



Nota Fitopatológica

Actividad antifúngica *in vitro* de extractos acuosos de *Datura discolor* obtenidos por procesamiento de alta presión

Diana Angelina Urias-Lugo, ¹Unidad de Investigaciones en Biotecnología Biomédica, Universidad Autónoma de Occidente Unidad Regional Culiacán, Blvd. Lola Beltrán y Blvd. Rolando Arjona, CP 80020, Col. 4 de marzo, Culiacán, Sinaloa, México; **Octavio Ernesto Martínez-Ereva**, ²Unidad de Investigación en Ambiente y Salud. ³Departamento de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad Autónoma de Occidente Unidad Regional Los Mochis, Blvd. Macario Gaxiola y Carretera Internacional, México 15, CP 81223, Los Mochis, Sinaloa, México; **Cecilia de Los Ángeles Romero-Urías**³, **Carlos Ramiro Ibarra-Sarmiento**², **Sylvia Adriana Estrada-Díaz**¹, **Rubén Félix-Gastélum**³, **Karla Yeriana Leyva-Madrigal**², **Guadalupe Arlene Mora-Romero**^{2*}.

*Autor de
correspondencia:
Guadalupe Arlene
Mora-Romero
arlene.mora@uadeo.mx.

Sección:
Número Especial

Recibido:
05 Mayo, 2024
Aceptado:
22 Septiembre, 2024

Publicado:
24 Octubre, 2024

Cita:
Lugo DA, Martínez-Ereva
OE, Romero-Urías CA
e Ibarra-Sarmiento CR
et al., 2024. Actividad
antifúngica *in vitro* de
extractos acuosos de
Datura discolor obtenidos
por procesamiento de alta
presión.
Revista Mexicana de
Fitopatología 42 (4): 35.
[https://doi.org/10.18781/R.
MEX.FIT.2024-01](https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2024-01)



RESUMEN

Antecedentes/Objetivo. El presente trabajo reporta el efecto *in vitro* de extractos acuosos (2, 4 y 6% p/v) de raíz, semilla y hoja de *Datura discolor* obtenidos en dos tiempos (3 y 6 minutos) por procesamiento de alta presión, contra *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Colletotrichum gloeosporioides*.

Materiales y Métodos. Se prepararon extractos de raíces, semillas y hojas de *D. discolor* en una proporción de 1:10 p/v con agua destilada. Se consideraron dos tratamientos continuos de alta presión (600 MPa) manteniendo la presión durante 3 min y otro con presión (600 MPa) mantenida durante 6 min. Los extractos se evaluaron contra *S. rolfsii*, *S. sclerotiorum* y *C. gloeosporioides*. Los experimentos se realizaron en cajas Petri con medio PDA. Se evaluó la eficiencia de los extractos obteniendo el porcentaje de inhibición.

Resultados. Los resultados mostraron porcentajes variables de inhibición de los extractos en las distintas partes de la planta y concentraciones; los extractos de hoja al 6%, independientemente del tiempo de extracción mostraron efectividad contra los tres patógenos, con inhibición de 99 y 100%, de 55 y 56%, y de 43 y 36%, para *S. rolfsii*, *S. sclerotiorum* y *C. gloeosporioides*, a los 3 y 6 minutos respectivamente.

Conclusión. La efectividad del extracto de hoja al 6%, seis meses posteriores a la preparación fue similar al de los extractos en fresco. Estos resultados abren a futuras líneas de investigación orientadas hacia el manejo sustentable de fitopatógenos. Se sugieren estudios sobre efectividad biológica de los extractos en invernadero y campo.

Palabras clave: control biológico, hongos, fitopatógeno, actividad antifúngica.

INTRODUCCIÓN

Sclerotium rolfsii causante de la pudrición de la raíz y tallo, es un patógeno polífago reportado en zonas tropicales y subtropicales (Gholami *et al.*, 2019). *Sclerotinia sclerotiorum* es un patógeno de amplia distribución, no específico (Ordóñez-Valencia *et al.*, 2018). *Colletotrichum gloeosporioides* es causante de la antracnosis en hojas, flores, frutos y brotes de cítricos (Guarnaccia *et al.*, 2017). Los tres fitopatógenos se asocian con pérdidas significativas en cultivos de importancia económica, cuyo control se basa en el uso de tratamientos químicos.

