

EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO DE TABACO (*NICOTIANA TABACUM*), APLICADO A *PHYTOPHTHORA PALMIVORA* BAJO CONDICIONES IN VITRO

BIOCIDAL EFFECT OF TOBACCO (*NICOTIANA TABACUM*) EXTRACT APPLIED TO *PHYTOPHTHORA PALMIVORA* UNDER IN VITRO CONDITIONS

Christian Chicaiza¹, Heidy Llore², Xavier Carrera³, Bernardo Castro⁴, Andrea Rivera⁵.

{christian.chicaiza3604@utc.edu.ec¹, heidy.llore4712@utc.edu.ec², washington.carrera3625@utc.edu.ec³, bernardo.castro@3acomposites.com⁴, evelyn.rivera6209@utc.edu.ec⁵}

Fecha de recepción: 20/01/2025 / Fecha de aceptación: 24/01/2025 / Fecha de publicación: 03/03/2025

RESUMEN: La *Phytophthora palmivora* es un oomiceto hemiotrófico que afecta plantaciones de Balsa (*Ochroma pyramidale*), el control de esta enfermedad se la realiza con la aplicación de cal en el área afectada o con la eliminación de los árboles que tienen avanzados rasgos de infección. El objetivo de esta investigación es evaluar los efectos del extracto etanólico de tabaco (*Nicotiana tabacum*) sobre el crecimiento micelial y la movilidad de zoosporas a nivel in vitro. Para ello se emplearon metodologías cualitativas y cuantitativas, aplicando cuatro tratamientos con diferentes concentraciones del extracto etanólico de tabaco, donde se analizó las propiedades fisicoquímicas del material precursor, cambios macroscópicos y microscópicos de *P. palmivora*; los datos obtenidos se analizaron utilizando InfoStat versión 2020 mediante ANOVA con un nivel de confianza del 95%. Los resultados reflejaron que el tratamiento N1C3E1 presentó disminución de micelio en comparación al resto de tratamientos, además de una reducción significativa en el crecimiento radial en el transcurso de 11 días de evaluación, inhibiendo un 11,44% de su crecimiento. El plaqueo de los tratamientos abordo que N1C3E1 obtuvo un valor de 5 en la producción de clamidosporas. En cuanto al efecto del extracto en las zoosporas a las 32 horas del estudio, demostró que N1C3E1 posee una leve movilidad, mientras que el resto de los tratamientos presentaron una

¹Estudiante investigador, Universidad Técnica de Cotopaxi, La Maná-Ecuador, <https://orcid.org/0000-0001-8382-2883>; +593 99 988 3558.

²Estudiante investigador, Universidad Técnica de Cotopaxi, La Maná-Ecuador, <https://orcid.org/0000-0002-3059-7886>; +593 99 9688 504.

³Docente Tutor de la carrera de Agroindustria, Universidad Técnica de Cotopaxi, La Maná-Ecuador, <https://orcid.org/0000-0002-9237-7563>; +593 99 595 5402.

⁴Investigador del área de Tecnología y Desarrollo Silvícola, Plantaciones de Balsa PLANTABAL S.A, Quevedo-Ecuador, <https://orcid.org/0000-0002-1829-6052>; +593 98 865 4888.

⁵Docente Tutor de la carrera de Agroindustria, Universidad Técnica de Cotopaxi, La Maná-Ecuador, <https://orcid.org/0000-0002-5580-8467>.

actividad moderada. Por lo tanto, se concluye que el tratamiento con la mayor concentración afecta el desarrollo y aspecto morfológico de la colonia de *P. palmivora*, debido a la presencia de nicotina en los medios de cultivo modificados.

Palabras Clave: *Inhibir, micelio, clamidosporas, zoosporas, nicotina, morfológico*

ABSTRACT: *Phytophthora palmivora* is a hemiotrophic oomycete that affects plantations of Balsa (*Ochroma pyramidale*), the control of this disease is carried out with the application of lime in the affected area or with the elimination of the trees that have advanced infection traits. The objective of this research is to evaluate the effects of ethanolic extract of tobacco (*Nicotiana tabacum*) on mycelial growth and zoospore mobility at the in vitro level. For this purpose, qualitative and quantitative methodologies were used, applying four treatments with different concentrations of tobacco ethanolic extract, where the physicochemical properties of the precursor material, macroscopic and microscopic changes of *P. palmivora* were analyzed; the data obtained were analyzed using InfoStat version 2020 by means of ANOVA with a confidence level of 95%. The results showed that treatment N1C3E1 presented a decrease in mycelium compared to the rest of the treatments, in addition to a significant reduction in radial growth over the course of 11 days of evaluation, inhibiting 11.44% of its growth. The plating of the treatments showed that N1C3E1 obtained a value of 5 in the production of chlamydo spores. As for the effect of the extract on zoospores at 32 hours of the study, it showed that N1C3E1 has a slight mobility, while the rest of the treatments presented a moderate activity. Therefore, it is concluded that the treatment with the highest concentration affects the development and morphological aspect of the colony of *P. palmivora*, due to the presence of nicotine in the modified culture media.

Keywords: *Inhibit, mycelium, chlamydo spores, zoospores, nicotine, morphological*

INTRODUCCIÓN

Esta investigación propone una solución innovadora para el control de *P. palmivora* in vitro, mediante la aplicación del extracto etanólico de tabaco obtenido a partir de residuos como "hojas no conformes".

