallan entre 250.000 y 500.000 especies de plantas conocidas hasta la actualidad (Vepoorte, 1998; Cowann, 1999). Las plantas sintetizan metabolitos secundarios como las fitoanticipinas y las fitoalexinas, que son utilizadas como barreras de defensa en contra de infecciones provocadas por vectores fitopatógenos, entre los cuales se encuentran los hongos (Farnsworth *et al.*, 1985; Taylor, 1998; Osbourn, 1999). Existen más moléculas que son secretadas por las plantas como las fitodefensinas, péptidos ricos en cisteína, con capacidad de inhabilitar el crecimiento de los hongos al provocar mutaciones morfológicas y daño en algunas estructuras celulares (De Lucca, 1999; Selitrennikoff, 2001). Dichas moléculas mencionadas anteriormente, pueden ser candidatas para investigaciones *in vitro* frente a agentes micóticos implicados en enfermedades humanas y también sobre hongos fitopatógenos que atacan a las plantas (Taylor, 1998; Mesa *et al.*, 2004; Agrios, 2005). Lo que se plantea en esta investigación, generar conocimiento aplicable de nuevas opciones biológicas contra las plagas en plantas lo que permitirá aumentar la productividad en la agricultura de una forma más amigable con el ambiente.

I. ANTECEDENTES

I.1. Los aceites esenciales

Las plantas son productoras de una gran cantidad de compuestos de valor comercial que son utilizados en la industria farmacéutica, alimenticia, de cosméticos. Estos compuestos bioactivos diversos son metabolitos secundarios utilizados como defensa natural al ataque de insectos, microorganismos y de adaptación a los cambios de temperatura, humedad, estrés hídrico, etc. (Ramakrishna *et al.*, 2011).

Gran parte de los alimentos deben su sabor y aroma a sustancias químicas que se hallan activas en concentraciones de partes por millón. En un ambiente natural, algunas especies desarrollan con niveles cuantiosamente mayores, más sustancias químicas que otras. Con el hallazgo de la destilación, se pudo dividir del material botánico está sustancias o mezclas, facilitando la aparición de los aceites esenciales como un producto factible para su uso comercial (Cerutti y Neumayer, 2004). Los aceites esenciales se clasifican con base en su consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios que se encuentran en la mezcla (Martínez, 2003).

Los Aceites esenciales (AE) son definidos, según la Asociación Francesa de Normalización (AFNOR, 1998) como: “Productos que se tiene por medio de una materia prima vegetal, bien por arrastre con vapor, por procedimientos mecánicos a partir del epicarpio de los cítricos, o bien por destilación seca. El AE se aísla posteriormente de la fase acuosa por procedimientos físicos en los dos primeros modos de obtención; puede tolerar tratamientos físicos que no originen cambios significativos en su composición”. Esto define visiblemente la disimilitud que hay entre los AE oficinales que son de uso médico y de las otras sustancias aromáticas utilizadas en farmacia y perfumería conocidas comúnmente como esencias.

Los AE han mostrado poseer algunas actividades biológicas importantes tales como: actividades antibacteriales, antifúngicas, antivirales, antioxidantes e insecticidas (Seenivasan-Prabuseenivasan *et al.*, 2006).

La calidad de los AE nos garantiza que éste cuente con las características analíticas, y que éstas no cambien de un lote de producción a otro. Es muy importante para la evaluación del

cumplimiento de las normas de calidad, y así identificar falsificaciones del producto y el origen de este (Lawrence, 1993; Bandoni, 2000).

Los métodos modernos de análisis de la composición de los aceites esenciales están fundamentados en la cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS por sus siglas en inglés), donde se utilizan detectores convencionales, principalmente, de ionización (FID) y selectivo de masas (MSD) (Bicchi, 1987; Bandoni, 2000). Dentro de los compuestos que se pueden separar, los terpenos, aldehídos, alcoholes, fenoles, ésteres y cetonas, en su mayoría, son los compuestos responsables directos de las fragancias y de las propiedades biológicas de cualquier planta aromática que pueden desempeñar un papel clave en la actividad antifúngica, insecticida, de repelencia, antioxidante, anticancerígena y antiviral por su capacidad de originar efectos sinérgicos con otros compuestos y así como por su facultad de lograr actividad biológica con cantidades sumamente pequeñas. Los terpenos son numerosos y normalmente representan casi el 90% de los compuestos en los aceites esenciales, en particular monoterpenos, estos tienen diferentes funciones como lo son regular el crecimiento vegetal, son parte de algunos compuestos de la fotosíntesis, transporte electrones y parte estructural de las membranas (McGarvey y Croteau, 1905; Adame *et al.*, 2016).

Las plantas que contienen aceites esenciales figuran como una opción para la protección de los cultivos y/o granos frente a plagas (Isman, 2000). Algunos aceites esenciales y sus componentes tienen un amplio espectro de acción contra ácaros, hongos, nemátodos e insectos. Ejemplos de estos últimos son: *Zabrotes subfasciatus* B., *Acanthoscelides obtectus* S., *Rhyzopertha dominica* F., *Tribolium castaneum* H., y *Sitophilus oryzae* L., entre otros, siendo estas plagas las responsables de atacar a granos almacenados (Isman, 2000).

I.1.2. Características fisicoquímicas de los aceites esenciales

Los aceites esenciales son líquidos volátiles ricos en compuestos biológicamente activos; químicamente, procedentes de terpenos y sus compuestos oxigenados, mayormente aprovechables por arrastre con vapor de agua. Estos son los que dan paso al aroma de las plantas, son de características similares: son insolubles en agua, no se diluyen en minerales ni sales, sin

embargo, se diluyen y se combinan bien con aceites, ceras, resinas y cuerpos grasos (Pascual *et al.*, 2001; Dewick, 2002; Seenivasan *et al.*, 2006).

La composición química de los aceites esenciales puede variar en diferentes ejemplares de la misma especie vegetal, e inclusive en los diferentes órganos de la misma planta, por su propia fisiología, o debido al clima y a las condiciones del suelo en el que se encuentra la planta (Shaaya y Rafaeli, 2007).

I.1.3. Mecanismos de acción de compuestos obtenidos de aceites que poseen actividad antifúngica, antiviral y repelencia.

Los aceites esenciales y los extractos acuosos muestran actividades biológicas como insecticidas, fungicidas, bactericidas, antivirales y de repelencia, según su perfil fitoquímico y objetivo de estudio. Los compuestos más probados y relacionados con estas propiedades son el timol, carvacrol, cariofileno y o-cimeno, además, estos actúan en sinergia con los diferentes compuestos. Los mecanismos de acción varían según el objeto de estudio como se describen a continuación:

Fungicida. Aún se tienen muchas dudas sobre la forma de actuar de los metabolitos, pero la comunidad científica ha logrado demostrar que los terpenos son primordiales en la actividad antifúngica de los aceites esenciales ya que estos dañan directamente las biomembranas, en función de sus características lipofílicas que interactúan con las enzimas de la membrana e interfieren procesos vitales como la ósmosis, la síntesis de esteroides y fosfolípidos (Lucini *et al.*, 2006). Se ha encontrado que los terpenos atraviesan la membrana y así primeramente interactúan con enzimas y proteínas, después se produce un flujo de protones hacia el espacio celular induciendo cambios en la célula y su muerte. Se explica que, por una despolarización de las membranas mitocondriales, disminuye el potencial de membrana afectando el ciclo iónico del calcio, también reduce el gradiente de pH que afecta la bomba de protones y la reserva de ATP. Todos estos procesos influyen en la fluidez de la membrana mitocondrial y al verse afectados la vuelven anormalmente permeable; la presión oxidativa y fallo bioenergético son los responsables de la salida de radicales, del citocromo C, de los iones de calcio y las proteínas (Bakkali *et al.*, 2008; Centeno-Briseño *et al.*, 2013).

Repelencia. Por el aroma que desprenden los extractos acuosos y los aceites esenciales, estos interfieren con los receptores olfatorios de atracción hacia la fuente de alimento. Cada sustancia repelente actúa según su composición y mecanismo de la especie específica del insecto involucrado en la atracción hacia el hospedador. La mayoría de los ingredientes activos de los repelentes actúan como neurotoxinas o toxinas respiratorias para los insectos, bloqueando la respuesta electrofisiológica de las neuronas sensoriales olfatorias atractivas del olor e inhibiendo el comportamiento de atracción hacia la fuente de alimento de los receptores de ácido láctico y CO₂, entre otros (Ditzen *et al.* 2008). Se ha descrito que cuando la acetilcolinesterasa es inhibida en insectos por los componentes de los aceites esenciales, las concentraciones sinápticas de acetilcolina aumentan ocurriendo así una hiperexcitación del sistema nervioso central. Muchos compuestos hidrofóbicos inducen la desactivación de proteínas y la inhibición enzimática, siendo la acetilcolinesterasa una enzima que es particularmente susceptible a la inhibición hidrofóbica (Hickman *et al.*, 1990; Chatonnet *et al.*, 2003).

Antiviral. Duschatzky y colaboradores en 2005, señalaron que el efecto antiviral puede ser el resultado de la inactivación directa del virus, es decir, un efecto viricida, más que una interferencia con etapas intracelulares que se desarrollan en el ciclo viral (antiviral), provocando una alteración en la envoltura viral debido a la interacción con componentes de los aceites esenciales y extractos acuosos que tienen compuestos como el carvacrol y el timol de estructura lipofílica. Estos causan daños en la membrana o envoltura que es requerida para la entrada a la célula huésped.

I.1.4. Usos de los aceites esenciales en la agricultura.

Anualmente alrededor del mundo se extraen más de 100 toneladas de 20 aceites esenciales (AE) diferentes y de otros 20 más entre 50-100 toneladas. Algunos de estos aceites esenciales han llegado al mercado promoviendo la protección de cultivos agrícolas (Lubbe y Verpoorte, 2011).

La composición química del aceite esencial de *Tagetes filifolia* principalmente está basado el anetol y alilanisol, que son fenilpropanoides (Zygadlo *et al.*, 1993; Feo *et al.*, 1998; Vila *et al.*, 2000). El anetol posee algunas actividades biológicas importantes como repeler plagas, insecticida, antifúngico, nematocida y antibacteriano, siendo este un ingrediente activo

del aceite esencial extraído de las familias botánicas Lamiaceae y Apiaceae, especialmente de especies de los géneros *Timbra*, *Satureja*, *Origanum*, *Corydothymus*, *Pimpinella* y *Foeniculum* (Tuzun y Yegen, 2000).

Se ha utilizado el aceite esencial de la planta aromática *T. filifolia* Lag. caracterizada por poseer un amplio potencial nematicida e insecticida de vectores transportadores de virus (Cubillo *et al.*, 1999; Serrato, 2003; Serrato *et al.*, 2005). El precio bajo de la extracción del aceite esencial de esta planta y su origen, son una alternativa económica y ecológica significativa comparada con productos insecticidas y repelentes de origen sintético, populares por ser una fuente importante de contaminación ambiental y de daño a la salud, causando inestabilidad de los sistemas de producción agrícolas (Serrato, 2003).

Se han utilizado aceites esenciales con efectos repelentes sobre plaga de pulgones; se encontró que el geraniol y farnesol inhabilitan el asentamiento y alteran la conducta de *Myzus persicae* en ambiente controlado (Gutiérrez *et al.*, 1997). También se realizó un estudio donde se midió la acción de repelencia sobre *M. persicae* en cultivos de tabaco, encontrado un siendo super 30% en comparación con el control (Hori, 1998).

I.2. El orégano

El orégano es una planta dicotiledónea del orden Lamiales de origen Europeo y de Asia occidental, su nombre simboliza la belleza de las montañas. Este puede llegar a alcanzar 2 m de altura, sus hojas son opuestas, ovaladas y amplias de tamaño que puede variar entre 2 y 5 cm, con bordes enteros o levemente dentados y con vellosidad en el haz; sus flores son de coloraciones blancas a rosáceas situadas en inflorescencias terminales divididas que son protegidas por hojas (Pitzer, 1973; Muñoz, 2002).

I.2.1. Composición química del orégano

Se ha estudiado la composición química del orégano, y en sus aceites esenciales se han encontrado flavonoides como por ejemplo la apigenina y la luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, que son considerados compuestos terpénicos y procedentes del fenilpropano (Arcila-

Lozano *et al.*, 2004). Asimismo, se tienen descritas sustancias como los ácidos coumérico, ferúlico, caféico, r-hidroxibenzóico y vainillínico (D'Antuono *et al.*, 2000). El *Oreganum vulgare* ssp. Hirtum es hasta el momento la especie más investigada, principalmente la composición y calidad de su aceite esencial, ya que es de gran importancia económica y es altamente apreciado en el mercado (Albado *et al.*, 2001; Arcila-Lozano *et al.*, 2004). Se puede obtener un rendimiento de aceite esencial extraído de *O. vulgare* que oscila entre 2% y 6% (Deighton *et al.*, 1993). El porcentaje obtenido va a variar según el sitio del cultivo y por el tiempo de cosecha, siendo el periodo otoñal el de menor rendimiento (Arcila-Lozano *et al.*, 2004; Carhuapoma, 2006). Con el orégano silvestre se ha registrado un aumento en los porcentajes de timol y un decremento en la cantidad de carvacrol (Albado *et al.*, 2001). De la misma manera, los hidrocarburos monoterpenoides, terpineno y r-cimeno se encuentran de forma constante en los aceites esenciales del orégano, pero en cantidades más bajas (Arcila-Lozano *et al.*, 2004).

En algunas plantas se puede encontrar un aumento en la cantidad de aceite esencial por unidad de biomasa y en algunas otras puede tener un menor porcentaje. Si se toma en cuenta la cantidad por área, éste tiene una tendencia a reducirse, por el declive que produce el estrés hídrico en la obtención de biomasa (Corell, 2009).

El p-cimeno y sus derivados fenólicos carvacrol y timol (Figura 1), se pueden identificar en varios herbajes y especias, esto incluye al orégano. Estos son monoterpenoides característicos de un diminuto grupo de compuestos aromáticos que son resultados de la ruta del mevalonato continuo por compuestos aromáticos que implican al ácido shiquímico (Derwich, 1997).

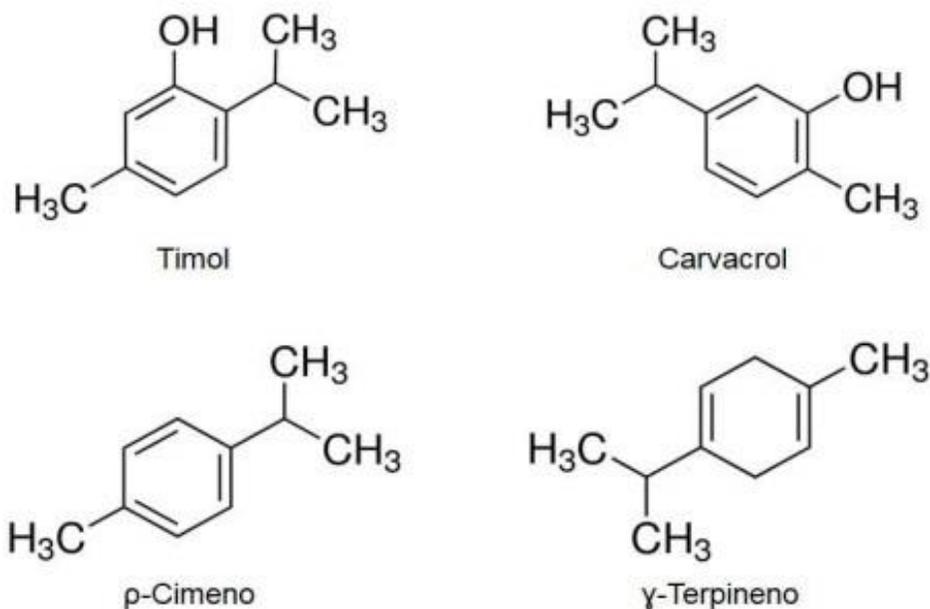


Figura 1. Estructura química de compuestos del aceite esencial (Sigma-Aldrich).

I.2.2. Especies de orégano

El orégano es conocido por ser una planta aromática cultivada y silvestre ubicada en diversas regiones del mundo, y cuyo valor comercial se da gracias a sus peculiaridades como especia, condimento y de uso medicinal. De gran importancia industrial y farmacéutica es el aceite esencial que se le extrae y que se utiliza como aroma en jabones, lociones, maquillajes, saborizantes, entre otras aplicaciones (Koksal *et al.*, 2010); comercialmente el orégano se refiere a un conjunto de especies con peculiaridades semejantes que se encuentran ubicadas en dos vastos grupos de numerosos orígenes botánicos generalmente nombrados orégano europeo y orégano mexicano (Tabla 1). Se han reportado 61 especies incluidas en 17 géneros de 6 familias conocidas como orégano, de las cuales el género *Origanum* (familia Labiatae) mejor conocido como el orégano europeo es considerado el más trascendental; no obstante, en América los géneros *Lanata* y *Lippia* (familia Verbenaceae) oréganos mexicanos más predominantes (Paludosi, 1997). También se tienen otras familias (Rubiaceae, Scrophulariaceae, Apiaceae y Asteraceae) que son de impacto productivo restringido (Paludosi, 1997).

Tabla 1. Especies usadas comercialmente a nivel mundial con el nombre de orégano (Paludosi, 1997).