El uso de extractos vegetales con actividad antimicrobiana es de interés como parte de las estrategias sustentables para el manejo de enfermedades en cultivos agrícolas (Verdugo-Contreras *et al.*, 2022). Extractos metanólicos, etanólicos y acuosos de *Datura discolor* se han evaluado *in vitro* contra *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Penicillium chrysogenum*, *P. expansum*, *Fusarium moniliforme*, *F. poae* (Tequida-Meneses *et al.*, 2002) y *C. gloeosporioides* (Verdugo-Contreras *et al.*, 2022).

Los métodos tradicionales para la extracción de compuestos fitoquímicos se basan principalmente en el uso de disolventes orgánicos y tratamientos térmicos, en los que el material vegetal es expuesto a altas temperaturas por tiempos prolongados, lo que puede provocar la pérdida y degradación de compuestos termolábiles con actividad biológica (Zhang *et al.*, 2018). Las estrategias para la extracción acuosa de compuestos vegetales por medio de la tecnología no-térmica de Procesamiento a Altas Presiones (HPP; por su abreviatura en inglés High Pressure Processing) han ganado la atención, en la industria farmacéutica y alimentaria por tener un alto impacto en la modificación de la estructura celular y en la recuperación de compuestos bioactivos, que se asocia con la destrucción de las paredes celulares y otras barreras estructurales (Le-Tan *et al.*, 2022). Pero no se han realizado evaluaciones del efecto de extractos vegetales obtenidos por HPP contra fitopatógenos. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto *in vitro* de extractos acuosos de *Datura discolor* obtenidos por HPP contra *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Colletotrichum gloeosporioides*, agentes causales de la pudrición suave, el moho blanco y la antracnosis, respectivamente.

Obtención de los extractos. En el experimento se usaron raíces, semillas y hojas de *D. discolor*, con identidad confirmada molecularmente por Verdugo-Contreras *et al.* (2022). El material vegetal se desinfectó con una solución de hipoclorito de sodio 1% v/v, se enjuagó tres veces con agua destilada y se secó a 60 °C durante 19 horas para su posterior pulverización. Los extractos se prepararon de cada parte

anatómica, la mezcla del material vegetal se preparó a una proporción 1:10 p/v en agua destilada, se vertió en frascos de polietileno tereftalato (PET) con tapa de polietileno de alta densidad (HDPE) de doble sello y se expusieron a tratamiento de alta presión a temperatura ambiente. Se consideraron dos tratamientos continuos de alta presión, uno a 600 MPa manteniendo la presión durante 3 min y otro a 600 MPa con presión mantenida durante 6 min. Para el procesamiento de alta presión se empleó el equipo Hiperbaric 55 con canastilla para 55 litros (14.5 gal) de 200 mm (7.9 in) de diámetro, con un intensificador integrado y 62 KW de potencia. Posteriormente, las muestras sometidas a HPP se centrifugaron durante 10 min a 4000 rpm y se recuperó el sobrenadante. Los extractos fueron almacenados a 4 °C hasta su uso.

Evaluación antifúngica *in vitro*. El efecto en fresco de los extractos acuosos de hojas de *D. discolor* se evaluó un día posterior al procesamiento contra *Sclerotium rolfii*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Colletotrichum gloeosporioides*, los cuales previamente fueron identificados molecularmente y se comprobó su patogenicidad (Martínez-Álvarez *et al.*, 2021; Martínez-Ereva, 2022; Pérez-Mora *et al.*, 2021). Los experimentos se realizaron en cajas Petri con PDA (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México); los extractos se agregaron al medio de cultivo en el que se ajustaron a las concentraciones de 2, 4 y 6%; v/v. En el centro se colocó un disco de PDA de 5 mm con micelio del hongo con 5 días de crecimiento; se incluyó un tratamiento adicional consistente en el fungicida a 1 ppm (tebuconazol para *S. rolfii* y *S. sclerotiorum* y carbendazim para *C. gloeosporioides*), como testigo se utilizaron placas de Petri con PDA que contenían únicamente al hongo. Las placas se incubaron a 25 °C, se registró el crecimiento diario de cada uno de los hongos, hasta que el crecimiento del micelio alcanzó el borde de la caja. El porcentaje de inhibición (PI%) se calculó como $PI\% = \frac{C-T}{C} \times 100$, donde C es el radio del hongo en la placa de control y T es el radio del hongo en presencia del extracto o el fungicida (Paneerselvam *et al.*, 2012). Los experimentos se condujeron en un arreglo completamente al azar con cuatro repeticiones por tratamiento, los experimentos se realizaron dos veces.