A nivel mundial la balsa (*Ochroma piramidal*) es conocida por su resistencia, ligereza y estabilidad; estos árboles de la fauna nativa tropical Americana pueden llegar a medir 20 m de altura y 75 cm de diámetro en un periodo de tiempo de 5-8 años (1), donde la mayor parte de madera de balsa comercializada es obtenida de Ecuador, ya que cuenta con las condiciones climáticas ideales para la plantación y producción de balsa, este cultivo ocupa alrededor de 17-30 metros cúbicos por hectárea al año (2). La balsa al ser una de las maderas más ligeras (3) es apreciada en la industria e ingeniería como material básico para la fabricación de turbinas eólicas e incluso puentes para vehículos.

Sin embargo, el cultivo de balsa se ve afectado por *P. palmivora*, también conocida como pata roja, esta se caracteriza por la decoloración rojiza en el tronco, ramas y raíces de la planta, los árboles afectados presentan debilidad (hojas amarillentas, caída prematura y marchitamiento de estas) (4). La infección por *P. palmivora* se debe al contacto o salpicadura del agua por acción de la lluvia, donde los esporangios caducos o las zoosporas móviles se adhieren a la superficie de la planta iniciando así el ciclo de infección (5).

Frente a esta problemática los extractos derivados de plantas surgen como una alternativa prometedora para el manejo integrado de plagas y enfermedades (MIPE), pues son sencillos de preparar, aplicar y exhiben una baja toxicidad en los animales en comparación a los plaguicidas convencionales (6), pues tienen un impacto negativo en los agroecosistemas y salud pública, dando crédito al desarrollo de productos derivados de plantas para el control ecológico (7).

En más de 124 países se cultiva tabaco, siendo el cultivo no alimentario más grande, ocupando 3.2 millones de hectáreas de suelo fértil, donde Brasil, China y la India representan más del 55% de la producción mundial de tabaco (8), donde la industria tabacalera desempeña un papel importante en el mercado (9) que a su vez genera gran volumen de residuos como subproducto (10), los desechos en su mayoría son hojas no conformes y la picadura descartada de la plantación y producción, generando una grave contaminación ambiental (11), más del 20 % representa la materia desechada, estos no se pueden eliminar por métodos convencionales (12) debido a su alto contenido de nicotina y carbono orgánico total; siendo a su vez un gran desperdicio de compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antifúngicas.

El tabaco o *Nicotiana tabacum*, puede alcanzar una altura entre 1 y 3 metros (13), previas investigaciones han demostrado el potencial de esta especie para el desarrollo de biocidas (14), siendo así una planta ideal para el análisis biológico (15)

Los biocidas son sustancias de origen natural elaboradas a partir de extractos vegetales, los cuales pueden llegar a tener características insecticidas, fungicidas; siendo aprovechados en el manejo integral de plagas y enfermedades. Los extractos de *Nicotiana tabacum* presentan altas concentraciones de alcaloides (16), siendo efectivos sobre el control de plagas, debido a su contenido en nicotina y otras sustancias como: ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides y terpenoides (17), es por ello que el objetivo de la presente investigación se enfoca en evaluar las causas-consecuencias del extracto aplicado en el crecimiento micelial y la actividad de zoosporas de *P.palmivora*, buscando neutralizar, reducir o impedir el desarrollo de este microorganismo no deseado (18).

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación de carácter experimental, con metodología cuantitativa y cualitativa muestra la mezcla coloidal entre el extracto etanólico de tabaco y el medio V8, formulando diferentes concentraciones, con la finalidad de evaluar el efecto que tiene sobre el cultivo de *P. palmivora*. Para ello se empleó técnicas y protocolos que se detallan a continuación:

Preparación del extracto etanólico de tabaco

Se recolectaron residuos de *Nicotiana tabacum* hojas no conformes “picadas por insectos, daño mecánico, quebradas por cambios de temperatura repentinos” del bloque experimental la playita del departamento de Agronomía de la Universidad Técnica de Cotopaxi Extensión la mana (UTC Extensión La Maná, Ecuador, 0°56'49.0"S, 79°14'12.1"W).

La preparación del extracto se basó en la metodología detallada por Fragoso et al. (6), donde el material vegetal fue enjuagado con agua destilada estéril, para luego colocarlo en un horno de convección mecánica (o aire forzado) a 60° C durante 72 h. Inmediatamente, el material seco se redujo a polvo usando un molino.

Se remojaron aproximadamente 100 g del polvo vegetal en un recipiente ámbar cerrado en conjunto con etanol al 96 %, para macerar el material durante 7 días, agitándolo de vez en cuando. La solución se filtró con un tamiz de 0,1 mm para estandarizar las partículas. Finalmente, la sustancia obtenida fue concentrada en un evaporador rotatorio a 50 °C y 55 rpm hasta su desecamiento, la muestra obtenida se almaceno a una temperatura de 4 °C.

Análisis fisicoquímico

Los análisis realizados a la muestra vegetal fueron: la humedad presente en la muestra usando la termobalanza y siguiendo la metodología mencionada en la NMX-F-428-1982 (19); las cenizas presentes en la muestra se obtuvieron mediante el procedimiento de la AOAC 923.03 (20) ; mientras que para el extracto etanólico de *Nicotiana tabacum* se consideraron los siguientes parámetros: el pH de la muestra, el cual se midió empleando el método de la AOAC Official Method 981.12 pH of Acidified Foods (21) . En el contenido de alcaloides, se determinó la nicotina por medio del espectrofotómetro BIOBASE BK-S360 con una de onda de 508 nm, siguiendo el método presentado por Veda et al. (22) , donde se ocupó una solución madre estándar de nicotina preparada con metanol y agua destilada. Se preparó ocho soluciones estándar de nicotina mediante dilución de una solución de nicotina concentrada (1000 mg/L) utilizando una concentración en el rango 0,2 – 1,6 mg/L.