Familia	Especie	Nombre comercial
Labiatae	<i>Calamintha potosina</i> Schaf	Orégano de la sierra, orégano, origanum
	<i>Coleus amboinicus</i> Lour. (syn. <i>C. aromaticus</i> Benth)	Orégano, orégano brujo, orégano de Cartagena, orégano de España, orégano francés
	<i>Coleus aromaticus</i> Benth	Orégano de España, orégano, origanum
	<i>Hedeoma floribunda</i> Standl	Orégano, origanum
	<i>Hedeoma incona</i> Torr	Oregano
	<i>Hedeoma patens</i> Jones	Orégano, origanum
	<i>Hyptis albina</i> H.B.K.	Orégano, origanum
	<i>Hyptis americana</i> (Aubl) Urb. (<i>H. gonocephala</i> Gris.)	Orégano
	<i>Hyptis capitata</i> Jacq	Orégano, origanum
	<i>Hyptis pectinata</i> Poit	Orégano, origanum
	<i>Hyptis suaveolens</i> (L) Poit	Orégano, orégano cimarrón, origanum
	<i>Monarda austromontana</i> Epling	Orégano, origanum
	<i>Ocimum basilicum</i> L.	Orégano, origanum
	<i>Origanum compactum</i> Benth (syn. <i>O. glandulosum</i> Salzm, ex Benth)	Orégano, origanum
	<i>Origanum dictamnus</i> L. (<i>Majorana dictamnus</i> L.)	Orégano, origanum
	<i>Origanum elongatum</i> (Bonnet) Emberger et Maire	Orégano, origanum
	<i>Origanum floribundum</i> Munby (<i>O. cinereum</i> Noe)	Orégano, origanum
	<i>Origanum grosil</i> Pau et Font Quer ex letsvaart	Orégano, origanum
	<i>Origanum majorana</i> L.	Orégano
	<i>Origanum microphyllum</i> (Benth) Vogel	Orégano, origanum
	<i>Origanum onites</i> L. (syn. <i>O. amyrneum</i> L.)	Turkish orégano, orégano, origanum
	<i>Origanum scabrum</i> Boiss et Heldr (syn. <i>O. pulchrum</i> Boiss et Heldr)	Orégano, origanum
	<i>Origanum syriacum</i> L. var. <i>Syriacum</i> (syn. <i>O. maru</i> L.)	Orégano, origanum

	<i>Origanum vulgare</i> L. subsp <i>gracile</i> (Koch) letswaart (syn. <i>O.</i> <i>hirtum</i> Link)	Orégano, origanum
	<i>Origanum vulgare</i> L. subsp <i>gracile</i> (Koch) letswaart (syn <i>O.</i> <i>gracile</i> Koch, <i>O. tyttanthum</i> Gontscharov)	Orégano, origanum
	<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> (Link) letswaart (syn. <i>O. hirtum</i> link)	Orégano, origanum
	<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>virens</i> (Hoffmanns et Link) letswaart (syn. <i>O. virens</i> Hoffmanns et Link)	Orégano, origanum, orégano verde
	<i>Origanum vulgare</i> subsp <i>viride</i> (Boiss.) Hayek (syn. <i>O. viride</i>) Halacsy (syn. <i>O. heracleoticum</i> L.)	Greek orégano, orégano, origanum
	<i>Origanum vulgare</i> L. subsp. <i>vulgare</i> (syn. <i>Thymus origanum</i> (L) Kuntze)	Orégano, origanum
	<i>Origanum vulgare</i> L.	Orégano, orenga, orégano de España
	<i>Poliomintha longiflora</i> Gray	Orégano
	<i>Salvia</i> sp.	Orégano
	<i>Satureja thymbra</i> L	Orégano cabruno, orégano, origanum
	<i>Thymus capitatus</i> (L.) Hoffmanns et Link (syn. <i>Coridothymus capitatus</i> (L.) Rchb.f.)	Orégano, orégano español, origanum
Verbenaceae	<i>Lantana citrosa</i> (Small) Modenke	Orégano, orégano xiu, origanum
	<i>Lantana glandulosissima</i> Hayek	Orégano, orégano xiu, orégano silvestre, origanum
	<i>Lantana hirsuta</i> Mart. et Gall	Orégano, oreganillo del monte, origanum
	<i>Lantana involucrata</i> L.	Orégano, origanum
	<i>Lantana purpurea</i> (Jacq.) Benth.& Hook. (syn. <i>Lippia</i> <i>purpurea</i> Jacq)	Orégano, origanum
	<i>Lantana trifolia</i> L.	Orégano, origanum
	<i>Lantana velutina</i> Mart. & Gal.	Orégano, orégano xiu, origanum

	<i>Lippia myriocephala</i> Sachlecht. & Cham.	Origanillo
	<i>Lippia affinis</i> Schau.	Orégano
	<i>Lippia alba</i> (Mill) N.E. Br. (syn. <i>L. involucrata</i> L.)	Orégano, origanum
	<i>Lippia berlandieri</i> Schau	Orégano
	<i>Lippia cardiostegia</i> Benth	Orégano, oreganillo, orégano montes, origanum
	<i>Lippia formosa</i> T.S. Brandeg.	Orégano, origanum
	<i>Lippia geisseana</i> (R.A. Phill.) Soler.	Orégano, origanum
	<i>Lippia graveolens</i> H.B.K.	Orégano, orégano mexicano, orégano cimarron, origanum
	<i>Lippia helleri</i> Britton	Orégano, orégano del país, origanum
	<i>Lippia micromera</i> Schau	Orégano, orégano del país, origanum
	<i>Lippia micromera</i> var. <i>helleri</i> (Britton) Moldenke	Orégano
	<i>Lippia organoides</i> H.B.K.	Orégano, orégano del país
	<i>Lippia palmeri</i> var. <i>spicata</i> Rose	Orégano
	<i>Lippia palmeri</i> Wats	Orégano, origanum
	<i>Lippia umbellata</i> Cav	Orégano, oreganillo, orégano montes, origanum
	<i>Lippia velutina</i> Mart. et Galeotti	Orégano, origanum
Rubiaceae	<i>Borreria</i> sp.	Orégano, origanum
Scrophulariaceae	<i>Limnophila stolonifera</i> (Blanco) Merr.	Orégano, origanum
Apiaceae	<i>Eryngium foetidum</i> L	Orégano, orégano de Cartagena, origanum
Asteraceae	<i>Coeosanthus veronicaefolius</i> H.B.K.	Orégano del cerro, orégano del monte, orégano del campo
	<i>Eupatorium macrophyllum</i> L. (syn. <i>Hebeclinium macrophyllum</i> DC.)	Orégano, origanum

I.2.3. Género *Lippia*

Las especies de orégano de este género son utilizadas como sazónador y como conservador de alimentos procesados y envasados, de numerosos platillos nacionales e internacionales (Martínez, 1979; Huerta, 1997). En la medicina homeopática comúnmente se utiliza el té de las

hojas de orégano de las especies *L. berlandieri* S., *L. graveolens* K. y *L. palmeri* W. (frescas o secas) como antiasmático, antiespasmódico (alivio de cólicos), antitusígeno (control de la tos y del asma), antiparasitario (contra lombrices, mezcla de orégano con hierbabuena y tomillo), antiinfeccioso (acción específicamente contra *Staphylococcus aureus* R.), emenagogo (regulador de la menstruación) y fungicida (acción contra *Candida albicans* B y hongos que atacan granos de maíz almacenados) (Argueta *et al.*, 1994; Huerta, 1997; Castro-Franco *et al.*, 2005). El género *Lippia* (familia Verbenaceae) está conformado por 221 especies y 360 de especies registradas aceptadas como sinónimos de algunas de las especies que ya fueron aprobadas. Su distribución principal se da desde América Central incluyendo México, Guatemala, Cuba y Costa Rica hasta Sudamérica (Venezuela, Brasil, Colombia) y en regiones tropicales de África (Delgado *et al.*, 2015).

Entre las especies más trascendentales del género *Lippia* en México se halla la especie *Lippia graveolens* Kunth popularmente conocido como el orégano mexicano de la familia Verbenaceae; esta es una especie arbustiva delgada que puede alcanzar una altura de 2 m, es aromática, sus ramas son corto-pilosas; hojas oblongas a elípticas, u ovadas a ovado-oblongas que miden de 2-4 cm de largo, generalmente estas son obtusas o redondeadas en el ápice, redondeadas o subcordadas en la base; sus flores en espigas subglobosas a oblongas de 4-12 mm de largo de corola blanca. Su distribución en México abarca los estados de Chihuahua, Coahuila, Tamaulipas, Veracruz, Oaxaca, Sinaloa, Jalisco y Zacatecas, Durango, Guerrero (Hernández, 1991; Arriaga *et al.*, 1992; INIFAP, 2010).

Otra de las especies destacada en el género *Lippia* (Tabla 2) en nuestro país es *L. berlandieri* Schauer de la familia Verbenaceae; es un arbusto aromático de 1 a 2.5 m de altura; con hojas opuestas, aromáticas de 1.5 a 3.5 cm de largo; sus flores son de color blanco en cabezuelas largamente pedunculadas. Las hojas secas de este arbusto se usan como condimento. Su distribución es en los estados de Durango, Puebla, Guerrero, Coahuila, Tamaulipas, Veracruz, Oaxaca, Zacatecas, San Luis Potosí, Querétaro, Hidalgo, Jalisco, Chihuahua y Sinaloa (Huerta, 1997; Rzedowsk *et al.*, 2002).

I.2.4. Clasificación del género *Lippia*

Tabla 2. Clasificación taxonómica de manera esquemática del género *Lippia*

División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Lamiales
Familia:	Verbenaceae
Género:	<i>Lippia</i>

I.2.5. Aceite esencial del género *Lippia*.

El género *Lippia*, tiene varias especies, género tiene la composición química de su AE similar a la del orégano europeo (Pascual *et al.*, 2001). En México, se tienen dos especies comerciales semejantes a las del género *Origanum*: *L. palmeri* Watson. y *L. graveolens* Kunth (González, 2007). El orégano (*Lippia palmeri* W.) es una planta aromática silvestre (Figura 2) de la familia Verbenacea originaria de México, se encuentra como planta endémica en la parte central y occidental del Estado de Sonora (Corella *et al.*, 2008). El orégano es una especie importante en Sonora, ya que este es una fuente de generación de empleos, este es explotado en estado silvestre (Corella y Ortega, 2013).



Figura 2. Planta de orégano *Lippia palmeri* W. (Ortega-Nieblas, 2011).

En el caso del orégano *Lippia palmeri* W., hasta ahora solo se utilizan sus hojas en alimentos (condimento y saborizante), sin embargo, se podría utilizar en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), como fijador de olores y colores, y como fuente de aceites esenciales para la industria farmacéutica cuyo destino principal es la exportación, como se hecho con otras especies de orégano y otras plantas aromáticas (Blanco *et al.*, 2005).

I.2.6. Técnicas de extracción de aceites esenciales

Las técnicas de extracción que se emplean dependen de la procedencia del material vegetal, la sección de la planta a utilizar (hoja, tallo, flor, etc.) y persistencia del aceite esencial que se quiere extraer; se utilizan varios métodos físico-químicos para su obtención, donde su buen

funcionamiento será lo que establezca la calidad del producto final. Algunos de estos métodos frecuentemente utilizados son:

- **Hidrodestilación:** Se calienta el agua con la muestra vegetal hasta el punto de ebullición. Generalmente se debe macerar la muestra, al evaporarse el agua se convierte en vapor de agua, el cual empuja la esencia, se condensa, se recoge en un recipiente y después se separan los aceites esenciales del agua. Esta técnica se emplea generalmente en esencias líquidas y no necesita de tecnología avanzada (Kuklingski, 2000).
- **Destilación por arrastre de vapor:** Consiste en una vaporización a temperaturas inferiores a las de ebullición de cada uno de los componentes volátiles, por efecto de una corriente directa de vapor de agua, los vapores salen y se enfrían en un condensador donde regresan a la fase líquida, los dos productos inmiscibles, agua y aceites esenciales se separan en un decantador (Bandoni, 2000).
- **Extracción con disolventes volátiles:** Primero se deja secar y se macera la materia prima, después se mezcla con un disolvente orgánico (alcohol, cloroformo, entre otros). Estos ayudarán a solubilizar la esencia y otras sustancias como grasas y ceras, obteniendo un extracto impuro. Esta técnica generalmente se utiliza en laboratorios porque a nivel industrial es de alto costo por el valor de los disolventes; debido a que se obtienen esencias contaminadas con otras sustancias, es altamente explosivo y fácil de iniciar un incendio por los muchos disolventes orgánicos volátiles y requiere de tiempos relativamente largos (Martínez, 2003).
- **Extracción por fluidos supercríticos:** Los gases que se utilizan se encuentran sometidos a altas presiones y temperaturas bajas para que se encuentren en estado líquido. La muestra vegetal es macerada, licuada o molida, después se coloca en una cámara de acero inoxidable y se hace circular a través de la muestra un gas supercrítico; este puede ser butano, propano o dióxido de carbono, los aceites son solubilizados y arrastrados, el gas supercrítico que actúa como solvente extractor se elimina por descompresión progresiva hasta alcanzar la presión y temperatura ambiente volviendo a estado gaseoso y finalmente se obtiene una esencia pura (Kuklingski, 2000; Martínez, 2003). Características como reducción en los tiempos de extracción, aumento en el rendimiento,

elección de sustancias y la constitución de extractos y con un requerimiento menor de energía, son unas de las principales ventajas de este tipo de extracción. Mientras que sus desventajas se relacionan con ceras cuticulares y compuestos de alto peso molecular que son extraídos junto al aceite esencial (Danjanović *et al.*, 2005; Guan *et al.*, 2007; Khajeh *et al.*, 2004; Khajeh *et al.*, 2005; Vági *et al.*, 2005; Yamini *et al.*, 2008)

Es importante destacar que la selección de la técnica de extracción va a depender también de la finalidad del uso de extractos o aceites esenciales y del interés específico por la cantidad o la recuperación de algún compuesto en particular (Peredo *et al.*, 2009).

I.2.7. Control de calidad de los aceites esenciales

El control de calidad de los aceites esenciales garantiza que éste cuente con las características químicas adecuadas, y que éstas no cambien de un lote de fabricación a otro. Es muy importante llevar a cabo la evaluación del cumplimiento de los estándares de calidad, y así identificar adulteraciones en el producto y el origen de este (Lawrence, 1993; Bandoni, 2000). La seguridad del usuario depende de la calidad de las plantas que serán utilizadas, así como la técnica de extracción. Se deben de establecer sus características físicas y químicas, y resguardarse de forma hermetica, alejados de la humedad y sin exposición a la luz (AEMPS, 2018).

Se toma en cuenta olor, color, sabor y aspecto de los aceites conseguidos, puesto que estas particularidades físicas favorecen a la definición de la calidad y además instruyen sobre los potenciales usos industriales. Los métodos modernos para el control de calidad de los aceites esenciales se basan en cromatografía de gases acoplado a espectro de masas (GC-MS) por sus siglas en inglés, usando detectores convencionales, principalmente, de ionización (FID) y selectivo de masas (MSD) (Bandoni, 2000; Bicchi, 1987).

Generalmente la cromatografía de gases se emplea para ratificar su presencia o ausencia en una muestra específica. Esto se realiza por comparación del cromatograma de la sustancia control con el de la muestra, siempre y cuando éstas se hayan obtenido de la misma forma. Uno de los obstáculos de esta comparación es que pueden existir otros compuestos que muestren el mismo comportamiento cromatográfico bajo las mismas condiciones, lo que significará una identificación errada. En efecto, las técnicas ideales de análisis cualitativo son las que acoplan

la separación mediante la cromatografía con la identificación de métodos como la espectroscopía de masas. Además, la cromatografía de gases se usa para establecer la presencia de componentes individuales que se encuentran en una muestra, utilizando curvas de calibración con los correspondientes patrones (Gutiérrez y Droguet, 2002).

I.3. Horticultura en el mundo

La horticultura es la práctica que el ser humano que ha llevado a cabo desde muchos siglos atrás para su supervivencia, siendo fundamental y trascendental para el progreso de la vida humana por ser de las principales formas de contribuir y proveer de alimentos (Huerta, 2012). Hay diferentes formas de la horticultura según sea el fin del cultivo, ejemplo de ello es la fruticultura que es la obtención de frutas, olericultura que consiste en plantíos vegetales y hortalizas generales, y la arboricultura que es la siembra y reproducción de árboles (Huerta, 2012).

En México el cultivo de calabaza es una de las especies más importante y explotada de manera integral, para consumo humano; sus hojas y fruto es utilizado popularmente en muchos platillos (SADER, 2020). En 2018 el estado de Sonora se posiciono como el productor número uno con 130,004 toneladas que es el 81.1% de la producción total, después se colocó Michoacán con 5,805 toneladas y después el estado de Sinaloa con 4,208 toneladas, en conjunto estos 3 estados cosecharon 140,017 toneladas de toda la producción en México (SAGARHPA, 2018).

I.4. Familia Aleyrodidae

Esta familia está conformada por más de 1200 especies descritas, las mosquitas blancas (Hemiptera: Aleyrodidae) son pequeños insectos que se alimentan y atacan plantas herbáceas, arbustos, árboles, plantas silvestres y cultivos de importancia económica; se han convertido en un problema grave, especialmente por los daños directos inducidos al absorber la savia y por ser portadores de virus. Actualmente son dos especies las que se destacan por su importancia en el impacto económico, son similares, pero se localizan en géneros distintos, son *Bemisia tabaci* (Gennadius) y *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Carapia-Ruiz *et al.*, 2013).

I.4.1. Mosquita blanca (*Bemisia tabaci* G.)

La mosquita blanca de los invernaderos es un insecto que se encuentra caracterizados por ser diminutos y recubiertos de un fino polvo en alas y cuerpo. Se distribuye por el paso de una planta a otra, por viento o por medio de transporte de material infestado (CNSP, 2005)

Es una de las plagas más importantes a nivel mundial por la cantidad de cultivos que daña; debido a su distribución a nivel mundial, ésta se puede encontrar en el trópico, subtrópico y zonas templadas. Se estimadas que unas 600 especies vegetales y hospederas, tanto cultivadas como silvestres son atacadas por *B. tabaci* G. provocando esto un gran impacto económico por pérdidas para los productores hortofrutícolas (Cuéllar *et al.*, 2006). Entre los principales hospederos se encuentran la habichuela o el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), pimentón (*Capsicum annuum* L.), zapallo (*Cucúrbita máxima* Lam.), berenjena (*Solanum melongena* L.), entre otros. En México es una plaga polífaga que ataca cultivos importantes principalmente hortalizas, oleaginosas, ornamentales y frutales (Cardona *et al.*, 2005).

Según la NOM-020-FITO-1995, la especie es importante por ser trasmisora de virus, tales como: mosaico dorado del frijol, chino del tomate, virus dorado de la papa, enchinamiento de la calabaza, enchinamiento de la sandía, virus de la hoja enrollada del algodón, virus atigrado del chile, virus dorado del chile y virus dorado de la lechuga, entre otros virus comunes. Otros daños causados en especies de la zona noroeste del país produce otras enfermedades como son el tallo blanco del espárrago, hoja plateada de la calabaza, raíz pálida de la zanahoria y maduración irregular del jitomate.

En países de América Central y Caribe se han observado diferentes períodos en el ciclo de vida y desarrollo de este insecto, de acuerdo con la época transcurrida en el año y el tipo de planta hospedera donde se está desarrollando (Hilje *et al.*, 2002).

I.4.2. Clasificación taxonómica de *Bemisia tabaci*

Se encuentra en el orden Homoptera (Tabla 3), al igual que otros insectos como pulgones y cigarras. Situada en la familia Aleyrodidae e identificada como *Bemisia tabaci* G. o mejor

conocida como mosca blanca. Se han clasificado 1200 especies de dicha plaga, pero solo unas cuantas especies afectan a cultivos importantes.