Se evaluó la vida de anaquel del extracto con la concentración más eficaz observada en las pruebas *in vitro* (extracto de hoja al 6%). El extracto se conservó a 4 °C, y las evaluaciones de efectividad biológica se realizaron a los seis meses después de su obtención. Estos experimentos se realizaron de la misma manera que en el ensayo *in vitro* descrito anteriormente.

Análisis estadístico. Los datos se sometieron a pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk y se recurrió a las pruebas no paramétricas Kruskal-Wallis y Mann-Whitney

con un valor de $p < 0.05$. Para permitir valores de ceros en algunos tratamientos, los datos se transformaron mediante $\sqrt{x + 1}$ (Gomez y Gomez, 1984).

Los resultados de las pruebas *in vitro* mostraron porcentajes variables en la inhibición del crecimiento micelial de *Sclerotium rolfii*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Colletotrichum gloeosporioides*, por extractos acuosos de *D. discolor* obtenidos (HPP), en las distintas partes anatómicas de la planta y concentraciones. Se ha documentado que especies de *Datura* tienen actividad antifúngica; sin embargo, este efecto varía según la concentración y los tipos de solventes, así como de la parte de la planta de donde se obtienen (Öz, 2017).

En *S. rolfii*, la inhibición osciló de 25 a 53%, de 25 a 45% y del 77 a 100% con los extractos de raíz, semilla y hoja, respectivamente, con respecto al testigo sin extracto, con diferencias entre tratamientos ($p < 0.001$); la eficacia de los extractos de hoja al 4 y 6%, independientemente del tiempo de extracción, no fue significativamente diferente del tratamiento con tebuconazol a 1 ppm que inhibió al 100% el crecimiento de *S. rolfii* (Cuadro 1; Figura 1 A-D).

Un estudio *in vitro* realizado con extracto metanólico de fruto de *D. metel* a diferentes concentraciones (0.5 a 4.0%) demostró una reducción significativa de la biomasa de *S. rolfii* entre un 69 y 94% (Jabeen *et al.*, 2014). También, Jabeen *et al.* (2022) evaluaron la eficacia del extracto metanólico de hoja de *D. metel* para el control del crecimiento *in vitro* de *S. rolfii*, las concentraciones de extracto que oscilaron entre 0.5 y 4.0%, controlaron significativamente el crecimiento del patógeno de 29 a 88% sobre el control. Los resultados con extractos acuosos de hoja obtenidos por HPP, en el presente estudio superan a los reportados con extractos metanólicos de fruto y hoja de *D. metel*.

No se observó reducción del crecimiento micelial de *S. sclerotiorum* en ninguno de los tratamientos con extractos de raíz y semilla, ni en los de hoja al 2%, mientras que en los extractos de hoja al 4 y 6% la inhibición osciló del 15 al 56%; la eficacia de los extractos de hoja al 4% (con 6 min) y 6% (en 3 y 6 min) no fue significativamente diferente al tratamiento con tebuconazol a 1 ppm que inhibió 72% del crecimiento de *S. sclerotiorum* (Cuadro 1; Figura 1 E-H).

Estudios previos indican que el extracto acuoso de *D. metel* inhibió a *S. sclerotiorum* con respecto al testigo (Sharma *et al.*, 2015). El extracto etanólico de hoja de *D. inoxia*, que tiene una mayor concentración de fitoquímicos secundarios y flavonoides totales en comparación con los extractos acuosos, mostró una inhibición del 100% del crecimiento micelial de *S. sclerotiorum* en todas las concentraciones evaluadas en comparación con el testigo mientras que el extracto acuoso mostró valores de inhibición del patógeno de 29 a 94%, observándose la mayor inhibición en las concentraciones de 1600 y 2000 $\mu\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$ (Matías *et al.*, 2020). Roy *et al.* (2021) evaluaron tres concentraciones (5, 10 y 15%) de extractos acuosos de *D. stramonium in vitro* contra *S. esclerotiorum* y reportaron porcentajes de inhibición

Cuadro 1. Inhibición *in vitro* del crecimiento micelial de *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Colletotrichum gloeosporioides*. Los tratamientos mostrados son con extractos acuosos de raíz, semilla y hoja de *Datura discolor* al 2, 4 y 6%, obtenidos por procesamiento a alta presión en dos tiempos 3 y 6.