Patógeno

Se utilizaron aislados de *P. palmivora* de la colección del Laboratorio de investigación del área de MIPE de la empresa Plantabal. Los aislados se trasladaron a cajas Petri con contenido de jugo V8 y se mantuvieron en una cámara de flujo laminar durante 2 semanas.

Efecto biocida del extracto sobre el crecimiento micelial de *P. palmivora*

P. palmivora se cultivó en V8 (163 ml de jugo V8, 1,63 g de CaCO₃, 12,0 g de bactoagar) en cajas Petri de 9 cm durante dos semanas, los tapones (7mm de diámetro) se tomaron de la colonia en crecimiento activo, colocándolas en la zona central de la caja con ±10 ml de V8, modificado con el extracto de prueba en diferentes concentraciones (ppm). Se agregaron las diferentes

EFFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO DE TABACO (*NICOTIANA TABACUM*), APLICADO A *PHYTOPHTHORA PALMIVORA* BAJO CONDICIONES IN VITRO

concentraciones al medio V8, incluyendo un conjunto de cajas con V8 sin el extracto de tabaco como control, como se detalla en la Tabla 1.

Tabla 1. Concentraciones para preparar los medios de cultivo.

CONCENTRACIONES				
	0 ppm	4000 ppm	6000 ppm	8000 ppm
Medio de cultivo V8	250 ml	250 ml	250 ml	250 ml
Extracto vegetal <i>Nicotiana tabacum</i>	0 mg	1000 mg	1500 mg	2000 mg

Las placas se colocaron en la cámara de flujo, este ensayo incluyó cuatro tratamientos más el testigo, donde cada uno tuvo tres replicas con cinco cajas, teniendo así un total de 60 cajas Petri. Las cajas se incubaron a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por 11 días. Posteriormente se midió el diámetro de crecimiento radial en dos direcciones perpendiculares y se promediaron. El porcentaje de inhibición del crecimiento para cada concentración del extracto se calculó mediante la ecuación (1) y (2):

$$\% \text{ de Crecimiento} = \frac{\text{Diámetro del crecimiento del hongo en el extracto (cm)}}{\text{Diámetro del control negativo (cm)}} \times 100 \quad (1)$$

$$\% \text{ de Inhibición} = 100 - \% \text{ de crecimiento} \quad (2)$$

Efecto del extracto de tabaco sobre la germinación de las zoosporas

El efecto biocida del extracto sobre la germinación de las zoosporas se realizó utilizando el método presentado por Elliott et al. (23), donde la producción de esporangios se inició partiendo del micelio de dos semanas cultivado en cajas Petri con V8 (163 ml de jugo V8, 1,63 g de CaCO_3 , 12,0 g de bactoagar). Para inducir la liberación de las zoosporas se colocó 10 ml de agua estéril a las cajas con los esporangios, durante un periodo de tiempo de 2 horas a una temperatura de 4°C . Luego de la liberación de las zoosporas, el inóculo obtenido se vertió en un vaso precipitado de 500 ml, donde se pipeteo 10 ml de cada tratamiento (4000 ppm, 6000 ppm, 8000 ppm y el testigo) más 5 ml del inóculo en cajas Petri, cada tratamiento tuvo dos replicas con cinco cajas, teniendo así un total de 40 cajas.

Análisis estadístico

Se evaluó el efecto del extracto etanólico de tabaco en concentraciones de 4000 ppm, 6000 ppm y 8000 ppm. Los datos del crecimiento micelial y producción de clamidosporas de *P. palmivora* se tabularon mediante el programa InfoStat versión 2020, determinando de esta

manera si los tratamientos tuvieron diferencias significativas mediante prueba de Tukey con intervalos de confianza del 95% y un análisis de varianza (ANOVA).

RESULTADOS

Caracterización fisicoquímica del material vegetal *Nicotiana tabacum*

Los resultados de las características fisicoquímicas de las hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) abordaron porcentajes de humedad del 13,57%, cenizas con un resultado del 13,86% indicando así la presencia de minerales y compuesto inorgánicos; el valor del pH fue de 3,93 siendo este un indicativo de acidez, tal y como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Características fisicoquímicas del material precursor.

Material vegetal	Humedad (%)	Cenizas (%)	pH
<i>Nicotiana tabacum</i>	13,57	13,86	3,93

Contenido de nicotina presente en el extracto de tabaco

El extracto de tabaco presento un contenido de nicotina del 3,19%, dicho valor de este alcaloide se ve reflejado en la Tabla 3.

Tabla 3. Contenido de nicotina presente en el material precursor.

Parte de la planta	Longitud de onda (nm)	Contenido De Nicotina	Técnica De Determinación
Hojas de tabaco "Picadas por insectos y quebradas por cambios de temperatura repentinos"	508 nm	3,19%	Espectrofotómetro UV/VIS BIOBASE BK-S360

Efecto del extracto etanólico de tabaco sobre el crecimiento micelial de *P. palmivora*

El crecimiento de la colonia de *P. palmivora* se refleja en la Tabla 4, donde T0, y N1C1E1 no son significativamente diferentes entre ellas, por otro lado, N1C1E1 y N1C2E2 presentan valores dentro del mismo rango, el tratamiento N1C3E1 muestra una reducción significativa en el crecimiento radial en el transcurso de 11 días de evaluación, siendo significativamente diferente en comparación al resto tratamientos y el testigo.

Tabla 4. Tasa de crecimiento (cm/día) de *P. palmivora* en el testigo y los tres tratamientos con V8 más el extracto etanólico de *Nicotiana tabacum*.