Tabla 3. Clasificación taxonómica de manera esquemática de la mosquita blanca (Gennadius, 1889).

Reino:	Animalia
Filo:	Arthropoda
Clase:	Insecta
Infraclase:	Neoptera
Superorden:	Exopterygota
Orden:	Homoptera
Suborden:	Sternorrhyncha
Superfamilia:	Aleyrodoidea
Familia:	Aleyrodidae
Género:	<i>Bemisia</i>
Especie:	<i>B. tabaci</i> G. (Gennadius, 1889)

I.4.3. Ciclo biológico de *Bemisia tabaci*

Esta especie tiene un ciclo de vida, desde huevecillo hasta adulto, de 65 días a temperatura de 14.9 °C y de 16.6 días a 30 °C (Medina-Cervantes, 1996).

I.4.4. Enfermedades transmitidas por *Bemisia tabaci*

La mosquita blanca (*B. tabaci*) es un insecto que viaja por medio de vuelo de planta a planta, por corrientes de viento o por medio de cargas con productos infestado (SAGARPA, 2012). Es especialmente importante por ser trasmisora de enfermedades ocasionadas por virus, tales como las que se mencionados anteriormente en la NOM-020-FITO-1995.

Campos productores de hortalizas del estado de Sonora registraron en 2006 y 2007 afectaciones por mosquita blanca, donde los cultivos presentaron signos de amarillamiento causados por el virus del trastorno del retraso del crecimiento amarillo de las cucurbitáceas (Moreno-Bedoy *et al.*, 2008; Moreno-Salazar *et al.*, 2009). El volumen de la infestación, el tipo

de cultivo, el ciclo anual, ubicación y el biotipo de *B. tabaci* van a determinar los daños causados sobre la cosecha (Byrne *et al.* 1990; Oliveira *et al.* 2001).

El uso desmedido de insecticidas contra esta plaga ha causado serios problemas como aumento en los gastos de producción, desaparición de enemigos naturales, resistencia a los insecticidas, daños a la salud de trabajadores y consumidores, y por último contaminación ambiental. Para elegir de forma acertada su control, es esencial saber la densidad de población de la plaga; por eso es básico el monitoreo de poblaciones para controlar a *B. tabaci* que está afectando el cultivo con la finalidad de reducir las aplicaciones de agroquímicos (Cardona *et al.*, 2005).

I.5. Importancia de los virus fitopatogénicos

Los virus en plantas pueden limitar ampliamente la producción de cultivos para la obtención de alimentos y fibras al causar enfermedades en las plantas; se tiene registro de más de 4000 virus de los cuales al menos 1000 afectan al reino vegetal. Los inicios de la virología vegetal se dieron en los últimos años del siglo XIX, cuando el microbiólogo de nacionalidad holandesa Martinus Beijerinck y el científico ruso Dmitrii Iwanowski estudiaron el origen de una enfermedad desconocida en cultivos de tabaco (Stanley *et al.*, 2001; Scholthof 2001). Estos investigadores, refirieron un agente inusual que producía la enfermedad del mosaico en tabaco (Zaitlin, 1998). Lo que diferenciaba a este organismo era su tamaño menor a otros microorganismos, que posteriormente fue nombrado “virus del mosaico del tabaco” (*Tobacco mosaic virus*, TMV); gracias a este descubrimiento, una gran cantidad de diferentes virus han sido encontrados en plantas (Pogue *et al.* 2002). Estos han sido de gran importancia desde su descubrimiento por las alteraciones que provocan en el funcionamiento de las plantas llegando a generar grandes pérdidas de hasta el 100% en diferentes cultivares (Hernández-Espinal *et al.*, 2018). Los daños no solo se observan en pérdidas, éstos también se pueden observar en la calidad de lo producido, como por ejemplo frutos deformes y manchados que pierden su valor comercial (Mena, 2010).

La persistencia a largo plazo de algunos virus, como el virus del mosaico del tabaco (*Tobacco mosaic virus* o TMV), se deben a las condiciones del ambiente o por transmisión mecánica de planta-planta (Ford y Evans, 2003). Gran parte de los virus que afectan a las plantas se transmiten de manera activa, es decir de una planta enferma a otra sana por medio de un

vector (Walkey, 1991). De acuerdo con Walkey (1991) los principales vectores de estos virus son los artrópodos herbívoros, nemátodos, y hongos fitófagos; entre los más destacados se encuentran los áfidos y las moscas blancas los cuales transmiten gran parte de los virus existentes. Los virus pueden pasar de los vectores a plantas sanas en segundos, horas o días. Existen virus que tienen la capacidad de transmitirse por plantas infectadas cuando éstas se están propagando de forma vegetativa, como ejemplo, los tubérculos o injertos. Otro tipo de transmisión es la “vertical” que se da por medio de semillas o polen de plantas enfermas (Gergerich y Dolja, 2006).

I.5.1. Familia Geminiviridae

En la actualidad la familia de virus Geminiviridae (Tabla 4) se encuentra dividida en 7 géneros, clasificados según sus particularidades y la organización genómica que estos tengan (Varsani *et al.*, 2014). De acuerdo con su ubicación geográfica, se dividen en virus del Nuevo Mundo y del Viejo Mundo y se definen por la organización de su genoma, el insecto vector que lo transmite y la planta hospedera. El género *Begomovirus* (Tabla 4) es el más grande de la familia, incluye al menos 80 especies reportadas. Este género de virus se caracteriza por infectar dicotiledóneas, principalmente solanáceas y en condiciones naturales son diseminados por la mosca blanca *Bemisia tabaci* G. (Idriss *et al.*, 1997).

Su genoma se encuentra empacado en viriones en forma geminada conformadas por dos icosaedros unidos por una cara. La partícula tiene un tamaño de 18 x 30 nm. Su cápside está formada por la cápside de proteína que en su interior encapsula al ADN viral. Su genoma es de una (monopartita) o dos (bipartita) moléculas de ADN circular monocatenario, con un tamaño de entre 2.5 y 3.0 Kb (Rojas *et al.*, 2005; Mubin *et al.*, 2011). Los viriones se encuentran conformados por 110 subunidades de la cápside de proteína (CP), que se encuentra en todos los virus de esta familia, pero entre los géneros, sus propiedades cambian por la especificidad del insecto vector (Rojas *et al.*, 2005; Qazi *et al.*, 2007).

I.5.2. Clasificación taxonómica del virus *Begomovirus*

Tabla 4. Clasificación taxonómica de los Begomovirus

Dominio:	Monodnaviria
Grupo:	II (Virus ADN monocatenario)
Reino:	Shotokuvirae
Filo:	Cressnaviricota
Clase:	Repensiviricetes
Familia:	Geminiviridae
Género:	<i>Begomovirus</i>

I.5.3. Begomovirus

Los *Begomovirus* (familia Geminiviridae) están formados por un ADN de cadena sencilla circular con un tamaño de 2,5 y 2,7 kb. Los virus pertenecientes a los *Begomovirus* son conocidos mayormente por ser bipartitas, esto quiere decir que se encuentran compuestos por dos mecanismos genómicos formados por moléculas de ADN nombrada A y B, éstas se empacan en una estructura nombrada cápside de forma separadamente (Brown *et al.*, 2015). El vector de transmisión de este género es la mosca blanca *Bemisia tabaci* que como anteriormente se mencionó ataca a varias especies de plantas (Brown *et al.*, 2015).

I.5.4. Síntomas inducidos por *Begomovirus*.

La sintomatología típica causada por los *Begomovirus* es enanismo, mosaicos amarillos brillantes, moteados cloróticos, clorosis foliar marginal, enrollamiento foliar, deformaciones foliares y arrugamientos de las hojas (Polston y Anderson, 1997; Nava *et al.*, 2006).

I.6. Clasificación Taxonómica de *Thanatephorus cucumeris* Anamorfo: *Rhizoctonia solani*:

Tabla 5. Clasificación taxonómica de *Thanatephorus* sp. anamorfo *Rhizoctonia solani*

Reino:	Fungi
Filo:	Basidiomycota
Clase:	Agaricomycetes
Orden:	Cantharellales
Familia:	Ceratobasidiaceae
Género:	<i>Rhizoctonia</i>
Especie:	<i>Rhizoctonia solani</i>
Sinónimo:	<i>Thanatephorus cucumeris</i> (A. B. Frank) Donk

I.6.1. *Thanatephorus cucumeris* Anamorfo: *Rhizoctonia solani*

El género *Rhizoctonia* fue introducido por De Candolle en 1815 y sometido a revisión por Parmeter y Whintney en 1970. Las principales características que se tomaron en cuenta para este género fueron la formación de esclerocios de textura homogénea con filamentos de hifas y la agrupación del micelio con raíces de plantas vivas (Sneh, *et al.*, 1991). Cien años atrás, el profesor, agrónomo y micólogo Julius Khün encontró un agente en el tubérculo de papa infectado y lo nombró *Rhizoctonia solani* (Parmeter, 1970). *R. solani* Khün (*Teleomorfo: Thanatephorus cucumeris* [Frank]) (Tabla 5) es la especie más representativa del género *Rhizoctonia*, este daña una gran cantidad de cultivos por todo el mundo (Pascual, 2000). *Thanatephorus cucumeris* (AB Frank) Donk identificado como el teleomorfo de *Rhizoctonia solani* Kühn. En 1947, Kotila reportó de forma inicial el descubrimiento de himenia de *T. cucumeris* en la remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L.) en el envés de las hojas (Kotila, 1947). El ataque de *Rhizoctonia solani* Kühn está establecido por el ambiente, considerando la temperatura y humedad (González-Hernández, 2002).

R. solani es uno de los hongos que más afecta a la siembra del chile (Velásquez y Victoriano, 2007), aunque también se sabe que enferma a una gran cantidad de grupos de plantas de diversas especies importantes en el mercado mundial (Gour, 2012). Este hongo es causante de la marchitez de las plantas; ha provocado pérdidas en gran parte de las plantas anuales,

malezas incluidas, gran parte de las hortalizas y plantas forestales, varios cultivos mayores y así como las plantas perennes como césped, de ornato, arbustivas y árboles (Agrios, 2007).

Los hongos que se encuentran en la Clase Agonomycetes eran comúnmente llamados “hongos estériles”, pues se creía que no formaban, ni producían ningún tipo de esporas sexuales o asexuales. Sin embargo, hoy en día se reconoce que *R. solani* hongo perteneciente a esta clase, es capaz de formar esporas sexuales y que su fase perfecta es *T. cucumeris*. Esto es posible en determinados escenarios ambientales, influidos por los parámetros de la humedad y temperatura en rangos muy altos (Agrios, 1996).

I.6.2. Descripción básica *Thanatephorus cucumeris* Anamorfo: *Rhizoctonia solani*

Thanatephorus sp. origina esterigmas en basidios que pueden ser doliformes a claviformes cortos, cubriendo el estigma, produciendo basidiosporas hialinas, de forma elíptica vastas a obovadas, simples, de dimensión 7-12 x 4-8 μm , la medida de sus basidios es aproximadamente de 12 a 18 x 8 a 11 μm , mientras que de los esterigmas de 5 a 12 x 2,5 a 3,5 μm (Messiaen y Blancard, 1994; Da Silveira *et al.*, 2000).

Rhizoctonia solani cuenta con hifas jóvenes divididas en ángulos rectos cercanos al septo distal, que tienen una relación grosor-longitud 5:1. Al ser observado bajo el microscopio se puede ver claramente el micelio formado por hifas partidas polinucleadas y conectadas unas con otras por el poro septal necesario para la formación del citoplasma, las mitocondrias y núcleos de una célula a otra (Ceresini *et al.*, 1999). Otras de las formas de identificar a *R. solani* son sus células moniliales, esclerocios, hifas con tamaños mayores a 5 μm de diámetro. En este género los hongos son clasificados según el número de núcleos celulares con los que cuenten las hifas jóvenes estos pueden ser mono, bi y/o multinucleado (Nejad *et al.*, 2007). En la literatura, *R. solani* K. suele estar identificada en grupos anastomóticos de hifas usados para identificar los aislados de *Rhizoctonia*. Comúnmente esto se utiliza para incluir a los aislados por anastomosis (las hifas deben de ser iguales y consiguen fusionarse) (Lees *et al.*, 2002).

I.6.3. Infección por *Thanatephorus sp.*

El micelio entra a la planta por medio de heridas o estomas, éste puede infectar igualmente por medio de la cutícula. También puede llegar a las plantas por medio de lluvia, corrientes de agua, por tierra, maquinaria y herramientas contaminadas. *Thanatephorus* coloniza de planta-planta y la infección comienza de las raíces ascendiendo a la parte superior, por eso se podrán observar los primeros signos en los cuellos de las plantas. La temperatura es una parte importante en el proceso de infección e inicia cuando la temperatura oscila entre 15 y 18°C, y continúa a 35°C. Generalmente los ataques más severos son cuando hay una humedad media (Koppert, 2023).

Dogman y Flentje en 1970 mencionan que la colonización también podría comenzar por los hipocótilos radiculares, *R. solani* tiene clavijas que facilitan la entrada a la epidermis de la planta hospedera. Las hifas podrían funcionar como apresorios al aplastarse antes del ataque. En 1957, Flentje reveló que este hongo cuenta con células parenquimatosas que producen una mezcla mucilaginosos que ayuda a pegarse a los tejidos de la planta infectada (Chet *et al.*, 1980). También cuenta con enzimas denominadas cutinolíticas, que ayudan a destruir la cutícula, con ayuda de pectinasas y celulasas que hacen fusión mientras se produce la infección una vez desaparecida la cutícula (Krupa y Dommergues, 1981).

I.6.4. Síntomas de la enfermedad por *Thanatephorus sp.*

Los síntomas causados por *R. solani* K. pueden llegar a variar según el cultivo al que este está infectando e incluso puede existir variaciones en una misma planta hospedera, esto dependiendo de la etapa de desarrollo en la que se encuentra la planta en el momento de ser atacada y las condiciones ambientales predominantes. Entre los síntomas más comunes que se desarrollan por este hongo se encuentra el ahogamiento de plántulas, pudrición de la raíz y cancro del tallo de plantas que se encuentran en etapa adulta. En algunos cultivos como tubérculos y raíces, si la humedad es muy alta y el follaje se encuentra muy cerca del suelo se pueden producir tizones o manchas (Agrios, 1988).

Rhizoctonia solani es un hongo que puede dar muerte a las plántulas antes de emerger del suelo, esto se da por la destrucción que provoca en el meristemo apical. Si la plántula sobrevive al ataque y emerge, el ataque será dirigido a la base del tallo donde la humedad

provoca que la plántula caiga y muera. La lesión que éste provoca es hundida y dependiendo de la especie pueden llegar a tener diferentes tonalidades cremosas o amarillentas, y al madurar, la colonia se torna de color marrón (Romero, 1988; Ceresini *et al.*, 2002).

I.7. Clasificación taxonómica de *Fusarium oxysporum*

Tabla 6. Clasificación taxonómica de *Fusarium oxysporum*

Reino:	Fungi
División:	Ascomycota
Clase:	Sordariomycetes
Orden:	Hypocreales
Familia:	Nectriaceae
Género:	<i>Fusarium</i>
Especie:	<i>Fusarium oxysporum</i> (Schltdl.)

I.7.1. *Fusarium oxysporum* Schltdl.

Los hongos del género *Fusarium* (Tabla 6) son conocidos extensivamente en todo el mundo; éstos han llegado a ser un problema grave para la salud pública ya que pueden producir metabolitos tóxicos que ponen en riesgo al humano y a los animales. Asimismo, este género tiene una extensa variedad a nivel de especie; éste cuenta con más de 120 diferentes formas especiales (*formae specialis*), término establecido para la enfermedad que provoca el patógeno en un hospedante determinado. Las formas especiales de este hongo son subdivididas en razas, según la destreza de infectar varios haplotipos o diversidades en una especie hospedante (Pires da Silva *et al.* 2014). *Fusarium* cuenta con especies que atacan a cultivos agrícolas que unido a otros hongos fitopatógenos provoca estragos como marchitez, tizones y pudriciones (Ma *et al.*, 2013; Villa-Martínez *et al.*, 2014).

Al igual que *Thenatephorus* y *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* contamina cultivos por medio de suelo infectado, por corrientes de agua y semilleros que no fueron debidamente tratados. Algo que hace a *Fusarium* de suma importancia es que puede permanecer por muchos ciclos en el suelo, gracias a sus clamidosporas (Lacy *et al.* 1996, Daugovish *et al.* 2008).

I.7.2. *F. oxysporum* descripción básica

Es la especie más reconocida a nivel mundial de su género, en condiciones de laboratorio se desarrolla en medios completos (Agar de Dextrosa de Patata) y su aspecto puede cambiar según la cepa estudiada; sus esporas, los esclerocios y el micelio aéreo cambian su color de tono morado claro hasta morado intenso; también puede ponerse de color crema y naranja según la suma de sus esporodocios. Tiene macroconidias persistentes, que se pueden observar de manera oval-elipsoides, son mono o bicelulares, y se crean en fialidas pequeñas no divididas, de ningún modo se verán en cadena; éstas tienen de 3-5 septos, fusoides, ligeramente curvada y normalmente con una célula basal pedicelada; al comienzo se forman en fialidas individuales para posteriormente formarse en esporodocios. Sus clamidosporas son solitarias o en cadenas cortas (Walker, 1973; Agrios, 1998).

I.7.3. Infección por *F. oxysporum*

Este hongo se introduce a la planta por medio de las raíces, ya sea por penetración en la punta de la raíz o por las lesiones naturales, un ejemplo de ello son las lesiones que se dan por la formación de raíces laterales (Mes *et al*, 2000). El micelio penetra de manera intercelular por medio de las raíces (Agrios, 2007). Una vez que el micelio entra en los vasos, formando macroconidias, que serán separadas y se dirigirán a la parte superior de la planta por medio del flujo ascendente del agua del xilema. Los macroconidios se desarrollarán una vez que éste finalice su movimiento ascendente y el micelio entre a la pared del vaso, originando así microconidias. De esta manera *F. oxysporum* continuara su trayecto a los vasos contiguos. Así es como este hongo consigue una mayor infección en los tejidos parenquimatosos de la planta, y cuando se encuentra en los tejidos muertos esporula en abundancia (Yadeta y Thomma, 2013).

I.7.4. Síntomas de la enfermedad por *F. oxysporum*

Los principales síntomas que son notados en los cultivos producidos por este fitopatógeno son una sutil decoloración de las nervaduras de las hojas jóvenes que están situadas en el exterior; posterior a esto se produce la epinastía de las hojas que traen consigo debilidad de los peciolo;

en las plantas más viejas estos procesos se distinguen primero antes del enanismo a la par se comienza a observar una decoloración amarilla en las hojas de la parte de abajo. Normalmente se pueden encontrar raíces adventicias, pequeñez en tallos y hojas jóvenes, muerte en hojas persistentes y defoliación (Agrios, 2007).