Tratamiento	Inhibición (%)			
	<i>S. rolfsii</i>	<i>S. sclerotiorum</i>	<i>C. gloeosporioides</i>	
Raíz	2%-3	25 ^{BC}	0 ^B	0 ^{BC}
	2%-6	25 ^{BC}	0 ^B	0 ^{A-C}
	4%-3	46 ^B	0 ^B	0 ^C
	4%-6	38 ^B	0 ^B	0 ^{BC}
	6%-3	50 ^B	0 ^B	0 ^{BC}
	6%-6	53 ^B	0 ^B	0 ^C
	CQ	100 ^A	72 ^A	78 ^A
	Testigo	0 ^C	0 ^B	0 ^B
Semilla	2%-3	25 ^{CD}	0 ^C	56 ^{BC}
	2%-6	25 ^{CD}	0 ^{BC}	50 ^{BC}
	4%-3	37 ^{BC}	0 ^C	58 ^{AB}
	4%-6	41 ^{BC}	0 ^C	59 ^{AB}
	6%-3	45 ^{AB}	0 ^C	55 ^{BC}
	6%-6	45 ^{AB}	0 ^C	64 ^{AB}
	CQ	100 ^A	72 ^A	78 ^A
	Testigo	0 ^D	0 ^B	0 ^C
Hoja	2%-3	77 ^B	0 ^C	56 ^B
	2%-6	79 ^B	2 ^{BC}	46 ^B
	4%-3	97 ^A	15 ^B	43 ^B
	4%-6	96 ^A	50 ^A	39 ^B
	6%-3	100 ^A	55 ^A	43 ^B
	6%-6	99 ^A	56 ^A	36 ^B
	CQ	100 ^A	72 ^A	78 ^A
	Testigo	0 ^C	0 ^{BC}	0 ^C

Porcentajes con letras común en superíndices, por parte anatómica de la planta, no son significativamente diferentes ($P = 0.05$; $n = 8$). Testigo = el patógeno en PDA sin extracto o fungicida; CQ = el patógeno en PDA + tebuconazol o carbendazim a 1 ppm.

de 28, 31 y 37%, respectivamente. Adicionalmente, Kewate *et al.* (2020) reportaron una inhibición *in vitro* del 28% de *S. sclerotiorum* con extractos en polvo al 10% de *D. stramonium*. Los resultados reportados por Matías *et al.* (2020) superan a la inhibición aquí reportada para extractos acuosos de hoja de *D. discolor* por HPP; sin embargo, estos últimos son mayores a los reportados para *D. stramonium* contra *S. sclerotiorum*.

En el presente estudio los extractos de raíz no mostraron inhibición del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides*, mientras que los de semilla lo inhibieron de 50 a 64%, y los de hoja del 36 al 56%; la eficacia de los extractos de semilla no