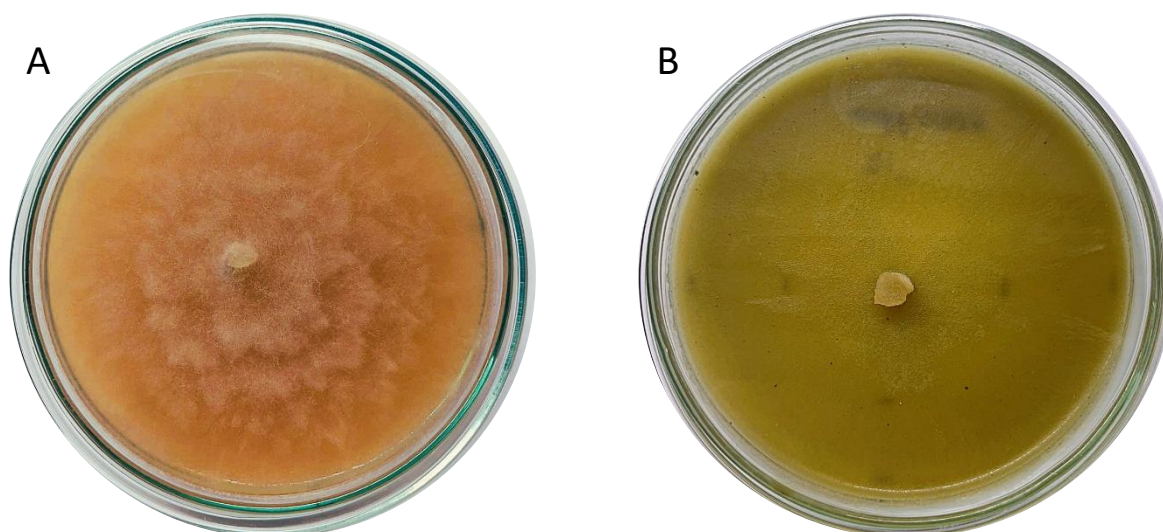
Tratamiento	Crecimiento radial	Crecimiento radial	Crecimiento radial	Crecimiento radial
-------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------

EFFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO DE TABACO (*NICOTIANA TABACUM*), APLICADO A *PHYTOPHTHORA PALMIVORA* BAJO CONDICIONES IN VITRO

	(cm) a los 3 días	(cm) a los 4 días	(cm) a los 10 días	(cm) a los 11 días
T0	3,50 ^a	4,77 ^a	8,80 ^a	9,00 ^a
N1C1E1	3,48 ^a	4,95 ^a	8,77 ^a	8,77 ^{a,b}
N1C2E1	2,89 ^b	4,22 ^b	8,58 ^b	8,58 ^b
N1C3E1	2,62 ^b	3,72 ^b	7,34 ^b	7,97 ^c

Nota: N 1: representa el extracto vegetal (*Nicotiana tabacum*); T0: es el testigo; C: es la concentración a la que se encuentra el medio de cultivo más el extracto etanólico de tabaco (C1: 4000 ppm; C2: 6000 ppm; C3: 8000 ppm); E 1: es la enfermedad involucrada en el estudio (*P. palmivora*); Valores con la misma letra no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Las colonias de *P. palmivora* aislada de Balsa (*Ochroma pyramidale*) presentaron las siguientes características macroscópicas, la expansión de la colonia en la caja Petri solo con el medio de cultivo sin modificación fue de tipo petaloide y rastrera, donde el micelio presento un tono blanco (Figura 1A). El tratamiento N1C1E1 presento una tonalidad verde con presencia de micelio similar al testigo (Figura 1B); el siguiente tratamiento presento un tono verde kiwi que a sus vez mostro una baja presencia de micelio en comparación a N1C1E1 y T0 (Figura 1C), mientras que la coloración verde oliva en el tratamiento N1C3E1 presentó disminución de micelio en comparación al resto de tratamientos (Figura 1D). En cada medio de cultivo modificado con el extracto de tabaco la morfología del crecimiento de la colonia de *P. palmivora* resultó de forma estrellada.



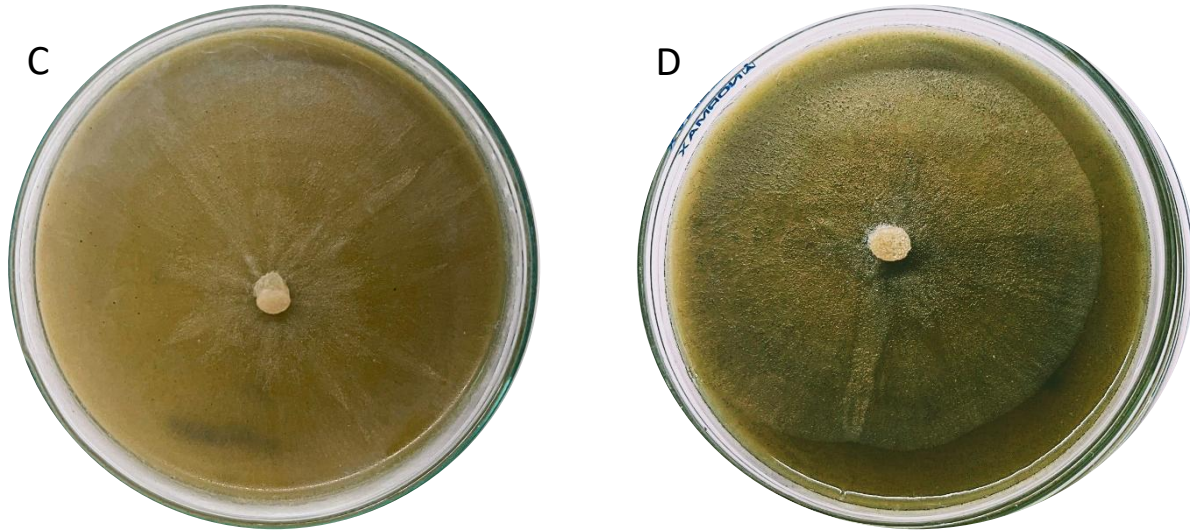


Figura 1. Efecto del extracto etanólico de tabaco sobre el crecimiento de la colonia en medio de cultivo V8 modificado. Testigo (A); Tratamientos N1C1E1 (B); N1C2E1 (C) y N1C3E1 (D).

Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *P. palmivora*

En la Figura 2 se observa la acción inhibitoria de cada tratamiento, donde solo un tratamiento resulto estadísticamente diferente, alcanzando un porcentaje de inhibición del 11,44%, este resultado se obtuvo con la concentración de 8000 ppm, presentado diferencia estadísticamente significativa entre N1C3E1 y el resto de los tratamientos. Esta figura demuestra la efectividad biocida de la mayor concentración comparada con el resto de las concentraciones; la presencia de alcaloides, saponinas, flavonoides, cumarinas y otros compuestos con propiedades biocidas afectaron la velocidad de crecimiento y producción de micelio de *P. palmivora*.

EFFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO DE TABACO (*NICOTIANA TABACUM*), APLICADO A *PHYTOPHTHORA PALMIVORA* BAJO CONDICIONES IN VITRO

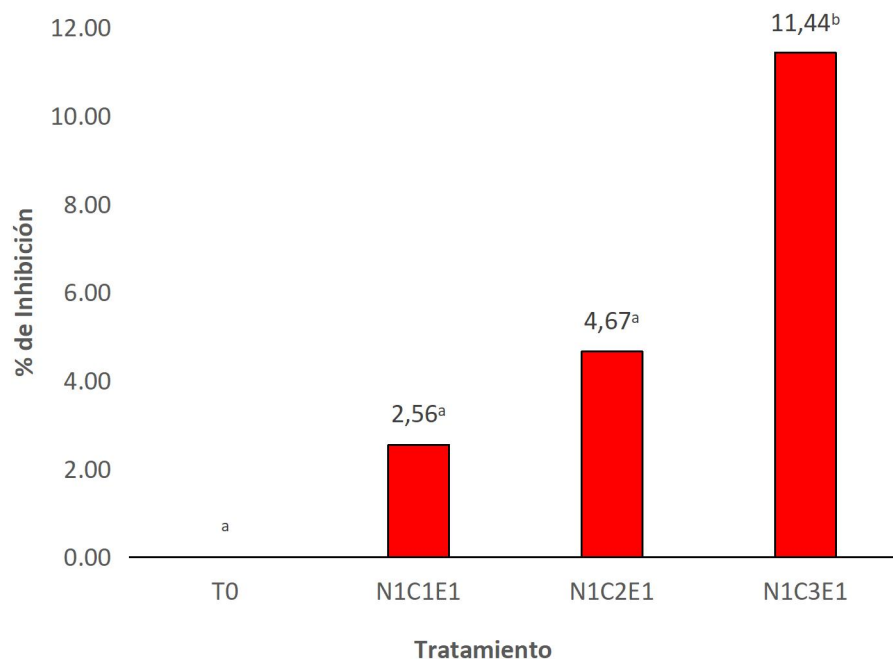


Figura 2. Porcentaje de inhibición de *P. palmivora* tratada con diferentes concentraciones del extracto vegetal en base al crecimiento radial (cm).

Nota: Valores con la misma letra no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Análisis microscópico del efecto del extracto etanólico de tabaco sobre *P. palmivora* y su efecto sobre la germinación de zoosporas

La evaluación microscópica en las placas de los tratamientos demostró la presencia de esporangios en T0 (Figura 3E). El desarrollo de clamidosporas en cantidades leves en N1C1E1(Figura 3F). El aumento moderado de clamidosporas en el tratamiento N1C2E1 (Figura 3G), mientras que en N1C3E1 presento producción masiva de clamidosporas (Figura 3H).