En los campos se ve como la enfermedad avanza de forma progresiva, induciendo la muerte temprana de las plantas atacadas (Smith *et al.*, 1988). Otros signos que denotan la presencia de *F. oxysporum* en el arqueo y debilidad de la hoja sin cambiar su tonalidad verde y surgimiento de botones. También hay existencia de chancros en tallo, que se encuentran de forma lineal del suelo hasta 10 a 30 cm encima de éste (Rodríguez *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2004). Si la planta logra sobrevivir ésta no tiene un buen desarrollo, sus frutos son de talla pequeña y de mala calidad (Alpi y Tognoni, 1991).

I.8. Daños e importancia económica en México de *Thenatephorus sp.* y *F. oxysporum*

Los hongos del género *Fusarium* y *Thenatephorus* son conocidos por producir descomposiciones de órganos vegetales, marchitamiento, “Damping-off” y chancros en los tallos; se han reportado devastaciones en campos con plantas susceptibles y bajo determinados escenarios de humedad. Este complejo tiene la capacidad de acabar totalmente o bajar el rendimiento de la cosecha si existe una cantidad significativa de inóculo en el suelo, siembra continúa de monocultivo, particularidades físico-químicas del suelo, el clima y la intervención humana (Mendoza y Pinto, 1985; Bateman y Murray 2001; Bernhoft *et al.*, 2012).

Desde 1967 las especies del género *Fusarium* se reportaron como los agentes que causan la marchitez en México, aunado a otros hongos pertenecientes a los géneros de *Phytophthora spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Phytium spp.*, entre otros, este conjunto de hongos se nombró “complejo fitopatogénico”; la marchitez se origina en condiciones ambientales propicias y trae consigo grandes pérdidas económicas al afectar entre el 60% y el 100% de la cosecha (Rivera, 2009). En la actualidad la infección más importante por su manera de diseminarse y por el impacto que trae consigo es la fusariosis causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*; afecta hasta un 60 % el aprovechamiento del cultivo y deteriora la calidad del fruto (Ascencio-Álvarez *et al.*,

2008). También *Fusarium oxysporum* Schldtl. trae consigo la pudrición de raíz e hipocotilo en viveros (Gordon *et al.*, 2015).

I.8.1. Control de *Thenatephorus* sp. y *Fusarium oxisporum* Schldtl.

R. solani es tratado normalmente con fungicidas sistémicos que son químicos formulados para atravesar la cutícula de las hojas y moverse por toda la planta; estos se seleccionan según sean sus características para defender y beneficiar el cultivo, suelen ser útiles a bajas concentraciones para el control de la enfermedad cuando se tiene un plan de manejo integrado (Gisi y Sierotzki, 2008). En los cultivos, en la actualidad se han generado planes de manejo de enfermedades de las plantas con la mayor cantidad de productos naturales o sin utilizar en su totalidad productos químicos (Guigón *et al.*, 2010). Sin embargo, los productos naturales que se encuentran en el mercado para *R. solani* K, aún se encuentran restringidos y se apoyan primariamente en hongos como lo son *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Streptomyces*, *Coniothyrium* y *Candida*, así como bacterias *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Agrobacterium* (Harman *et al.*, 2010; Pliego *et al.*, 2011). Actualmente la forma más efectiva de controlar o frenar a *Thenatephorus* es mediante el manejo integrado (Antonopoulos *et al.*, 2010; Bi *et al.*, 2012).

Para *F. oxysporum* su control llega a ser un poco más complicado por su amplia gama genética y su forma de colonizar mundialmente. Se han aplicado estrategias como son la aplicación de inductores de resistencia, biorreguladores y mezclas naturales vegetales para establecer un control efectivo (Rodríguez *et al.*, 2002; El- Khallal, 2007). Otra forma común de control de este fitopatógeno es utilizar variedades de plantas resistentes (Ascencio-Álvarez *et al.*, 2008).

Normalmente para mantener controlada las infecciones originadas por *Fusarium* spp. y otros hongos se utilizan agroquímicos nombrados fungicidas erradicadores como los benzimidazoles, incluidos el benomil, carbendazim, tiabendazol, y tiofanato (Agrios, 2005). Sin embargo, se ha teorizado que los agroquímicos son agentes causales de mutaciones en las cosechas, de igual manera se plantea que incrementan el nivel de resistencia de los hongos (Agrios, 2005).

II. HIPÓTESIS

El aceite esencial y el extracto acuoso del orégano (*Lippia palmeri* W.) del estado de Sonora, pueden ser una nueva alternativa antifúngica, repelente y antiviral natural en la agricultura.

III. OBJETIVOS

III.1. Objetivo general

Evaluar el efecto repelente, antiviral y fungicida del aceite esencial y extracto acuoso del orégano cultivado (*Lippia palmeri* W.) sobre mosquita blanca (*Bemisia tabaci* G.), el virus SLCV y los hongos patógenos (*Thenatephorus* sp. y *Fusarium oxisporum* Schltdl).

III.2. Objetivos específicos

- Evaluar la actividad antifúngica del aceite esencial y extracto acuoso de orégano cultivado (*Lippia palmeri* W.) sobre los hongos patógenos (*Thenatephorus* sp. y *Fusarium oxisporum* Schltdl).
- Estimar la actividad de repelencia del aceite esencial y extracto acuoso de orégano cultivado (*Lippia palmeri* W.) sobre mosquita blanca (*B.tabaci* G.).
- Analizar actividad antiviral del aceite esencial y extracto acuoso de orégano cultivado (*Lippia palmeri* W.) sobre virus del enrollamiento de la calabaza.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1. Material vegetal utilizado

Las hojas de las plantas de orégano (*Lippia palmeri* W.), se colectaron en la época de floración durante el mes de septiembre de 2016, en el campo experimental del Departamento de Agricultura y Ganadería de la Universidad de Sonora, localizado en el km 21 de la carretera Hermosillo a Bahía de Kino, el cual se encuentra a una altitud de 160 msnm, con latitud de 29° 04' 55.5" N y longitud de 110° 58' 3.15" O, con una precipitación anual de 150 mm y temperatura promedio de 23°C.

IV.2. Extracción de los aceites esenciales (AE) y extracto acuoso (EA)

La preparación de los tratamientos para la destilación de arrastre de vapor se realizó de la siguiente forma: para AE al 40 % se utilizaron 40 g de hoja seca de orégano en 100 ml de agua destilada y para el AE al 60 % se utilizaron 60 g de hoja seca de orégano en 100 ml de agua destilada.

La extracción de AE se hizo secando las hojas de cada una de las plantas de orégano a temperatura ambiente y a la sombra, una vez secas se almacenaron en bolsas de papel. El AE se extrajo a partir de 100 g de hojas utilizando el método de arrastre con vapor durante cuatro horas, utilizando un equipo Clevenger (Winzer®, Plano, TX). El AE fue separado de la fase acuosa por medio de decantación y posteriormente se le agregó sulfato de sodio anhidro para eliminar la humedad del aceite esencial; el AE que se extrajo se introdujo en viales ámbar a -4° C para su conservación y posterior uso.

Para la preparación del extracto acuoso se maceraron 50 y 200 g de orégano seco por separado, después se vertió el orégano macerado a un vaso de precipitado donde se añadieron 1000 ml de agua destilada a cada tratamiento y, posteriormente se dejaron ambos tratamientos por 24 horas en una parrilla con agitación constante (sin calentarse); posteriormente se filtraron y refrigeraron a una temperatura de -4° C.

IV.3. Análisis GC-MS del aceite esencial de orégano cultivado (*Lippia palmeri* W.)

La composición química y cuantificación de los aceites esenciales se determinó en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 acoplado a un espectrómetro de masas, cuádruplo simple Agilent 5975C con una fuente de ionización de impacto electrónico a 70 eV. Se utilizó una columna capilar HP-5MS UI de 30 metros de longitud 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 μ m de espesor de película, usando helio como gas portador, con un flujo de 1 mL/min. El modo de inyección fue en modo split en una relación de 100:1; el volumen de inyección fue de 1 μ L; el aceite esencial a analizar se diluyó en una proporción 1:50, con metanol grado HPLC \geq 99.9%. El software de adquisición de datos fue MSD ChemStation E.02.02.1431 y el programa fue 5975TAD. Las temperaturas de la interfase y de la fuente fueron 150 °C y 200 °C respectivamente. El programa de temperatura inició a 50 °C por 5 minutos, seguidos de una rampa de calentamiento a razón de 8 °C/min hasta 300 °C, manteniendo esta temperatura por 5 min, el tiempo total de corrida fue de 41.25 min. La adquisición de los datos se llevó a cabo en modo scan en un rango de masas de 40-450 m/z, en el software de análisis de datos MSD ChemStation E.02.02.1431; la identificación de los compuestos se llevó a cabo por su espectro de masas utilizando el programa 5975TAD Data Analysis vinculado a la Librería NIST 2011.

IV.4. Aislamiento de *Thenatephorus* sp.

Las raíces y tallos de las plantas de garbanzo con síntomas de marchitez se lavaron con agua corriente y se cortaron en fragmentos de 1 cm. El tejido se desinfectó durante 1 min en hipoclorito de sodio al 3 %. El tejido se sembró en el medio agar papa dextrosa (PDA) acidificado (300 μ M de ácido láctico por litro de medio). La incubación se hizo entre 19 y 25 °C por 2 días.

Los hongos aislados fueron identificados de acuerdo con sus características morfológicas (Sneh *et al.*, 1991) y se transfirieron nuevamente a PDA acidificado con la finalidad de obtener cultivos puros para la extracción de puntas de hifa. Los aislados se identificaron por parcela de colecta y por la estructura de la planta donde fue aislado (tallo y raíz).

IV.5. Aislamiento de *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum cepa RB001 se aisló de frutos de sandía procedentes del estado de Sonora, México donado por la Dra. Irene Ileana Ramírez Bustos.

IV.6. Bioensayos de la actividad de aceites esenciales, extracto acuoso y sus compuestos

Los aceites esenciales y extractos acuosos de orégano fueron disueltos en tween 20, mezclados y homogeneizados por agitación en matraces con medio de cultivo PDA previamente esterilizado, se añadieron por separado dosis del aceite esencial de 100, 150, 200, 250 y 300 µg/ml y para el extracto acuoso se utilizaron los tratamientos de 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 G. El PDA con los tratamientos se vació en cajas Petri (60 x 15 mm).

De los patógenos incubados y previamente identificados sembrados en PDA se tomó un disco de agar de cinco mm del cultivo del patógeno se colocó en el centro de cada caja con los tratamientos, después las cajas se incubaron a 25 °C por ocho días. El crecimiento micelial (diámetro de la colonia) fue medido con un vernier diariamente de las 10 repeticiones que se consideraron para cada concentración de aceites esenciales y extractos acuosos. Las cajas Petri control contuvieron solamente PDA. La evaluación se dió por terminada cuando el micelio de la placa de agar control alcanzó el borde de las cajas.

IV.7. Siembra de calabaza *Cucurbita pepo* L.

El cultivo de calabaza *Cucurbita pepo* L. se llevó a cabo en el invernadero del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora, localizado en la Ciudad de Hermosillo, el cual se encuentra a una altitud de 160 msnm, y se localiza a 29°04' 55.5''LN y 110°58'3.15''W. Se formaron camas de 50 cm de ancho y 12 m de largo en donde se colocaron simultáneamente cintas de riego por goteo. El agua se suministró mediante riego por goteo, dichos goteros cuentan con una distancia de 20 cm.

La siembra fue por trasplante, se establecieron cuatro de camas una para cada tratamiento del AE y EA, cipermetrina (control positivo) y una cama sin tratamientos (control negativo). Se obtuvieron 48 plantas en total, 8 por tratamiento.

IV.7.1. Repelencia de mosquita blanca

Para la aplicación de los tratamientos de aceite esencial y extracto acuoso al 40 y 60 % se utilizaron aspersores manuales, la aspersión se llevó a cabo cuando en el cultivo se alcanzó el umbral de 2 insectos adulto de mosquita blanca. De cada tratamiento se seleccionaron al azar cuatro plantas de calabaza tratadas y se hizo un conteo de mosca blanca adulta.

IV.8. Inoculación del virus del enrollamiento de la hoja en plantas de calabaza

Se plantaron 48 plantas de calabaza en macetas en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Agricultura y Ganadería de la Universidad de Sonora. Una vez que las plantas emergieron se infectaron de manera mecánica, realizando una pequeña lesión en las hojas para posteriormente frotar sobre dicha lesión una gaza con salvia de plantas positivas al Virus del Enrollamiento de la Hoja de la calabaza.

IV.9. Diseño experimental

El diseño del bioensayo antifúngico fue de bloques completamente al azar. Los resultados del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial fueron transformados con la raíz cuadrada de arcoseno y evaluados mediante un análisis de varianza de una vía de clasificación. Posteriormente se realizó una comparación de medias mediante la prueba de Tukey, usando el paquete estadístico JMP versión 5.0.1 (SAS Institute, 2002).

Para medir la bioactividad de repelencia, el diseño experimental fue bloques totalmente al azar teniendo un tratamiento, dos dosis, un control positivo con cipermetrina y un control negativo. Se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias se obtuvo por la prueba de Tukey-Kramer, usando el paquete estadístico JMP versión 5.0.1 (SAS, 2002) para establecer las posibles diferencias en cada tratamiento del aceite esencial, el extracto acuoso y los controles.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V.1. Composición química del aceite esencial de *Lippia palmeri* W.

El aceite esencial del orégano cultivado presentó 37 compuestos. El componente que se encontró con mayor abundancia fue timol (32 %), seguido por cariofileno (21.7 %) que en conjunto constituyen el 53.7 % del total. Otros compuestos abundantes fueron carvacrol y cimeno (ambos 5.56 %), γ -terpineno (5.00 %), óxido de cariofileno (4.32 %), 4-tert-butylcatechol (2.47 %), fenol, 3-tert-butyl-4-metoxi (1.84 %), α -cariofileno (1.75 %), β -mirceno (1.36 %) y acetato de timol (1.31 %). El 22.69 % restante lo conformaron 26 compuestos que su contenido es en trazas desde 1.19 al 0.01 %. Estos resultados al compararlos con el estudio realizado por Ortega-Nieblas *et al.* (2011), donde se identificaron los componentes de *Lippia palmeri* proveniente de dos localidades silvestres ubicadas en Álamos, Sonora y del Puerto del Orégano; se encontró similitud en la presencia de compuestos con ambos aceites: α -pineno, α -felandreno, α -terpineno, cimeno, γ -terpineno, borneol, timol, carvacrol, cariofileno, aloaromadendreno, β -bisaboleno, y espatulenol. Algunos autores, concuerdan que los compuestos de carvacrol, timol y cimeno, son los responsables de la actividad insecticida, bactericida, fungicida y antiviral de los AE (Aligiannis *et al.*, 2001; Salgueiro, 2003; Radudiene, 2005; Camilo *et al.*, 2007; Bothelo *et al.*, 2007). La gran mayoría de los estudios sobre la composición del aceite de orégano se relacionan con *Origanum vulgare* y a su vez, se ha demostrado que el rendimiento y composición de estos dependerán de las condiciones ambientales en su hábitat y de su proceso de extracción (Ávila *et al.*, 2010).

El cromatograma del extracto acuoso del orégano cultivado, identificó 42 compuestos. El compuesto de porcentaje mayoritario fue timol (12.56 %), seguido del o-cimeno (11.58 %), furfural (9.25 %) y levoglucosano (5.49 %), conformando esto cuatro compuestos el 38.8 % del total. El resto fueron 38 compuestos con concentraciones bajas, entre los que se encuentra el ribitol (1.91 %), dimetil melato (1.67 %) y el ácido benzoico (1.52 %), conocidos por sus propiedades antimicrobianas y antifúngicas (Plaus *et al.*, 2001; Cueto-Wong, 2010). Al igual que en el aceite esencial del orégano, en el extracto acuoso se encontraron compuestos que están registrados en la literatura con actividad biológica importante.

V.2. Actividad biológica de los aceites esenciales sobre *Thanatephorus* sp. y *F. oxysporum*

De las dosis evaluadas del aceite esencial para inhibir a *F. oxysporum* y *Thanatephorus* sp. Para *Thanatephorus* sp. la dosis de 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$ fue la que tuvo menor efecto de inhibición, entre 90 y 93 %, pero a medida que se iba incrementando la dosis de aceite esencial, este alcanzó un 99 y 100 % de inhibición en el transcurso de los 7 días, con diferencias significativas entre los tratamientos ($p \leq 0.05$) en las dosis de 100 y 150 $\mu\text{L}/\text{mL}$ respecto a los demás (Figura 3). La tendencia en la baja del crecimiento micelial nos indicaba que a mayor cantidad de aceite esencial se tiene una mayor sensibilidad por parte de *Thanatephorus* sp. llegando a una inhibición total en el crecimiento del micelio. Siramon *et al.* (2013) trabajaron *in vitro* con el aceite esencial de eucalipto rojo contra *Chaetomium globosum*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Thanatephorus cucumeris* y *Rhizopus oryzae*, este aceite esencial tuvo una inhibición inducida de entre el 84 y 100 % para *F. oxysporum* y *T. cucumeris*.

En los resultados obtenidos para *F. oxysporum* no se observaron diferencias significativas entre las dosis utilizadas ($p \leq 0.05$). Se obtuvieron resultados relevantes en los 5 tratamientos de aceite esencial del orégano al igual que con el carvacrol como control positivo, mostrando una fuerte actividad biológica, al generar una inhibición total e impedir el crecimiento micelial en cualquiera de sus dosis aplicadas. Estos resultados coinciden con lo reportado por E. Wogiatzi *et al.* (2009), quienes encontraron que los biotipos de *O. vulgare* ricos en timol y carvacrol, inhibieron satisfactoriamente el crecimiento micelial de *F. oxysporum*. Los resultados encontrados en la presente investigación son de una gran relevancia, considerando la importancia de encontrar alternativas naturales para erradicar a *F. oxysporum*, ya que éste se encuentra entre los hongos fitopatógenos más importantes a nivel mundial por los daños que causa a los cultivos y su potencial efecto dañino sobre la salud humana (Dean *et al.*, 2012).