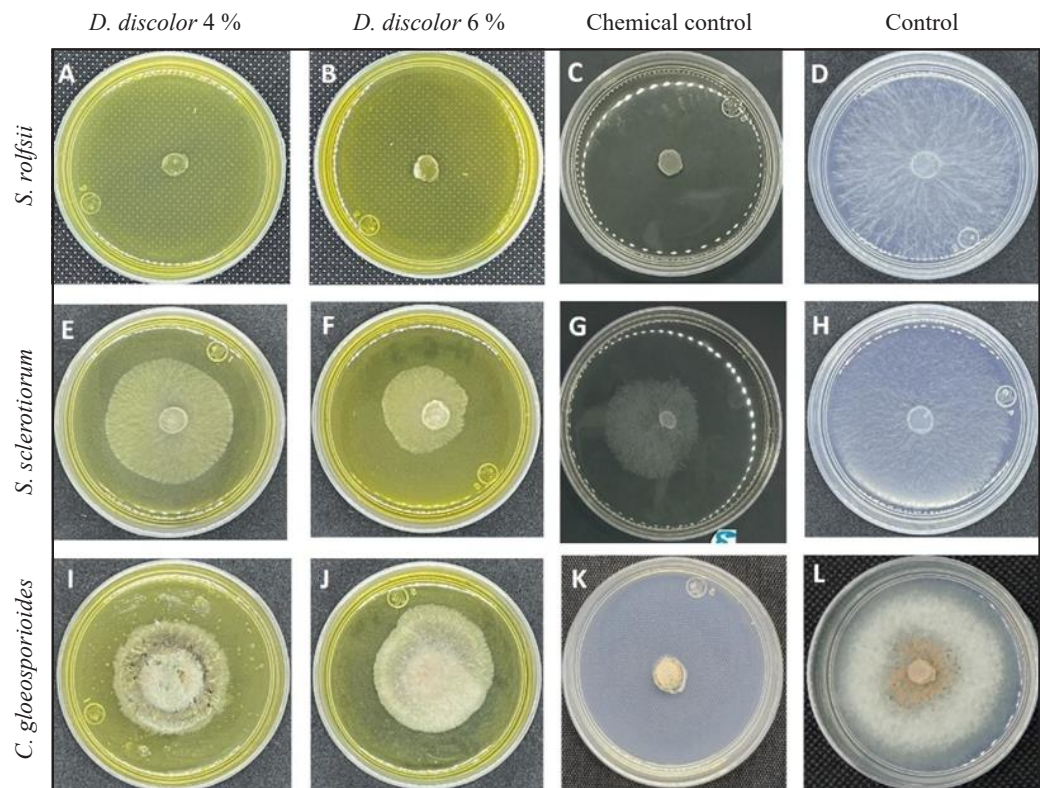


Figura 1. Efecto de extracto acuoso de *Datura discolor* obtenido por procesamiento a alta presión durante 6 minutos. **A-D** *Sclerotium rolfsii*, **E-H** *Sclerotinia sclerotiorum*, **I-L** *Colletotrichum gloeosporioides*. Control químico = tebuconazol o carbendazim 1 ppm).

fue significativamente diferente al tratamiento con carbendazim 1 ppm que inhibió 78% del crecimiento de *C. gloeosporioides*. Aunque de manera menos eficiente que el tratamiento con carbendazim 1 ppm, los extractos de hoja inhibieron de manera significativa al patógeno con respecto al testigo sin extracto acuoso (Cuadro 1, Figura 1 I-L).

Karim *et al.* (2017) evaluaron la actividad antifúngica de extractos metanólicos de hojas, semillas y raíces de *D. metel* a las concentraciones de 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 y 3%. Todas las concentraciones redujeron significativamente el crecimiento radial de *C. gloeosporioides*, el extracto de semilla al 1.5% mostró la mayor inhibición (80%). De manera similar, extractos de hojas de *D. stramonium* obtenidos con metil acetato y con metanol inhibieron significativamente el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* (Alemu *et al.*, 2014). Previamente se reportó que extractos acuosos de hojas de *D. discolor* (al 1, 2 y 4% p/v) inhibieron el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* en un 52-73%, sin diferencias significativas con respecto al tratamiento con carbendazim a 1 ppm (Verdugo-Contreras *et al.*, 2022). Los extractos

acuosos de hoja de *D. discolor* al 2, 4 y 6% obtenidos a alta presión inhibieron al patógeno de un 36 a 56%, mientras que los de semilla lo inhibieron de un 50 a 64% (Cuadro 1); es decir los porcentajes de inhibición observados para *C. gloeosporioides* son superiores con extractos de semilla como lo reporta Karim *et al.* (2017). Los porcentajes de inhibición con extractos acuosos de hoja de *D. discolor* contra *C. gloeosporioides* reportado por Verdugo-Contreras *et al.* (2023) son superiores a los reportados en el presente estudio, lo cual puede deberse a diferencias en las concentraciones y tipo de compuestos bioactivos en los procesos de extracción, con capacidad para inhibir a *C. gloeosporioides*.

Extractos metanólicos y etanólicos de tallo y hoja de *D. discolor* inhibieron el crecimiento micelial de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae* (Tequida-Meneses *et al.*, 2002). Los extractos con solventes como etanol, metanol y metil acetato en algunos casos pueden presentar mayor efectividad contra patógenos. Aunque sería interesante evaluar el efecto de extractos de *D. discolor* con solventes como etanol y metanol contra *S. sclerotiorum* y *C. gloeosporioides* se busca proponer alternativas con el empleo de tecnologías limpias.