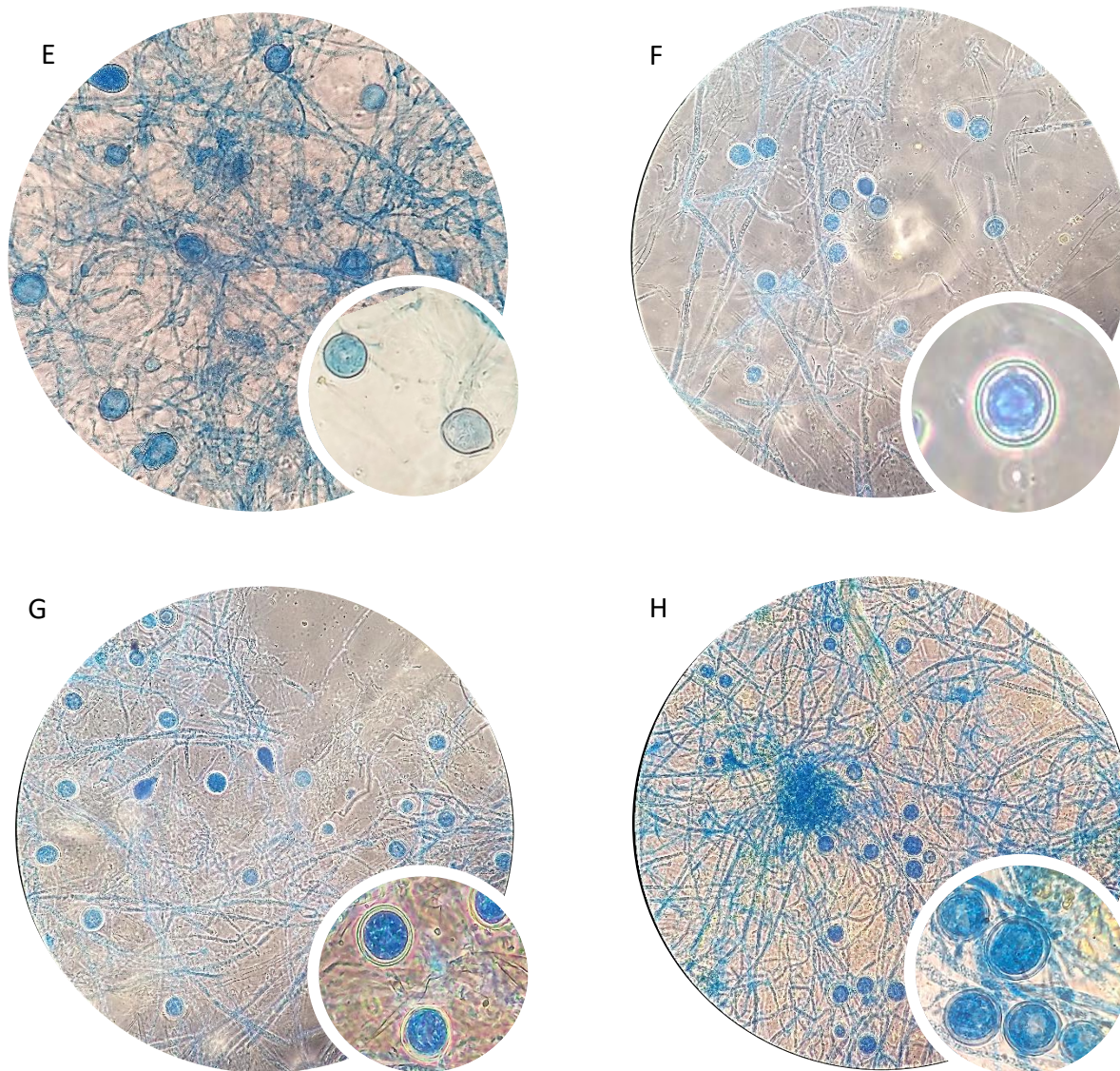


Figura 3. Esporangios en testigo (E); Clamidosporas en tratamientos (F), (G) y (H).

El análisis cualitativo llevado a cabo se muestra en la Tabla 5, donde la presencia de micelio en los tratamientos T0 resulto en cantidades altas; N1C1E1 presento un desarrollo moderado, mientras que N1C2E1 y N1C3E1 presentaron un leve crecimiento del micelio. La producción de clamidosporas en T0, N1C1E1 y N1C2E1 se encontraron dentro del rango 4, sin embargo, N1C3E1 tuvo un valor de 5 en la producción de clamidosporas.

**EFFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO DE TABACO (*NICOTIANA TABACUM*), APLICADO A *PHYTOPHTHORA PALMIVORA*
BAJO CONDICIONES IN VITRO**

Tabla 5. Análisis cualitativo de la presencia de micelio y cuantitativo de clamidosporas por campo microscópico.

Tratamiento	Presencia de micelio	Producción clamidosporas
T0	+++	4 ^a
N1C1E1	++	4 ^a
N1C2E1	+	4 ^a
N1C3E1	+	5 ^b

+: leve; *++*: moderada; *+++*: alta

Nota: Valores con una misma letra no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Los resultados de los análisis cualitativos en todos los tratamientos se observan en la Tabla 6, donde todos presentaron germinación moderada de zoosporas, durante la evaluación de movilidad a las 15 horas T0, N1C1E1, N1C2E1 mostraron movimiento moderado, a diferencia de N1C3E1 la cual tuvo una leve actividad, los tratamientos T0, y N1C1E1 a las 32 horas presentaron alta movilidad de zoosporas, mientras que N1C2E1 mantuvo actividad moderada y N1C3E1 conservo una leve movilidad durante la evaluación.

Tabla 6. Análisis cualitativo de la germinación de zoosporas y movilidad.

Tratamiento	Germinación	Movilidad 15h	Movilidad 32 h
T0	++	++	+++
N1C1E1	++	++	+++
N1C2E1	++	++	++
N1C3E1	++	+	+

+: leve; *++*: moderada; *+++*: alta

DISCUSIÓN

El análisis de las características fisicoquímicas del material precursor abordaron porcentajes de humedad del 13,57%, cenizas con un resultado del 13,86% indicando la presencia de minerales y compuesto inorgánicos; el valor del pH fue de 3,93 siendo un indicativo de acidez, los datos obtenidos presentaron diferencias significativas en comparación al estudio de Capdesuñer et al. (24), el cual menciona que el pH se encuentra entre 5,8; cenizas en un intervalo de 24 y 29%; el contenido de humedad no cuenta con un valor dentro del estudio, por lo cual la siguiente investigación sugiere que el contenido de humedad es 13,57%, cabe mencionar que los valores

reportados en esta investigación son diferentes a otros estudios, debido a varios aspectos como el origen de la materia vegetal, la variedad, la época de recolección y el tratamiento durante la plantación.

El contenido de nicotina en el extracto de tabaco fue de 3,19%, similar al reportado por Banožić et al. (10), quien obtuvo un valor entre el 2,4-4,3%, además de emplear diferentes métodos de extracción de los residuos de tabaco, como la asistida por ultrasonidos, fluido súper crítico, entre otros.