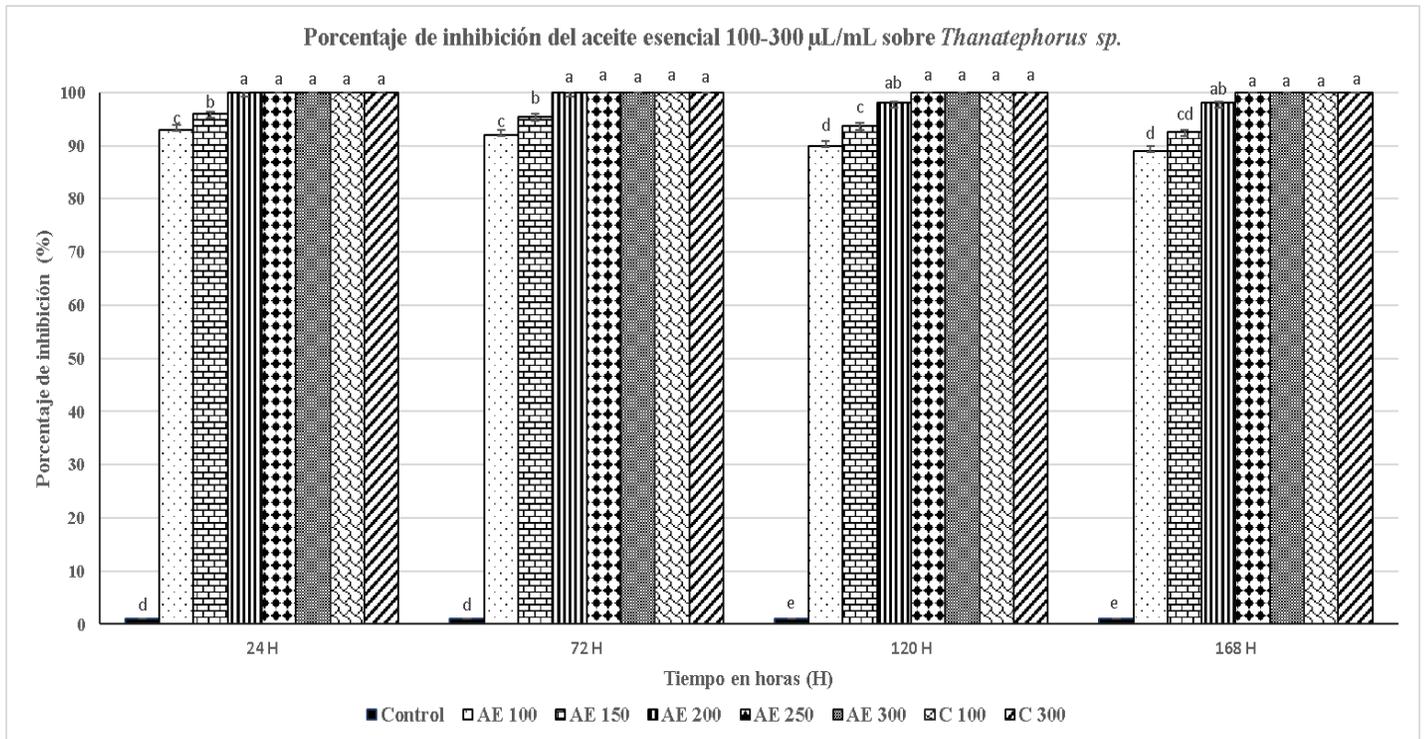


Figura 3. Actividad antifúngica del aceite esencial de *L. palmeri* en dosis de 100, 150, 200, 250 y 300 $\mu\text{L}/\text{mL}$; como control positivo carvacrol 100 y 300 $\mu\text{L}/\text{mL}$ expresado en porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo *Thanatephorus sp.* Prueba de medias entre las diferentes concentraciones ($p \leq 0.05$). Letras diferentes representan las diferencias significativas.

V.3. Actividad biológica de los extractos acuosos sobre *Thanatephorus sp.* y *F. oxysporum*

En cuanto al uso del extracto acuoso de *L. palmeri*, utilizado para inhibir a *Thanatephorus sp.* se pudo observar que durante las primeras 24 h fue cuando se obtuvo la mejor respuesta. La dosis de 0.30 g tuvo una inhibición entre 58 y 100 %, mientras que las dosis más bajas de 0.10 g y 0.15 g inhibieron entre 10 y 38 %, por lo que se deduce que existe diferencias significativas entre los tratamientos y los controles utilizados en el presente estudio (Figura, 4). Se han utilizado extractos metanólicos de *L. tridentata* y *Fluorensia cernua* sobre *R. solani* que lo inhibieron entre el 85 y 100 % respectivamente indicando que sí es posible controlar el desarrollo de hongos fitopatógenos con extractos vegetales (López-Benítez, 2005; Rodríguez-Castro *et al.*, 2020).

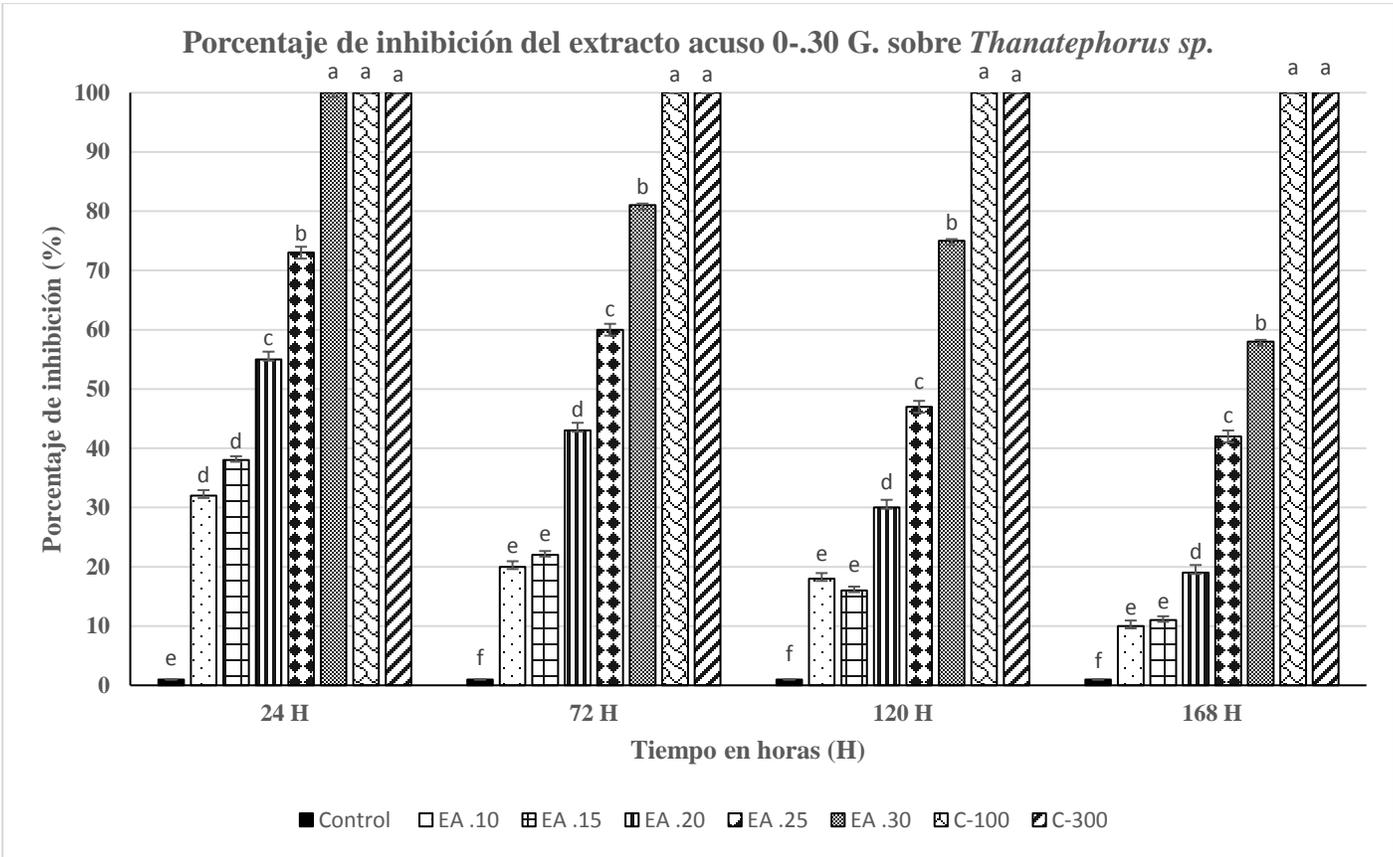


Figura 4. Actividad antifúngica del extracto acuoso liofilizado de *L. palmeri* en dosis de 0.10, 0.15, 0.20, .025 y 0.30 g, expresada en porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo *Thanatephorus sp.* Prueba de medias entre las diferentes concentraciones ($p \leq 0.05$). Letras diferentes representan las diferencias significativas.

Al igual que con *Thanatephorus sp.* se utilizaron los extractos acuosos sobre *F. oxysporum* donde se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en los tratamientos aplicados para la inhibición, las dosis con mejor resultado fueron 0.25 g y 0.30 g con una inhibición entre el 60 % y 90 % respectivamente; las dosis más bajas que fueron de 0.10 a 0.15 g inhibieron entre el 20 % y 60 % el crecimiento micelial (Figura 5). Se ha experimentado con extractos acuosos de ajo (*Allium sativum*), semilla de neem (*Azardiachta indica*), hierba de limón (*Cymogopogon proxims*), comino (*Carum carvi*) y clavo (*Eugenia caryophyllus*), el fungicida convencional benomilo y cepas de *Trichoderma spp.*, que son utilizados como control biológico en cultivos contra *F. oxysporum*, los resultados arrojaron que los tratamientos utilizados tuvieron una inhibición superior al 60 %; donde el extracto acuoso de ajo fue el que presentó mayor actividad

inhibitoria con casi el 95 %, similar a la actuación del benomilo y *Trichoderma* spp. (Alkahil *et al.*, 2005).

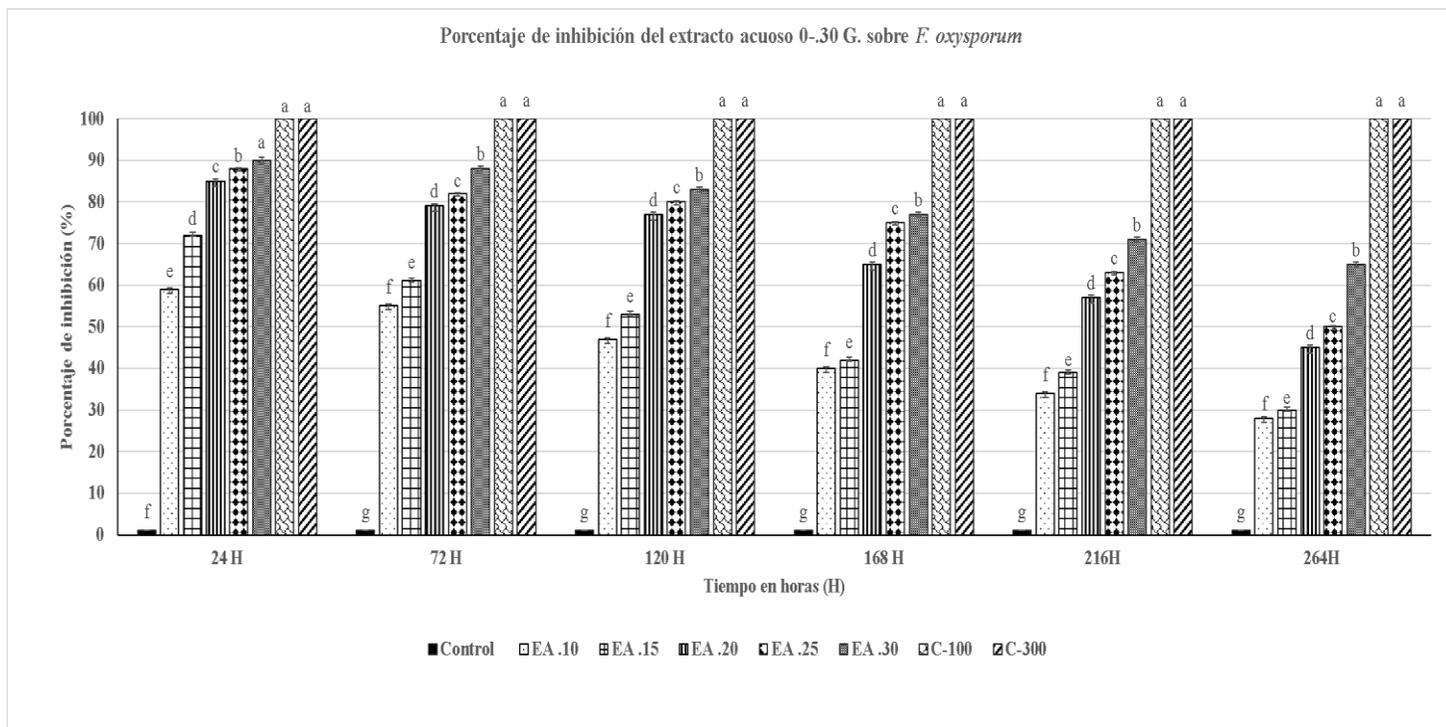


Figura 5. Actividad antifúngica del extracto acuoso liofilizado de *L. palmeri* en dosis de 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 g; como control positivo carvacrol 100 y 300 µL/ml expresado en porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo *F. oxysporum*. Prueba de medias entre las diferentes concentraciones ($p \leq 0.05$). Letras diferentes representan las diferencias significativas.

En diversas investigaciones se les atribuye el efecto antifúngico al carvacrol y al timol que se encuentran en los aceites esenciales y extractos acuosos en especies como *O. vulgare*, *L. alba*, *L. berlandieri* y *L. graveolens*. Se ha reportado que estos compuestos pueden afectar al hongo al alterar su estructura morfológica, retrasando y reduciendo el desarrollo al producir lisis entre la membrana y pared celular del hongo (Kordal *et al.*, 2008). Al tener contacto la membrana con el aceite esencial se da una pérdida de la integridad de esta y una baja en la cantidad de ergosterol, principal componente de la membrana de los hongos, así como una respuesta inhibitoria a la formación de la pared (Shreaz, 2016). Asimismo, se ha señalado que la expresión de algunos genes pudiera verse afectada de forma negativa, especialmente, aquéllos

involucrados en los procesos de la adhesión, desarrollo, dimorfismo y la reproducción de esporas del hongo (D'agostino, 2019).

V.4. Actividad biológica del aceite esencial del orégano sobre *Bemisia tabaci*

En cuanto a las pruebas de repelencia, las dosis del aceite esencial de 60 y 40 % (Figura 6) presentaron propiedades repelente similares entre sí, sin diferencias significativas entre los tratamientos y la cipermetrina. El aceite esencial en la primera semana de la aplicación presentó en promedio entre 9 a 12 mosquitas blancas por planta en las dos dosis aplicadas. Durante la primera semana no se presentaron diferencias significativas entre el control negativo y el aceite esencial, pero sí hubo diferencias significativas con la cipermetrina.

El promedio más alto de repelencia se observó durante la quinta semana del experimento donde el aceite esencial al 60 % tuvo una repelencia con un promedio de 7 mosquitas blancas, mientras que la cipermetrina tuvo un promedio de 6 mosquitas blancas.

El control negativo tuvo un resultado entre 12 y 16 mosquitas blancas por planta en las seis semanas que el experimental que se llevó a cabo; Se encontraron diferencias significativas entre el control negativo y los tratamientos del aceite esencial.

Santiago *et al.* (2009) realizaron estudios de repelencia sobre adultos de mosca blanca usando varios aceites esenciales en un invernadero a través del método del cilindro de acrílico. Aquí se expusieron 20 insectos adultos de mosca blanca a una lámina de hoja de planta de frijol tratado con aceite esencial. Los resultados revelaron que los aceites esenciales de canela y tomillo tuvieron una repelencia exitosa de 91 y 93 %, respectivamente, mientras que los aceites esenciales que más baja o nula repelencia tuvieron fueron los de clavo y naranja.

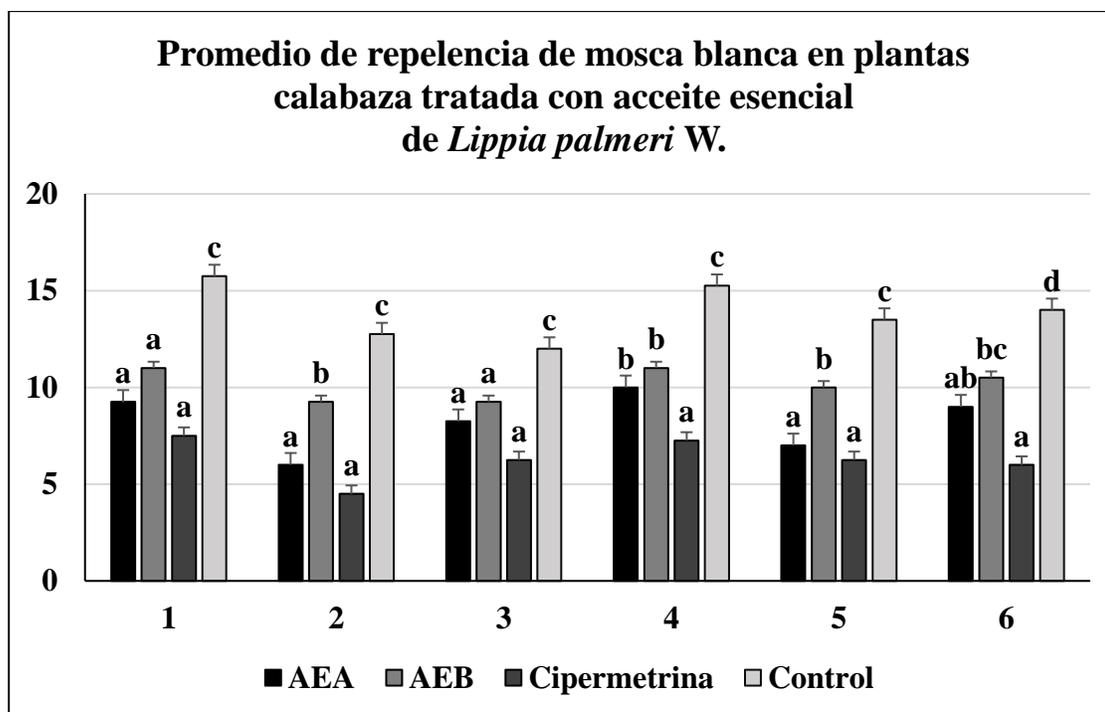


Figura 6. Repelencia del aceite esencial de *L. palmeri* en concentraciones de 40 (AEA) y 60 % (AEB) y la cipermetrina utilizada como control positivo expresada en promedio de moscas presentes. Prueba de medias entre las diferentes concentraciones ($p \leq 0.05$). Las letras representan las diferencias significativas entre los tratamientos.