Las características morfológicas de la colonia *P. palmivora* en T0 fueron: crecimiento del micelio de tipo petaloide y en tono blanco, siendo similares a la investigación realizada por López-Galé et al. (25), que aisló *P. cinnamomi* en medio de cultivo PDA, dando a conocer que la morfología entre estas dos variedades de *Phytophthora* son similares a nivel macroscópico. En esta investigación el medio de cultivo V8 modificado presentó cambios de coloración debido a la presencia de clorofila propia de los residuos del tabaco, adquiriendo una pigmentación verde en diferentes tonalidades, a causa de las cantidades empleadas en cada concentración; cada tratamiento presentó una menor velocidad de expansión de la colonia y reducida producción de micelio, a su vez se observó que el crecimiento de la colonia de *P. palmivora* en el medio modificado tenía un patrón en forma de estrella (26).

En la evaluación microscópica realizada a la placa T0 se observó la presencia de esporangios, los cuales mostraron una forma ovoide (26), mientras que el resto de los tratamientos presentaron un aumento gradual de clamidosporas; la actividad de las zoosporas en el extracto etanólico de tabaco a distintas concentraciones no presentaron cambios durante las primeras horas de evaluación, sin embargo, a las 32 h se observó que N1C3E1 aplacó el movimiento de las zoosporas; estas respuestas se deben al estrés causado por los metabolitos secundarios presentes en el extracto tales como alcaloides, saponinas, fenoles, flavonoides, terpenos, cumarinas, y demás compuestos con propiedades biocidas (16). Cabe mencionar que la nicotina fue el principal alcaloide presente en el extracto etanólico de *Nicotiana tabacum*, causante de las alteraciones en el comportamiento, crecimiento y desarrollo de *P. palmivora* a nivel in vitro, además la técnica de dilución del extracto en el medio V8 permitió una mayor difusión de los componentes del extracto en el medio.

Debido al efecto que presentó el extracto etanólico de tabaco, se propone se efectúen más estudios para determinar su potencial para el control de microorganismos fitopatógenos que afecten cultivos de alto valor económico, aplicando concentraciones más altas que las utilizadas en esta investigación, ya sea en campo o durante su periodo de desarrollo. Se debe tener en cuenta que el procedimiento para estandarizar el estudio de plantas con propiedades biocidas es difícil, debido a factores que pueden influir de manera significativa en los resultados, tales como la composición del medio de cultivo empleado, el método de extracción, pH, la solubilidad de la muestra en el medio y el microorganismo en cuestión (27).

CONCLUSIONES

Los resultados demostraron que el tratamiento N1C3E1 tiene potencial para usarse como método inhibitorio por haber presentado un menor crecimiento de la colonia del patógeno *P. palmivora* con un valor de 7,97 cm, adicional a esto no se observaron estructuras como esporangios o zoosporas, sin embargo, se evidencio mayor presencia de clamidosporas en respuesta al estrés causado por el tratamiento aplicado, debido a la nicotina presente en los medios de cultivo modificados, siendo una de las causas de alterar el comportamiento y aspecto morfológico de *P. palmivora*. En cuanto al efecto que tuvo el extracto en las zoosporas, estas no presentaron cambios durante las primeras horas de evaluación, sin embargo, a las 32 h se observó que N1C3E1 disminuyo la actividad de movilidad de las zoosporas, en contraste al resto de tratamientos que mantuvieron una movilidad moderada.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos sinceramente el apoyo y servicio de la empresa Plantaciones de Balsa PLANTABAL S.A, a la Ing. Cinthia Zambrano gerenta del área de Tecnología y Desarrollo Silvícola por la apertura para llevar a cabo la investigación en las instalaciones. Al Ing. Bernardo Castro del departamento de Manejo Integral de Plagas y Enfermedades (MIPE), por proporcionar la cepa *P. palmivora* de la colección de balsa; por su ayuda en el análisis estadístico de los resultados y asistencia técnica. Pedimos disculpas de antemano si se omitió a alguien que contribuyo a este proyecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tüfekci M, Öztekin V, Pir İ, Alioğlu M, Dikicioğlu C, Dikicioğlu A, et al. Low strain rate mechanical performance of balsa wood and carbon fibre-epoxy-balsa sandwich structures. *Composites Part C: Open Access*. 2023 Oct 1;12:100416.
2. Borrega M, Gibson LJ. Mechanics of balsa (*Ochroma pyramidale*) wood. *Mechanics of Materials*. 2015 May 1;84:75–90.
3. Wu C, Vahedi N, Vassilopoulos AP, Keller T. Mechanical properties of a balsa wood veneer structural sandwich core material. *Constr Build Mater*. 2020 Dec 30;265:120193.
4. Mohamed Azni INA, Sundram S, Ramachandran V, Abu Seman I. An in vitro investigation of Malaysian *Phytophthora palmivora* isolates and pathogenicity study on oil palm. *Journal of Phytopathology* [Internet]. 2017 Dec 1 [cited 2024 Dec 9];165(11–12):800–12. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jph.12620>
5. Perrine-Walker F. *Phytophthora palmivora*–cocoa interaction. *Journal of Fungi* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2024 Dec 9];6(3):1–20. Available from: https://www.researchgate.net/publication/344239977_Phytophthora_palmivora-Cocoa_Interaction

6. Fragoso DFM, Túler AC, Pratisoli D, Carvalho JR, Valbon WR, Queiroz VT de, et al. Biological activity of plant extracts on the small tomato borer *Neoleucinodes elegantalis*, an important pest in the Neotropical region. *Crop Protection*. 2021 Jul 1;145:105606.
7. Peralta V, Apaza S, Huanca E, Aguilar R. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) y cáscara de naranja (*citrus sinensis linn. osbeck.*) sobre *fusarium spp* . En Puno. *Dominio de las Ciencias*, ISSN-e 2477-8818, Vol 7, N° Extra 1, 2021 (Ejemplar dedicado a: FEBRERO ESPECIAL 2021), págs 268-284 [Internet]. 2021 Feb [cited 2024 Dec 9];7(1):268–84. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8385867&info=resumen&idioma=SPA>
8. Organización Mundial de la Salud. Día Mundial Sin Tabaco 2023 Cultivemos alimentos, no tabaco. 2023 [cited 2024 Jul 18];3–6. Available from: <https://www.wipo.int/amc/es/mediation/>
9. Wu Y, Huang JG, Yang C, Yang J, Sun G, Liu J. TobaccoNet: A deep learning approach for tobacco leaves maturity identification. *Expert Syst Appl*. 2024 Dec 1;255:124675.
10. Banožić M, Babić J, Jokić S. Recent advances in extraction of bioactive compounds from tobacco industrial waste-a review. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2024 Dec 9];144. Available from: https://www.researchgate.net/publication/338071835_Recent_advances_in_extraction_of_bioactive_compounds_from_tobacco_industrial_waste-a_review
11. Wang Y, Gu W. Study on supercritical fluid extraction of solanesol from industrial tobacco waste. *Journal of Supercritical Fluids* [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2024 Dec 9];138:228–37. Available from: https://www.researchgate.net/publication/324914501_Study_on_Supercritical_Fluid_Extraction_of_Solanesol_from_Industrial_Tobacco_Waste
12. Zheng F, Xie Q, Ren Q, Kong J. Extraction and Purification of Nicotine from Tobacco Rhizomes by Supercritical CO₂. *Molecules*. 2024 Mar 1;29(5).
13. Sharma Y, Kaur A, Bhardwaj R, Srivastava N, Lal M, Madan S, et al. Preclinical assessment of stem of *Nicotiana tabacum* on excision wound model. *Bioorg Chem*. 2021 Apr 1;109:104731.
14. Gui ZQ, Yuan XL, Yang J, Du YM, Zhang P. An updated review on chemical constituents from *Nicotiana tabacum* L.: Chemical diversity and pharmacological properties. *Ind Crops Prod*. 2024 Aug 1;214:118497.
15. Tong Z, Zhou J, Xiu Z, Jiao F, Hu Y, Zheng F, et al. Construction of a high-density genetic map with whole genome sequencing in *Nicotiana tabacum* L. *Genomics*. 2020 Mar 1;112(2):2028–33.
16. Bhawsar J, Jain PK, Jain P. Experimental and computational studies of *Nicotiana tabacum* leaves extract as green corrosion inhibitor for mild steel in acidic medium. *Alexandria Engineering Journal* [Internet]. 2015 May 4 [cited 2024 Jul 17];769–75. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aej.2015.03.022>
17. Dwi P, Kusuma D, Hikmawati I, Mujahid I. Why is *Nicotiana tabacum* leaf extract more effective than Piper beetle leaf extract on mortality of *Aedes aegypti* larvae ? *Exp Parasitol*. 2023 Apr 1;247:108479.
18. Unamuno VR, van de Plassche E, van der Wal L. Biocides. *Encyclopedia of Toxicology*, Fourth Edition: Volume 1-9. 2024 Jan 1;2:85–9.
19. NMX-F-428-1982. NMX-F-428-1982. Alimentos. Determinación De Humedad (Método Rápido De La Termobalanza). Colpos.Mx. 1978.

20. AOAC Official Method 923.03 Ash of Flour. Official Methods of Analysis of AOAC International. 2023 Jan 4;
21. AOAC Official Method 981.12 pH of Acidified Foods. In: Official Methods of Analysis of AOAC International. 2023.
22. Veda FN, Aïssata D. Comparison of nicotine contents in local and imported cigarettes sold in Abidjan markets in Côte d'Ivoire: Lessons for regulation. *J Toxicol Environ Health Sci*. 2022 Feb 28;14(1):1–9.
23. Elliott M, Shamoun SF, Sumampong G. Effects of systemic and contact fungicides on life stages and symptom expression of *Phytophthora ramorum* in vitro and in planta. *Crop Protection*. 2015 Jan 1;67:136–44.
24. Capdesuñer Y, Rivas M, Quiñones-Galvez J, Gallo M, Rodríguez E, Pérez JL, et al. Análisis comparativo de indicadores químicos de la hoja y diterpenos de exudados foliares de *Nicotiana tabacum* L. *Cultivos Tropicales* [Internet]. 2016 [cited 2025 Jan 2];37(especial):127–35. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362016000500017&lng=es&nrm=iso&tlng=es
25. López-Galé YD, Martínez MF, Palacios Joya LP, Murcia-Riaño N. Uniformidad en el desarrollo de brotes en injertos de aguacate y su importancia para establecer niveles de resistencia indirecta a *Phytophthora cinnamomi*. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 2024;
26. Kuswinanti T, Patandjengi B, Melina NH. Morphological Variation and Molecular Characteristics of *Phytophthora palmivora* Isolates from Several Areas of Cocoa Plantations in South Sulawesi and Their Virulence on Sulawesi 2 Cocoa Clone. *Jurnal Fitopatolji*. 2023;19(4).
27. Moreno Limón S, González Solís LN, Salcedo Martínez SM, Cárdenas Ávila ML, Perales Ramírez A. Efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* L.) sobre la inhibición in vitro de *Aspergillus flavus* y *Penicillium* sp. *Polibotánica*, ISSN-e 2395-9525, ISSN 1405-2768, N° 32, 2011, págs 193-205 [Internet]. 2011 [cited 2025 Jan 15];32(32):193–205. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5650832&info=resumen&idioma=SPA>