V.5. Actividad biológica del extracto acuoso del orégano sobre *Bemisia tabaci*

El extracto acuoso a dosis de 60 % presentó los valores de repelencia más alto, con un promedio entre 10 y 11 moscas blancas por planta contabilizadas en las 6 semanas del experimento; mientras que la dosis más baja de 40 % presentó un promedio entre 11 y 14 moscas blancas en promedio. En ambas dosis se puede observar que conforme fueron repitiéndose las aplicaciones de los extractos acuosos donde hubo una disminución en la cantidad de mosca blanca presente en las hojas. De acuerdo con los resultados obtenidos, ambas dosis de extracto acuoso de orégano no presentaron diferencias significativas entre sí, sin embargo, si hubo diferencias significativas con la cipermetrina (Figura 7).

Los resultados obtenidos en este trabajo coinciden con los publicados por Aguilar-Astudillo *et al.* (2022) quienes comparó distintas dosis de extracto crudo de *Origanum vulgare* L. extraídos con cuatro solventes distintos. Ellos encontraron una repelencia mayor al 50 % de

la población de *Trialeurodes vaporariorum* y observaron que, a dosis más elevadas de los extractos, existe un mejor efecto de repelencia.

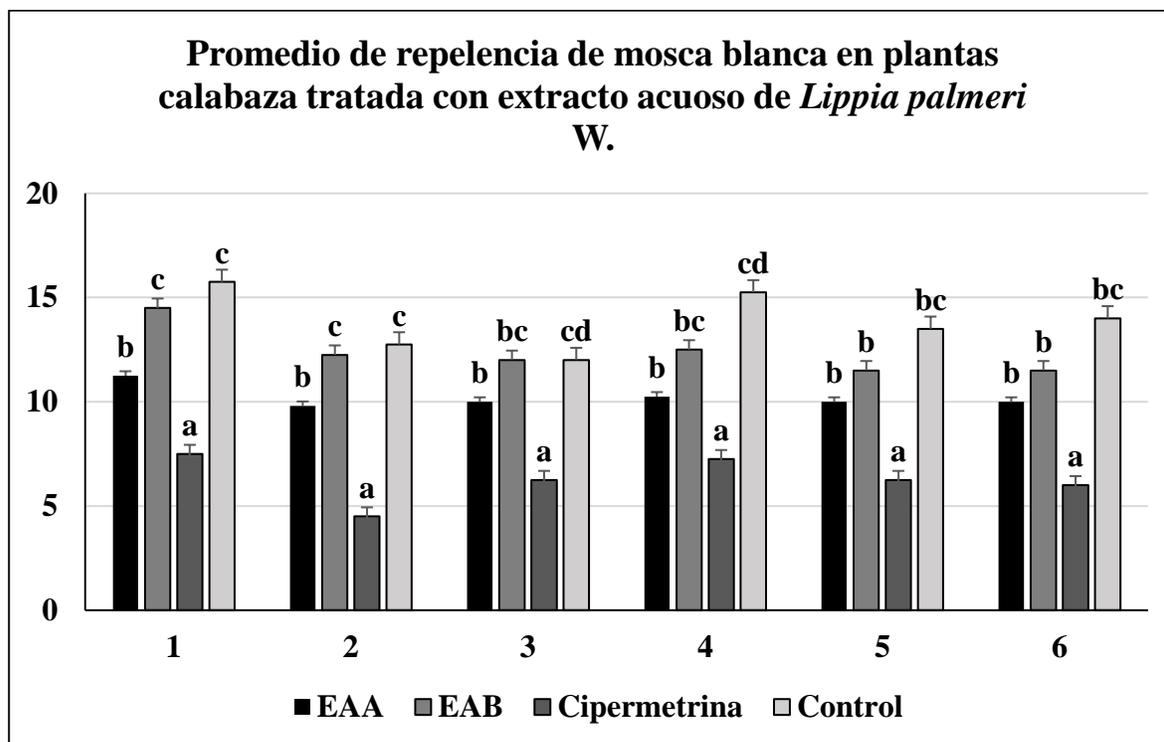


Figura 7. Repelencia del extracto acuoso de *L. palmeri* en concentraciones de 40 y 60 %; cipermetrina como control positivo expresada en promedio. Prueba de medias entre las diferentes concentraciones ($p \leq 0.05$). Las letras representan diferencia significativa entre los tratamientos.

Según los resultados obtenidos con el aceite esencial y extracto acuoso del orégano se confirma la actividad biológica de repelencia. Se han identificado compuestos de la especie *L. palmeri* W. que le confieren esta actividad, los cuales han sido extraídos y posteriormente probados como controles de plagas.

V.6. Inoculación del Virus del Enrollamiento de la Hoja en plantas de calabaza

De las 19 plantas de calabaza colectadas en campos de la costa con síntomas de infección se procedió a realizar la identificación molecular del Virus del Enrollamiento de la Calabaza por PCR, utilizando los iniciadores prV324/prC889 (Wyatt y Brown, 1996; Yongping et al., 2008); se obtuvo un amplicón de 750 pb, según lo esperado. Las bandas de los pozos 2, 4, 5 y 6 corresponden a muestras positivas del SLCV (Figura 8). Díaz-Najera *et al.* (2020) utilizaron los mismos oligonucleótidos obteniendo como resultados de PCR y secuenciación que los síntomas de virosis en hojas de calabaza que fueron colectadas en el Valle de Cocula dieron positivos a SLCV.

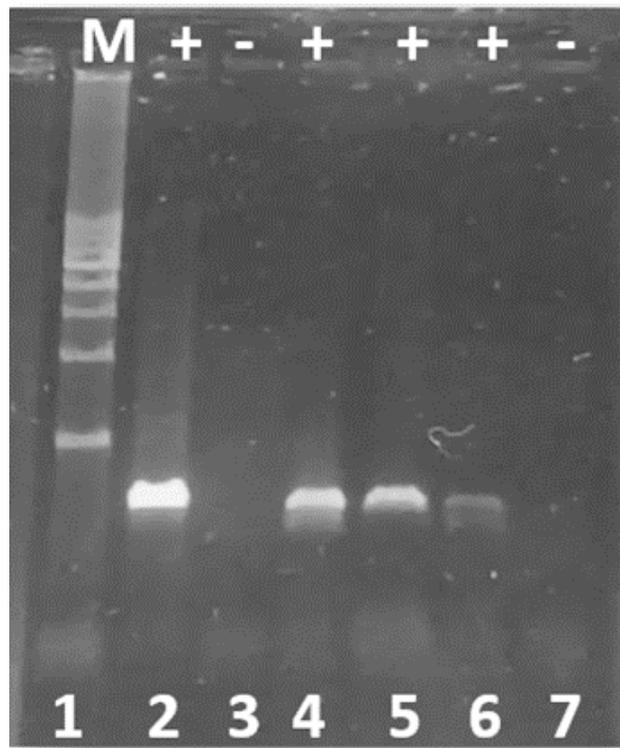


Figura 8. Detección molecular del Virus del Enrollamiento de la Hoja de la Calabaza utilizando electroforesis en gel de agarosa de los productos de PCR. Los pozos 2, 4, 5 y 6 corresponden a muestras positivas del SLCV.

Siguiendo la metodología se inoculo el Virus del Enrollamiento de la Hoja de la Calabaza en 48 plantas de calabaza (24 calabazas var. Kabocha, 24 calabazas var. Italiana) en el

Laboratorio de fitopatología teniéndolas en un ambiente controlado. Se hizo un seguimiento continuo del desarrollo de la planta, esperando ver síntomas de enrollamiento de hojas, retraso del crecimiento, epinastia, clorosis intervenal y moteado de hojas (Díaz-Najera *et al.*, 2020). En la Figura 9 se puede apreciar el desarrollo de las plantas que fueron inoculadas, así como el control negativo, estas se desarrollaron de forma sana sin presentar síntomas de infección; no se obtuvo ninguna planta positiva al virus del enrollamiento de la hoja.

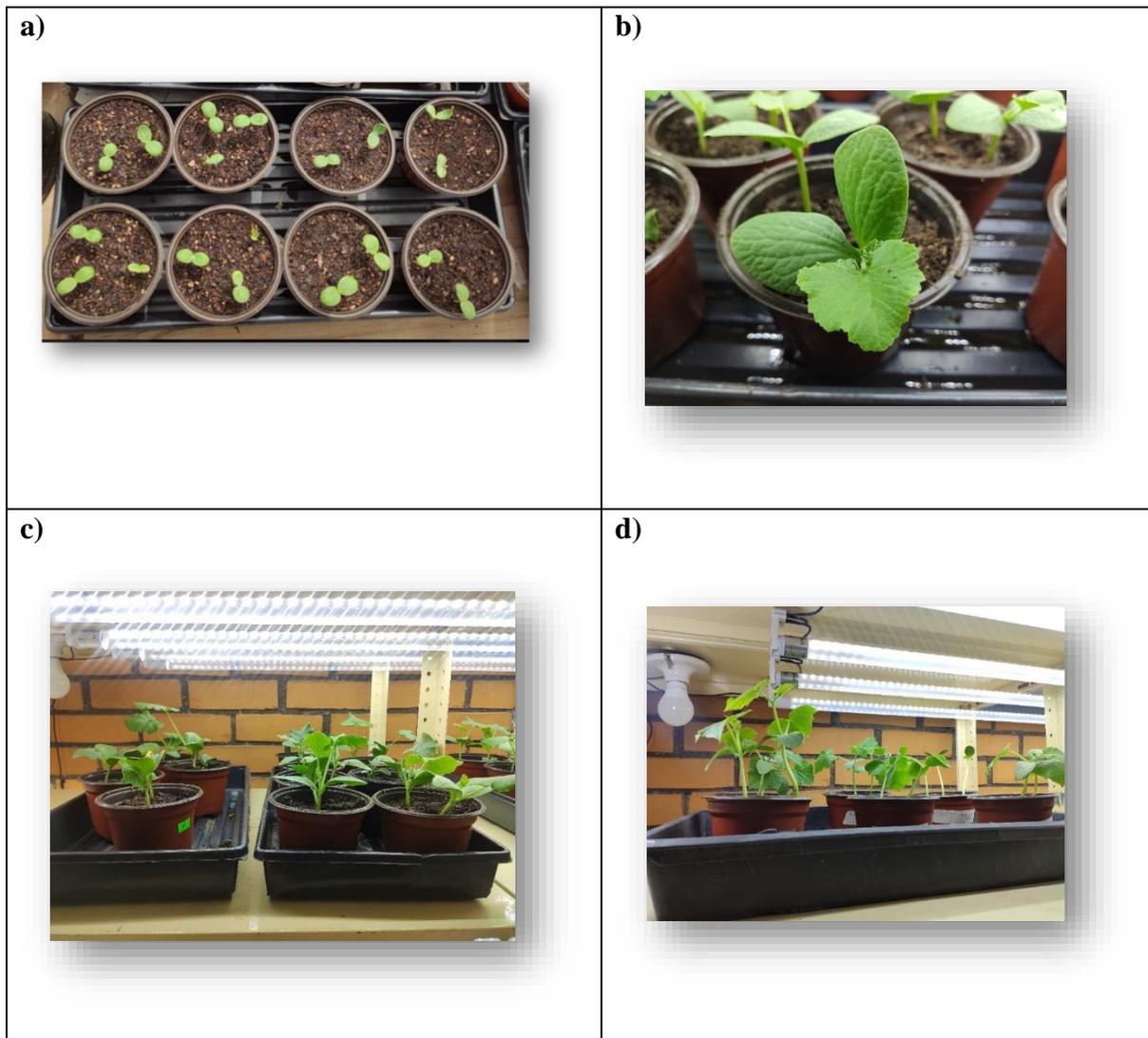


Figura 9. Emergencia de la planta de calabaza en macetas b) inoculación del virus del enrollamiento de la hoja de calabaza c) desarrollo de la planta de calabaza control d) desarrollo de la planta de calabaza inoculada.

VI. CONCLUSIÓN

El GC-MS permitió caracterizar químicamente a los aceites esenciales y extractos acuosos de hojas de *L. palmeri* procedentes del Departamento de Agricultura y Ganadería de la Universidad de Sonora, para así poder evaluar su efecto de inhibición y repelencia. Los compuestos más abundantes identificados en el AE y EA fueron el timol, carvacol, levoglucosano, p-cimeno. Los resultados evidenciaron que las dos especies de hongos fitopatógenos *Thanatephorus* sp. y *F. oxysporum* fueron inhibidos *in vitro* por el aceite esencial y extracto acuoso del orégano *L. palmeri*. *F. oxysporum* fue inhibido en su totalidad de manera *in vitro* por el aceite esencial del orégano. Se observó que la velocidad de crecimiento micelial de *Thanatephorus* sp. y *F. oxysporum* se redujo acorde al aumento de las concentraciones utilizadas. Además, también se probó que las dosis aplicadas de aceite esencial y extracto acuoso mostraron actividad repelente sobre mosca blanca. Esto nos indica que el orégano (*L. palmeri* W.) puede ser una planta promisoría para el control biológico de hongos fitopatógenos y como repelente.

VII. RECOMENDACIONES

- Aplicar los tratamientos del AE y EA en macetas, con condiciones controladas, caracterización del suelo para posteriormente aplicar en campos con rastros de inoculados de los patógenos *Thanatephorus* sp. y *F. oxysporum*.
- Establecer dosis de AE y EA que debe ser aplicada en macetas y en campo, tomar en cuenta el valorar la toxicidad que podrían presentar las dosis.
- Hacer mezclas del AE y EA con otros compuestos obtenidos de otras plantas, simulando los productos que se encuentran a nivel comercial.
- Realizar pruebas en los bioensayos de las características fisicoquímicas del suelo.
- Utilizar mezclas de los aceites esenciales y extractos acuosos, para probar si se incrementa el efecto de repelencia.
- Para obtener mayor repelencia se recomienda utilizar equipos de alta presión que proporcione mayor penetración y cobertura cuando se lleve a cabo la aspersion de los tratamientos, orientando las boquillas para que cubra el envés de las hojas.
- Establecer, de manera más precisa, la distancia en la que se deben aplicar los aceites esenciales a la planta para obtener mejores resultados.

VIII. LITERATURA CITADA

- Acevedo A. 2007. Composición y capacidad antioxidante de especies aromáticas y medicinales con alto contenido de timol y carvacrol. *Scientia et Technica* 13(33): 125-128
- Adame, G. J. R. 2016. Potential Use of Mexican Oregano Essential Oil against Parasite, Fungal and Bacterial Pathogens. *TEOP* 19 (3): 553 – 567.
- Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). 2018. Guía sobre aceites esenciales en productos cosméticos. Comité para la Protección de la Salud de los Consumidores (CD-P-CS). Madrid, España.
- Agrios, G. N. 1988. Fitopatología. Editorial Limusa. México, DF. 755 p.
- Agrios, G. N. 2007. Fitopatología. Editorial Limusa. México, DF. 838 p.
- Agrios, G.N. 2005. Fitopatología. Limusa. Segunda edición, México DF. 273-279; 425-439.
- Agrios, GN. 1996. Fitopatología. 2. Ed. México, MX. Editorial Limusa S.A. 838 p.
- Albado Plaus, E.; Saez Flores, G. & Grabiél Ataucasi, S. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). *Rev. Med. Hered.*, 12(1):16-9, 2001.
- Albado, E., G. Saez y S. Grabiél. 2001. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). *Revista Médica Herediana* 12(1), 17-19.
- Aligiannis, N., E. Kalpoutzakis, S. Mitaku y I. Chinou. 2001. Composition and antimicrobial activity of essential oils of two *Origanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:4168-4170.
- Alpi, A. y F. Tognoni. 1991. Cultivo en invernadero. Editorial Edigrafos. España. 266 p.
- Antonopoulos, D. F., T. Melton y A. L. Mila. 2010. Effects of chemical control, cultivar resistance, and structure of cultivar root system on black shank incidence of tobacco. *Plant Disease* 94:613-620.
- Arcila, L. C., P. G. Lorcás, U. C. Lecona y E. González de Mejía. 2004. Orégano: Propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *ALAN*, 54(1): 100-111.
- Argueta, V. A., A. L. M. Cano y M., E., Rodarte. 1994. Atlas: Las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista. 1ª. Edición: V: II y III: 1073-1077.
- Ascencio, A. A., B. F. López, E. Borrego, H. S. A. Rodríguez, O. A. Flores y F., Jiménez. 2008. Marchitez del tomate. I: Presencia de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en Culiacán, Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*; 26(2): 114-120.
- Ascencio-Álvarez, A., A. López-Benítez, F. Borrego-Escalante, S. A. Rodríguez-Herrera, A. Flores-Olivas, F. Jiménez-Díaz y A. J. Gámez-Vázquez. 2008. Marchitez vascular del tomate: I. Presencia de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.). *Revista Mexicana de Fitopatología*. 26 (2):114-120.

- Bakkali, F., S. Averbeck, D. Averbeck y M. Idaomar. 2008. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46 (2): 446-475. DOI: 10.1016/j.fct.2007.09.106
- Bandoni, A. 2000. Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica. Su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. *Ciencia y Tecnología para el Desarrollo* p 13 – 42.
- Bandoni, A., D. Retta, P. M. Di Leo Lira y C., Baren. 2009. ¿Son realmente útiles los aceites esenciales?. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 8(5), 317-22.
- Barrera, L. L. y L. J., García. 2008. Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (*Carica papaya*). *Revista UDO Agrícola* 8 (1): 33-41.
- Bateman, G. L. y G. Murray. 2001. Seasonal variation in population of *Fusarium* species in wheat-field soil. *Applied Soil Ecology*. doi.org/10.1016/S0929-1393(01)00158-5
- Bateman, G. L. y G. Murray. 2001. Seasonal variation in population of *Fusarium* species in wheat-field soil. *Appl. Soil Ecol.* 18(2):117-128
- Bello, A. 1999. Estudios de aceites esenciales de especie Myrtaceae de la flora de Pinar del Río. Tesis de Maestría. Departamento de Ciencias Químicas. Universidad del rio. Rio, Brasil.
- Bernhoft, A., M. Torp, P. E. Clasen, A. K. Loes y A. B. Kristoffersen. 2012. Influence of agronomic and climatic factors on *Fusarium* infestation and mycotoxin contamination of cereals in Norway. *Food Additives y Contaminants*. doi: 10.1080/19440049.2012.672476
- Bernhoft, A., M. Torp, P. E. Clasen, A. K. Loes y A. B. Kristoffersen. 2012. Influence of agronomic and climatic factors on *Fusarium* infestation and mycotoxin contamination of cereals in Norway. *Food Additives y Contaminants*. 29(7):1129-1140.
- Bi, Y., H. Jiang, M. K. Hausbeck y J. J. Hao. 2012. Inhibitory effects of essential oils for controlling *Phytophthora capsici*. *Plant Disease* 96:797-803.
- Bicchi, C. y P. Sandra. 1987. *Capillary gas chromatography in essential oil analysis*, Huethig Verlag, Heidelberg. 435p.
- Blanco-Navarrete, J. L., B. C. Luengas-Jiménez y B. E. Bautista-Barrón. 2005. Enrizamiento estacional de semillas de orégano. Reunión nacional de investigación en recursos biológicos de zonas áridas. Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas. Universidad Autónoma de Chapingo. 4(2): 25-30 p.
- Brown, J. K. y J., Bird. 1992. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease*. DOI: 10.1094/PD-76-0220.
- Brown, J.K., J. C. Guerrero, M. Matheron, M. Olsen y M. A. Idris. 2007. Widespread outbreak of cucurbit yellow stunting disorder virus in melon, squash and watermelon crops in the Sonoran desert of Arizona and Sonora Mexico. *Plant Disease Note*. Doi.org/10.1094/PDIS-91-6-0773A

- Burt, S. A. 2007. Antibacterial activity of essential oils: potential applications in food. PhD thesis. Institute for Risk Assessment Sciences. Division of Veterinary Public Health. Utrecht University- Utrecht, Netherlands.
- Byrne, D. N. y T. S. Bellows. 1991. Whitefly biology. Annual Review of Entomology. Vol. (36) 431-457 p. doi:10.1146/annurev.en.36.010191.002243
- Camilo, D.D., A. M. Luz, J. R. Martínez y E., Stashenko. 2007. Estudio comparativo de la composición química de aceites esenciales de *Lippia alba* provenientes de diferentes regiones de Colombia, y efecto del tiempo de destilación sobre la composición del aceite. Scientia et Técnica 3: 435-438
- Carapia, R. V. E. y A. G. Castillo. 2013. Estudio comparativo sobre la morfología de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) y *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). Acta zoológica mexicana 29(1): 178-193-2448-844.
- Cardona, C. 1997. Resistencia varietal a insectos. Palmira (Impreso universitario). Universidad Nacional de Colombia. 86 p.
- Cardona, C., I. V. Rodríguez, J. M. Bueno y X. Tapia. 2005. Biología de la Mosca Blanca *Trialeurodes vaporariorum* en Habichuela y Frijol. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIA1); Department for International Development (DFID), 50. Publicación CIAT No. 345.
- Carhuapoma, M. 2006. Estudio de la composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray "arrayán". Tesis de maestría. Facultad de farmacia y bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- Castro, F. R., S. J. Sánchez y R. Jacinto-Soto. 2005. Determinación de la efectividad fungicida del aceite de orégano contra hongos que atacan granos de maíz almacenados. Revista Chapingo Serie Zonas Áridas 4(2): 103-108.
- Centeno-Briceño, S. e Y., Carrera-Jaspe 2013. Actividad antifúngica y antiaflatoxigénica de extractos de *Melissa officinalis* (LAMIACEAE) sobre *Aspergillus flavus* SABER. Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente. 25 (2): 185-191.
- Ceresini, P. 1999. *Rhizoctonia* spp. Pathogen Profile. Soilborne plant pathogens offerd on spring *R. solani* página: www.cals.ncsu.edu/course/pp720/Rhizoctonia.
- Ceresini, P., H. D. Shew, R. J. Vilgalys y M. A. Cubeta. 2002. Genetic Diversity of *Rhizoctonia solani* AG-3 from Potato and Tobacco in North Carolina. Mycologia. 94 (3): 437-449. DOI: 10.2307/3761778
- Cerutti, M. y F. Neumayer. 2004. Introducción a la obtención de aceite esencial de limón. INVENIO 7 (12): 149-155
- Cerutti, M. y F. Neumayer. 2004. Introducción a la obtención de aceite esencial de limón. Invenio. Universidad del Centro Educativo Latinoamericano 7(12): 149-155.
- Chatonnet F., Boudinot E., Chatonnet A., Taysse L., Daulon S., Champagnat J. y A. Foutz 2003. Respiratory survival mechanisms in acetylcholinesterase knockout mouse. European Journal of Neuroscience 18: 1419-1427. DOI: 10.1046/j.1460-9568.2003.02867.x

- Chet, I. y R., Baker. 1980. Induction of supressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopatology* 70: 994-998.
- Combariza, M., C. B. Tirado, E. Stashenko y T., Shibamoto. 2005. Limonene concentration in lemon (*Citrus volkameriana*) peel oil as a function of ripeness. *Journal of High Resolution Chromatography*. DOI: 10.1002/jhrc.1240170905
- Comité Nacional Sistema Producto – Oleaginosas. 2005. Ficha técnica de la mosquita blanca. Guías para productores. <http://www.oleaginosas.org>
- Corell G., M. 2009. Efecto del estrés hídrico en la fisiología, producción y calidad de los aceites esenciales en *Salvia officinalis* y *S. lavandulifolia* subsp. *Vellerea*. Tesis Doctoral. Departamento de Ciencias Agroforestales. Universidad de Sevilla.
- Corella-Bernal, R. A. y M. M. Ortega-Nieblas. 2010. Importancia del aceite esencial y la producción de orégano *Lippia palmeri* W. en el estado de Sonora. *Biotecnología*. (15):57-64.
- Corella-Bernal, R. A., M. M. Ortega-Nieblas, M. R. Robles-Burgueño, J. Borboa-Flores, y D. Mc Caughey-Espinoza. El cultivo de orégano *Lippia palmeri* Watson, en el estado de Sonora. 3era. Reunión nacional sobre el orégano, 22 al 24 de Agosto; Saltillo, Coah., México.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Review* (12): 564- 582
- Cubillo, D., G. Sanabria y L. Hilje. 1999. Evaluación de la repelencia y mortalidad causada por insecticidas comerciales y extractos vegetales sobre *Bemisia tabaci*. *Manejo Integrado de Plagas* 53: 65–72.
- Cuéllar, M. E. y F. J. Morales. 2006. La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) como plaga y vector de virus en fríjol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Colombiana de Entomología*. 32(1): 1.
- Cueto-Wong, M. C. 2010. Propiedades antifúngicas del aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia berlandieri*) contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Rev. Mex. Mic.* (31): 29-35.
- D'agostino, M., N. Tesse, J. P. Fripiat, M. Machouart y A., Debourgogne. 2019. Essential Oils and Their Natural Active Compounds Presenting Antifungal Properties. *Molecules*. 24(20): 3713.10. DOI: 10.3390/molecules24203713
- Daferera, J. D., N. B. Ziogas y G., M., Polissiou. 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. *Crop Protection*. 22(1):39-44. DOI: 10.1016/S0261-2194(2)00095-9
- Danjanović, B., Lepojević, Ž., Živković, V. y Tolić, A. 2005. Extraction of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds with supercritical CO₂: Comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry*. 92: 143-149.
- Daugovish, O., R. Smith, M. Cahn, S. Koike, H. Smith, J. Aguiar, C. Quiros, M. Cantwell y E. Takele. 2008. Celery production in California. The Regents Division of Agriculture and Natural Resources, University of California. 4 p.

- De Lucca, A. y T., Walsh. 1999. Antifungal peptides: novel therapeutic compounds against emerging pathogens, *Antimicrobial Agents Chemother.* 43(1): 1-11. DOI: 10.1128/aac.43.1.1
- Dean, R., J. A. L. Van Kan, Z. A. Pretorius, K. E. Hammond-Kosack, A. Di Pietro, P. D. Spanu y G. D. Foster. 2012. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology.* 13(4), 414–430. DOI:10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x
- Deighton, N., Glidewell S. M, Deans S. G. y B. A. Goodman 1993. Identification by EPR spectroscopy of Carvacrol and Thymol as the major sources of free radicals in the oxidation of plant essential oils, *J. Sci. Food Agric.*, 63(2): 221-225.
- Delgado, J. O., M. S. Sánchez y C. R. Bonilla. 2015. Efecto del secado y la edad de las plantas en la composición de los aceites esenciales de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. Britton y P. Wilson. *Lippia origanoides* Kunth. *Acta Agronmica.* 65 (2):170-175 DOI:10.15446/acag.v65n2.47576.
- Derwich E., Benziane Z. y A. Boukir. 2010. Chemical composition of leaf essential oil of *Juniperus phoeniceae* and evaluation of its antibacterial activity. *Internati. J. Agric. Biol.* 12:199-214.
- Dewick, P. M. 2002. *Medicinal natural products: A biosynthetic approach.* 2nd ed. College of Pharmacy Ferris State University. Chichester, United King.
- Díaz-Nájera, J. F., Sahagún-Castellanos, J., Ayvar-Serna, S., Vargas-Hernández M. y O. G., Alvarado-Gómez. 2020. Virus de la hoja rizada de calabaza (SLCV): diagnóstico, dinámica. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 11 (1): 83-95. DOI: 10.29312/remexca.v11i1.1754
- Ditzen, M., Pellegrino, M. Y L. B. Voss hall. 2008. Insect Odorant Receptors Are Molecular Targets of the Insect Repellent DEET. *SCIENCE.* 319 (5871): 1838-1842. DOI: 10.1126/science.1153121
- Duschatzky C., Possetto M. L., Talarico L. B., Garcia C. C., Michis F. y N. V. Almeida. 2005. Evaluation of chemical and antiviral properties of essential oils from South American plants. *Antiviral Chem Chemother;* 16: 247-251.
- El Khallal, S. M. 2007. Induction and modulation of resistance in tomato plants against *Fusarium* wilt disease by bioagent Fungi (Arbuscular Mycorrhiza) and/or hormonal elicitors (Jasmonic Acid & Salicylic Acid): 1- changes in growth, some metabolic activities and endogenous hormones related to defence mechanism. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 1 691-705.
- Farnsworth, N. R., O. Akerele, A. S. Bingel, D. D. Soejarto y Z. Guo. 1985. Medicinal plant in therapy. *Bull World Health Org.* 63(6): 965-981.
- Feo, V., G. Porta, E. Soria y U. F. Senatore. 1998. Composition of the essential oil of *Tagetes filifolia* Lag. *Flav. Frag. J.* 13 (3): 145-147.
- Ford, R. y T. Evans. 2003. Tobacco mosaic virus. *The Plant Health Instructor.* DOI: 10.1094/PHI-K-2003-0528-01.
- Gergerich, R. C. y V. V. Dolja. 2006. Introducción a los Virus Vegetales, el Enemigo Invisible. *The Plant Health Instructor.* DOI: 10.1094/PHI-I-2008-0122-01.

- Gergerich, R. C. y V. V., Dolja. 2006. Introducción a los Virus Vegetales, el Enemigo Invisible. Trans. Silvina L. Giammaría. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2008-0122-01
- Gisi, U. y H. Sierotzki. 2008. Molecular and genetic aspects of fungicide resistance in plant pathogens. *Modern Fungicides and Antifungal Compounds*. 5: 53-61.
- Gogoi, R., P. Baruah y S. C. Nath. 1997. Antifungal activity of the essential oil of *Litsea cubeba* Pers. *J. Essential Oils Res.* 9(2): 213-215. DOI: 10.1080/10412905.1997.9699462
- González Hernández, Dolores. 2002. Estado Actual de la Taxonomía de *Rhizoctonia solani* Kühn. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 20 (2): 200-205.
- González, M. C., H. K. Hernández y M. Martínez-Vázquez. 2007. Antioxidant activity of flavonoids from the stem of the Mexican Oregano (*Lippia graveolens* HBK var. *berlandieri* Schauer). *Revista Fitotecnia Mexicana*. 30 (1): 43-49.
- Gordon, T. R. y S. T. Koike. 2015. Management of Fusarium wilt of lettuce. *Crop Protection*. 73:45-49. DOI: 10.1016/j.cropro.2015.01.011.
- Gour, R. 2012. Isolation and characterization of Actinomycetes against *Macrophomina phaseolina* and *Rhizoctonia solani*. *Adv. J. Pharm. Sci.* 1(2):31-30.
- Guan, W., Li, S., Yan, R., Thang, S. y Quan. C. 2007. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chemistry*. 101:1558-1564.
- Güenther E. 1995. The essential oils vol I: History-Origins-Production-Analysis. New York, New York.
- Gutiérrez M. C. y M. Droguet, 2002. La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. *Boletín Intexter (U.P.C.)*. N° 122.
- Gutiérrez, C., A. Fereres, M. Reina, R. Cabrera y A., González. 1997. Behavioral and sublethal effects of structurally related lower terpenes on *Myzus persicae*. *Journal of Chemical Ecology*. 23(6): 1641-165. DOI: 10.1023/B:JOEC.0000006428.00568.c5
- Guzmán, S. P. 2004. Efecto Insecticida y Residual de tres extractos de *Limpia alba* para el control de *Acanthoscelides obtectus* en frijol Diacol Calima. *Revista Científica Guillermo de Ockam*. 7(1): 187-199.
- Harman, G. E., M. A. Obregón, G. J. Samuels y M. Lorito. 2010. Changing models for commercialization and implementation of biocontrol in the developing and the developed world. *Plant Disease* 94(8):928-939.
- Hernández-Espinal, L. A., Enríquez-Verdugo I., Melgoza-Villagómez C. M., Retes-Manjarrez J. E., Velarde-Félix S., Linares-Flores P. J. y J. A. Garzón-Tiznado. 2018. Análisis filogenético y distribución de Begomovirus en el cultivo del chile (*Capsicum annum* L.) en Sinaloa, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 41 (2): 149-157.
- Hickman, C.P., Roberts, L.S., Hickman, F.M. 1990. *Zoología. Principios integrales*. Interamericana McGraw-Hill, 1119 p.

- Hilje, L. 2003. Estatus del manejo de *Bemisia tabaci* en América Latina y el Caribe: ocho preguntas pertinentes. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*. 70:78-89
- Hilje, L., D. L. Cubillo, L. Segura, P. Hanson y P., Stansly. 2002. Manejo de *Bemisia tabaci* en América Central y el Caribe: la experiencia de un decenio. *Manejo integrado de plagas y Agroecología*, 65:102-108.
- Hori, M. 1998. Repellency of rosemary oil against *Myzus persicae* in a laboratory and in a greenhouse. *Journal of Chemical Ecology*. 24(9): 1425-1432.
- Huerta C. 1997. Orégano Mexicano: Oro vegetal. *Revista Ciencia y desarrollo* 33:30-37.
- Huerta-Hernández, A., 2012. Agricultura protegida (primera parte). *AgroEntorno*. <http://www.funprover.org/agroentorno/agosto012pdf/agriculturaprotegida.pdf>. Consultado en línea 2 octubre de 2017
- Idriss, M., N. Abdallah, N. Aref, G. Haridy y M. Madkour. 1997. Biotypes of the castor bean whitefly *Trialeurodes ricini* (Misra) (Hom., Aleyrodidae) in Egypt: biochemical characterization and efficiency of geminivirus transmission. *Journal of Applied Entomology*. 121: 501-509. DOI: 10.1111/j.1439-0418.1997.tb01440.x
- Isman M. B. 2000. Plant essential oils for pests and disease management. *Crop Protection*. 19. 603-608
- Khajeh, M., Yamini, Y., Sefidkon, F. y Bahramifar, N. 2004. Comparison of essential oil composition of *Carun copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction hydrodistillation methods. *Food Chemistry*. 86: 587-591.
- Khajeh, M., Yamini, Y., Sefidkon, F. y Primoradei, M. R. 2005. Comparison of essential oils composition of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*. 91: 639-644.
- Koksal, O., E. Gunes, O. Orkan y M. Ozden. 2010. Analysis of effective factor on information sources at Turkish oregano farms. *African J. Agric. Res.* 5:142-149.
- Kotila, J. E. 1947. *Rhizoctonia* foliage blight of sugar beets. *J. Agric. Res.* 74:289-314
- Krupa y Dommergues. 1981. *Ecology of root pathogens*; 2ª edición. Elsevier scientific publishing company. USA.
- Kuklinski, C. 2000. *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Ediciones omega S. A. Barcelona, España. 515 p.
- Lacy, M. L., R. D. Berger, Gilbertson R. L. y E. L Little. 1996. Current challenges in controlling diseases of celery. *Plant Disease* 80: 1084-1091.
- Lawrence, B.M. 1993. A planning scheme to evaluate new aromatic plants for the flavor and fragrance industries. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.), *New crops*. Wiley, New York,
- Lees, A. K., D. W. Cullen, L. Sullivan y M. J. Nicolson. 2002. Development of conventional and quantitative real-time PCR assays for the detection and identification of *Rhizoctonia solani* AG-3 in potato and soil. *Plant Pathology* 51:293-302. DOI: 10.1046/j.1365-3059.2002.00712.x

- Lees, A. K., D. W. Cullen, L. Sullivan y M. J. Nicolson. 2002. Development of conventional and quantitative real-time PCR assays for the detection and identification of *Rhizoctonia solani* AG-3 in potato and soil. *Plant Pathol.* 51: 293-302.
- Leng, P., Z. Zhang, G. Pan y M., Zhao. 2011. Applications and development trends in biopesticides. *African Journal of Biotechnology.* 10(86): 19864-19873.
- Lubbe, A. y R. Verpoorte. 2011. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Industrial Crops and Products*, 34(1): 785-801.
- Lubbe, A. y R. Verpoorte. 2011. Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants for Specialty Industrial Materials. *Industrial Crops and Products.* 34: 785-801. DOI: 10.1016/j.indcrop.2011.01.019
- Lugo-Melchor, O. Y., Guzmán-Uriarte, R., García Estrada, R. S. y J. León-Félix. 2011. Geminivirus transmitidos por mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en tomate, en el Valle Agrícola de Culiacán, Sinaloa. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 29 (2): 109-118.
- Ma, L. J., D. M. Geiser, R. H. Proctor, A. P. Rooney, K. O'Donnell, F. Trail y K. Kazan. 2013. *Fusarium* Pathogenomics. *Annual review of microbiology*, 67, 399–416.
- Madsen, H. y G. Bertelsen. 1995. Spices as antioxidants, *Trends in food science & technology*, 6(8), 271-277.
- Martínez, A. 2003. Aceites esenciales. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. http://www.medinformatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf
- Martínez-Romero, D., M. Serrano, G. Bailén, F. Guillén, P. J. Zapata, J. M. Valverde, S. Castillo, M. Fuentes y D. Valero. 2008. The use of a natural fungicide as an alternative to preharvest synthetic fungicide treatments to control lettuce deterioration during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology.* 47 (1), 54-60.
- Medina-Cervantes, T. S. 1996. La mosca blanca: (Homoptera:Aleyrodidae): de *Bemisia tabaci* (Gennadius), al biotipo “B”, y a la nueva especie *Bemisia argentifolii* Bellows y Perring. UABC. 56 pag.
- Meepagala, K. M., G. Sturtz y D. E. Wedge. 2002. Antifungal constituents of the essential oil fraction of *Artemisia dracuncululus* L. var. *dracuncululus*. *J. Agric. Food. Chem.* 50:6989-6992.
- Mendoza, Z. C. y C. B. Pinto. 1985. Principios de Fitopatología y Enfermedades Causadas por Hongos. Universidad Autónoma de Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola 310 pp.
- Mendoza, Z.C. y Pinto C.B. 1985. Principios de fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Edo. De México. 311 p.
- Mes, J. J., A. A. Van Door, J. Wijbrandi, G. Simons, B. J. C. Cornelisses y M. A Haring. 2000. Expression of the *Fusarium resistencer* gene 1-2 colocalizes with the site of fungal containment. *J. Plant* 23: 183-194.
- Mesa, A.C., J. G. Bueno y L. A. Betancur. 2004. Productos naturales con actividad antimicótica. *Revista española de quimioterapia.* 17, 325-331.

- Messiaen C. M. y D. Blancard. 1994. Enfermedades de las hortalizas. Tercera Edición. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 576 p.
- Mihalik, C.A., J. Gershenzo y R. Croteau. 1991. Lack of rapid monoterpene turnover in rooted plants, implication for theories of plant chemical defense. *Oecologia* 87:373-376.
- Morales, F. J. y P. K. Anderson. 2001. The emergence and dissemination of whitefly-transmitted Geminivirus in Latin America. *Arch. Virol.* 146:415-441.
- Mubin M. M., R. Hussain, W. Briddon y S. Mansoor. 2011. Selection of target sequences as well as sequence identity determine the outcome of RNAi approach for resistance against cotton leaf curl geminivirus complex. *Virology Journal.* 8(1):122.
- Muller-Riebau, F., B. Berger y O. Yegen. 1995. Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oil of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 43:2262-2266
- Muñoz, C., L. M. 2002. Plantas medicinales españolas *Origanum vulgare* L (Laminaceae) (OREGANO). *Acta Botanica Malacita.* 27: 273- 280
- Nava, A., P. Patte, E. Hiebert y J. Polston. 2006. Detection and Variability of begomoviruses in tomato from the Andean states of Venezuela. *Plant Dis.* 90: 61-66. DOI: 10.1094/PD-90-0061
- Normas Oficiales Mexicanas Fitosanitarias. NOM-020-FITO-1995. Norma oficial mexicana por la que se establece la campaña contra la mosquita blanca. *Diario Oficial de la Federación.*
- Oliveira, M. R. V., T. J., Henneberry y P. Anderson. 2001. History, current status, and collaborative research projects for *B. tabaci*. *Crop Protection* 20(9): 709-723. DOI: 10.1016/S0261-2194(01)00108-9
- Ortega-Nieblas, M. M., M. R. Robles-Burgueño, E. Acedo-Félix, A. González-León, A. Morales-Trejo y L. Vázquez-Moreno. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of oregano (*Lippia palmeri* S. Wats) essential oil. *Revista Fitotécnica Mexicana.* 34(1): 11-17.
- Osborn, A.E. 1999. Antimicrobial phytoprotectants and fungal pathogens: A commentary. *Fungal Genetic and Biology.* 26(3): 163-168. DOI: 10.1006/fgbi.1999.1133
- Paludosi, S. 1997. Oregano; Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 14. Proceedings of the IPCRI International Workshop on Oregano. CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy. 78-79 p.
- Park, M.J., K. S. Gwaka, K. W. Yang, E. B. Kim, J. W. Jeung, I. G. Chang y A. Choi. 2009. Effect of citral, eugenol, nerolidol and α -terpineol on the ultrastructural changes of Trichophyton mentagrophytes. *Fitoterapia.* 80(5): 290–296. DOI: 0.1016/j.fitote.2009.03.007.
- Parmeter, J. R. 1970. *Rhizoctonia solani*, Biology and Pathology. University of California Press, Berkeley, CA. 172-188 p.

- Pascual, M. E., K. Slowing, E. Carretero, D. Sánchez-Mata y A. Villar. 2001. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: A review. *J. Ethnopharmacol.* 76 (3): 201-214. DOI: 10.1016/S0378-8741(01)00234-3.
- Pascual, M., K. Slowing, E. Carretero, D. Sánchez-Mata y A. Villar. 2001. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: A review. *J. Ethnopharmacol.*: 76, 201-214.
- Peredo H., Palou E. y López A. 2009. Aceites esenciales: métodos de extracción. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos.* 3: 24-32
- Perring, T. M. 2001. The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Protection.* 20(9): 725-737. DOI: 10.1016/S0261-2194(01)00109-0.
- Pires da Silva, F., M. Vechiato y R. Harakava. 2014. EF-1 α gene and IGS rDNA sequencing of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* and *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* reveals polyphyletic origin of strains. *Tropical Plant Pathology* 39(1):064-073.
- Pitarokili, D., O. Tzakou, M. Couladis y E. Verykokidou. 1999. Composition and antifungal activity of the essential oil of *Salvia pomifera* subsp. *Calycina* growing wild in Greece. *Journal Essential Oil Research.* 11 (5): 655-659. DOI: 10.1080/10412905.1999.9701233.
- Pitzer, S. 1973. Growing & Using Oregano. Storey's Country Wisdom Bulletin A-157. 3 p.
- Pliego, C., C. Ramos, A. Vicente y F. M. Cazorla. 2011. Screening for candidate bacterial biocontrol agents against soilborne fungal plant pathogens. *Plant and Soil.* 340:505-520.
- Pogue, G. P., J. A. Lindbo, S. J. Garger y W. P. Fitzmaurice. 2002. Making an ally from an enemy: plant virology and the new agriculture. *Annual Review of Phytopathology* 40: 45-74. DOI: 10.1146/annurev.phyto.40.021102.150133.
- Polston J. E. y P. K. Anderson. 1997. The emergence of whitefly-transmitted Geminiviruses in tomato in the Western Hemisphere. *Plant Dis.* 81(12): 1358-1369. DOI: 10.1094/PDIS.1997.81.12.1358
- Polston, J. E. y Anderson, P. K. 1997. The emergence of whitefly-transmitted geminivirus in tomato in the western hemisphere. *Plant Disease.* 81 (12): 1358-1369. DOI: 10.1094/PDIS.1997.81.12.1358.
- Qazi, J., Ilyas M., Mansoor S. y R. W. Briddon. 2007. Legume yellow mosaic viruses: genetically isolated begomoviruses. *Molecular Plant Pathology.* 8(4): 343-348.
- Radudiene, J., A. Judpintiene, D. Peiulyte y V. Janulis. 2005. Chemical composition of essential oil and antimicrobial activity of *Origanum vulgare*. *BIOLOGIJA.* 4: 53-58.
- Ramakrishna, A. y G. Aswathanarayana. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plants Signaling y Behavior,* 6 (11): 1720-1731. DOI: 10.4161/psb.6.11.17613
- Ramírez, V. J. 1975. Pruebas de patogenicidad de los organismos aislados de raíz de garbanzo *Cicerarietinum*, en el Valle de Culiacán. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa.
- Reveles-Torres, L. R., J. Mena-Covarrubias, S. Salas-Muñoz, M. Martínez-Fernández y J. A. Mauricio-Castillo. 2019. Diagnóstico e identificación de Begomovirus en el cultivo de Chile

- en los estados de Zacatecas y Durango. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). México, D.F.
- Reza, F. N., G. S. Cromey y J. A. Moosawi. 2007. Determination of the anastomosis grouping and virulence of *Rhizoctonia* spp. Associated with potato tubers grown in Lincoln, New Zealand. *Pak. J. Biol. Sci.* 10 (21): 3786-3793. DOI: 10.3923/pjbs.2007.3786.3793
- Rivera, J. M. N. 2009. Marchitez del chile poblano (*Capsicum annuum* L.): identificación molecular del agente causal, detección en semillas, histopatología y alternativas de control. Tesis doctoral. Colegio de Postgraduados, Texcoco, México. 98 p.
- Rodríguez, D. A. y J. O. Montilla. 2002. Disminución de la marchitez causada por *Fusarium* en tomate con extracto de *Citrus paradisi*. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*.63:46-50.
- Rodríguez-Castro, A., S. Torres-Herrera, A. Domínguez-Calleros, A. Romero-García y M. Silva-Flores. 2020. Extractos vegetales para el control de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*, una alternativa sostenible para la agricultura. *Abanico Agroforestal*. ISSN 2594-1992 a
- Rojas M. R., Hagen C., Lucas W. J. y R. L. Gilbertson. 2005. Exploiting chinks in the plant's armor: evolution and emergence of geminiviruses. *Ann. Rev. Phytopathol.* 43: 361–394. DOI: 10.1146/annurev.phyto.43.040204.135939.
- Romero, C. S. 1988. Hongos Fitopatógenos Universidad Autónoma de Chapingo. 347 p.
- Rzedowski, J. y G. Rzedowski C. de, 2002. Verbenaceae. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Instituto de Ecología-Centro Regional del Bajío. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.
- SAGARPA, 2012. Plan rector sistema nacional producto melón. Documento validado por el comité sistema producto melón en sesión de marzo, Torreón, Coahuila. www.sagarpa.gob.mx
- Salgueiro, L. M., A. Cavaleiro y C. Goncalves. 2003. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. *Planta Médica* 69:80-83.
- Scholthof, K-B.G. 2000. Tobacco mosaic. *The Plant Health Instructor*. DOI:10.1094/PHI-I-2000-1010-01.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020. Blog: Calabazas, una dulce tradición. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/calabazas-una-dulce-tradicion>
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Recursos Hidráulicos, Pesca y Acuicultura (SAGARHPA), 2018. Producción de calabaza. www.sagarpa.gob.mx
- Seenivasan, P., J. Manickkam e I. Savarimuthu. 2006 In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *The official journal of the International Society for Complementary Medicine Research*. Doi:10.1186/1472-6882-6-39
- Serrato C., M. A. 2003. Aspectos del cultivo de dos especies de *Tagetes* productoras de aceites esenciales. *Rev. Naturaleza y Desarrollo* 1 (1): 15–22.

- Serrato C., M. A., B. Reyes, L. Ortega, L. Domingo, N. Gómez, M. A. López, M. A. Sánchez, L. Carvajal, O. Jiménez, A. Morgado, E. Pérez, J. Quiroz y C. I. Vallejo. 2003. Anisillo (*Tagetes filifolia* Lag.): recurso genético mexicano para controlar mosquita blanca (*Bemisia* sp. y *Trialeurodes* sp.). *Revista del Jardín Botánico Nacional*. 24 (1–2): 67–70.
- Serrato–Cruz., M. A., F. Díaz–Cedillo y J. S. Barajas–Pérez. 2005. Seasonal influence on phenology and essential oil content of *Tagetes filifolia* Lag. *Annalen der Meteorologie*. 41 (1): 82–85.
- Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA). Introducción a la industria de los aceites esenciales de las plantas medicinales y aromáticas. Sistema de Bibliotecas SENA. www.repositorio.sena.edu.co/sitios/introduccion_industria_aceites_esenciales_plantas_medicinales_aromaticas/#
- Shaaya, E. y A. Rafaeli. 2007. Essential Oils as Biorational Insecticides–Potency and Mode of Action. In: Ishaaya, I., Horowitz, A.R., Nauen, R. (eds) *Insecticides Design Using Advanced Technologies*. Springer, Berlin, Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-540-46907-0_11
- Shaaya, E. y A. Rafaeli. 2007. Essential oils as biorational insecticides-potency and mode of action. *Insecticides Design Using Advanced Technologies*. 13: 249-261. DOI: 10.1007/978-3-540-46907-0_11
- Shreaz, S., R. A. Shiekh, V. Raja, W. A. Wani y J., M., Behbehani. 2016. Impaired ergosterol biosynthesis mediated fungicidal activity of Co(II) complex with ligand derived from cinnamaldehyde. *Chem. Biol. Interact.* 5 (247): 64–74. DOI: 10.1016/j.cbi.2016.01.015
- Silva, H. V., S. P. Fernández, C. Góngora, B. C. Macías y G. D. Ávila 2009. Distribución espacio temporal de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.) en Chihuahua e identificación del agente causal *Phytophthora capsici* Leo. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 27(2):134-147.
- Singh, A., D. K. Singh, T. N., Mishra y R. A., Agarwal. 1996. Molluscicides of plant origin. *Biological Agriculture and Horticulture*. 13(3): 205–252.
- Siramon, P., Y. Ohtani y H. Ichiura. 2013. Chemical composition and antifungal property of *Eucalyptus camaldulensis* leaf oils from Thailand. *Records of Natural Products*. 7 (1): 49–53.
- Sneh, B., L. Burpe y A. Ogoshi. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. APS Press. The American Phytopathological Society. St. Paul. Minnesota. USA. 133 p.
- Stanley, J., M. Boulton y W. Davies. 2001. Geminiviridae. *Encyclop. Of Life Sc. Nat*, Publishing Group / www.els.net
- Stashenko, E. E. 2009. Aceites esenciales. UIS-CENIVAM. Bucaramanga, Colombia. 180 p.
- Stashenko, E., J. R. Martínez, C. A. Ruíz, G. Arias, C. Duran, W. Salgar y M. Calar. 2010. *Lippia origanoides* chemotype differentiation based on essential oil GCMS and principal component analysis. *J. Sep. Sci.* 33(1): 93–103. DOI: 10.1002/jssc.200900452.

- Stashenko, H., D. Villa y M. Y. Combariza. 1995. Study of Compositional Variation in Colombian Rue Oil (*Ruta graveolens*) by HRGC using different Detection Systems. *Journal of Microcolumn Separation*. 7(2): 117.
- Taylor, C.B. 1998. Defense responses in plants and animals-more of the same. *Plant cell*. 10(6): 873-876. DOI: 10.1105/tpc.10.6.873
- Tuzun, S. y O. Yegen. 2000. *Essential Oils as Pesticides*. PCT Int. Appl. New Jersey, USA. 89 p.
- Vági, E., Simándi, B. Suhajda, Á. y Héthelyi, É. 2005. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Oranigum majorana* L. extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. *Food Research International*. 38:51-57.
- Van Regenmortel, M. H. V. 2003. Viruses are real, virus species are manmade, taxonomic constructions. *Arch Virol*. 148(12): 2481–2488. DOI:10.1007/s00705-003-0246-y
- Velásquez, V. R. y L. F. Victoriano. 2007. Presencia de patógenos en almácigos y semilla de chile (*Capsicum annum* L.) en Aguascalientes y Zacatecas, México. *Rev. Mex. Fitopatol*. 25:75-79
- Vepoorte, R. 1998. Exploration of nature's chemodiversity: the role of secondary metabolites as leads in drug development. *Drug discov today*. 3(5): 232-238. DOI: 10.1016/S1359-6446(97)01167-7
- Vila, R., J. Iglesias, S. Canigueral y J. F. Ciccio. 2000. Essential oil of *Tagetes filifolia* from Costa Rica. *Ing. Ciencia Quím*. 19 (1): 13–14.
- Walker, C. J. 1973. *Patología Vegetal*. Editorial Omega. 818 p.
- Walkey, D. 1991. *Applied Plant Virology*. 2nd edition. Chapman and Hall, London.
- Wangkhem, B., M. Rana y K. Jackson. 2019. Exploring the control measures of white rust-organic amendments, botanicals, biocontrol agents and chemicals. *J. Pharmacogn. Phytochem*. 8(3): 4413-4419.
- Wilson, C. L., J. M. Solar, A. El Ghaouth y M. E. Wisniewski. 1997. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease* 81:204-210. DOI: 10.1094/PDIS.1997.81.2.204
- Wogiatzi, E., N. Gougoulis, A. Papachatzis, I. Vagelas y N. Chouliaras. 2009. Chemical Composition and Antimicrobial Effects of Greek *Origanum* Species Essential Oil. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 23(3): 1322-1324. DOI: 10.1080/13102818.2009.10817662
- Xuang N. y Dinh .2005. Extraction and distillation of essential oils. *Processing, Analysis and Application of Essential Oils*. Leopold Jirovetz and Buchbauer Editors. Har Krishan y Sons, Dehradun, India.
- Yadeta, K. A. y B. P. H. J. Thomma. 2013. The xylem as battleground for plant hosts and vascular wilt pathogens. *Front Plant Sci*. DOI: 10.3389/fpls.2013.00097

- Yamini, Y., Khajeh, M., Gasemi, E., Mirza, M. y Javidnia, K. 2008. Comparison of essential oil composition of *salvia mirzayanii* obtained by supercritical carbon dioxide extraction hydrodistillation methods. *Food Chemistry*. 108: 341-346.
- Zaitlin, M. 1998. The discovery of the causal agent of tobacco mosaic disease. *Discoveries in Plant Biology*. 105-110. DOI:10.1142/9789812817563_0007
- Zygadlo J., A., A. L. Lamarque, D. M. Maestri, C. A. Guzmán y N. R. Grosso. 1993. Composition of the inflorescence oils of some *Tagetes* species from Argentina. *J. Essential Oil Res.* 5 (6): 679–682.

IX. APÉNDICES

Apéndice A

Objetivos planteados inicialmente en el proyecto de tesis:

- I. Evaluar la actividad antifúngica del aceite esencial y extracto acuoso de orégano cultivado (*Lippia palmeri* W.) sobre los hongos patógenos (*Thenatephorus* sp. y *Fusarium oxisporum* Schltd).
- II. Estimar la actividad de repelencia del aceite esencial y extracto acuoso de orégano cultivado (*Lippia palmeri* W.) sobre mosquita blanca (*B.tabaci* G.).
- III. Analizar actividad antiviral del aceite esencial y extracto acuoso de orégano cultivado (*Lippia palmeri* W.) sobre virus del enrollamiento de la calabaza.
- IV. Identificar el virus del enrollamiento de la calabaza.

Los objetivos III y IV planteados inicialmente en el proyecto de tesis tuvieron que modificarse por causas externas, el experimental se vio afectado por la pandemia generada por el COVID-19. De los objetivos planteados inicialmente en el proyecto de tesis, se cumplió completamente el objetivo I y II. A pesar de los inconvenientes con los objetivos planteados inicialmente, durante el transcurso de la maestría se obtuvieron resultados que no se contemplaron en el proyecto de tesis inicial (identificación molecular del hongo *Thenatephorus* sp.).