Sharma *et al.* (2015), reportaron que el extracto acuoso de *D. metel* fue efectivo contra *S. sclerotiorum*, pero no para *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*. El extracto acuoso de hoja de *D. inoxia* aunque inhibió hasta en un 94% a *S. sclerotiorum* no afectó el crecimiento de *Fusarium solani* (Matias *et al.*, 2020). Extractos acuosos de hoja de *D. discolor* obtenidos por HPP inhibieron a *S. rolfsii*, *S. sclerotiorum* y *C. gloeosporioides*, lo que muestra una capacidad antifúngica del extracto con mayor espectro.

Por otra parte, excepto el tratamiento de extracto de hoja al 4% contra *S. sclerotiorum*, no arrojó diferencias en la inhibición de los diferentes patógenos relacionada con los tiempos de extracción, es decir, de extractos obtenidos por alta presión con duración de 3 o 6 minutos del proceso. Lo cual puede ser tomado en cuenta en evaluaciones posteriores contra otros patógenos, considerando el extracto de hoja al 6%, sometido a 3 minutos a HPP, esto contribuye a eficientizar el proceso.

Aunque los estudios fitoquímicos *D. discolor* son escasos; recientemente se han aislado de esta especie los whitanólidos datudiscolides A (8) y B (9) (González *et al.*, 2023); también, se ha confirmado la presencia de whitanólidos con actividad antifúngica en *D. ferox*, *D. metel*, *D. quercifolia* y *D. stramonium* (Siddiqui *et al.*, 1987; Kagale *et al.*, 2004), por lo que la inhibición del crecimiento de los fitopatógenos evaluados pudiera atribuirse a whitanólidos presentes en *D. discolor*, pero se requieren estudios adicionales para confirmar esta hipótesis. Estudios fitoquímicos realizados en otras especies reportan que los principales metabolitos secundarios para el género *Datura* son terpenoides, flavonoides, withanólidos, taninos, compuestos fenólicos, esteroides y ácidos grasos (Céspedes-Méndez *et al.*, 2021). El

potencial antifúngico de extractos de hoja de *D. inoxia* contra *S. sclerotiorum* se ha relacionado con la abundancia de alcaloides y compuestos fenólicos (Matías *et al.*, 2020). Es relevante la realización de un tamizaje fitoquímico de *D. discolor* que complemente las investigaciones sobre su actividad antifúngica.

El extracto de hoja al 6%, evaluado seis meses posteriores a su procesamiento, redujo el crecimiento *in vitro* de *S. rolfsii*, *S. sclerotiorum* y *C. gloeosporioides* en un 99, 54 y 39%, respectivamente. Los porcentajes observados son similares al de las evaluaciones con el extracto en fresco. Verdugo-Contreras *et al.* (2022) reportaron que el extracto acuoso de hoja de *D. discolor* al 4% obtenido por maceración con calor logró reducir el crecimiento *in vitro* de *C. gloeosporioides* hasta 3 meses después de su preparación, pero con menor efectividad. Esto sugiere una mayor estabilidad de los compuestos bioactivos obtenidos con procesos por HPP con efectividad para los patógenos evaluados.

Los extractos de hoja al 6%, independientemente del tiempo de extracción muestran actividad antifúngica contra los tres hongos y la efectividad del extracto permanece activa al menos durante seis meses. Líneas de investigación futuras deberían centrarse en caracterizar los compuestos bioactivos implicados en la actividad antifúngica de los extractos acuosos de *D. discolor* obtenidos por HPP, así como en estudios a nivel invernadero y campo para determinar el potencial de dichos extractos para el control de los fitopatógenos evaluados *in vitro*.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a IDEAS DE BERENJENA S.A. de C. V., por facilitar las instalaciones para el uso de la cámara hiperbárica (Hiperbaric 55) y al Programa PIFIP-2022 de la Dirección de Investigación y Posgrado de la Universidad Autónoma de Occidente por el financiamiento.

LITERATURA CITADA

- Alemu K, Ayalew A, and Woldetsadik K. 2014. Evaluation of antifungal activity of botanicals for postharvest management of mango anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). International Journal of Life Sciences 8(1):1–6. <https://doi.org/10.3126/IJLS.V8I1.9957>.
- Céspedes-Méndez C, Iturriaga-Vásquez P and Hormazábal E. 2021. Secondary metabolites and biological profiles of *Datura genus*. Journal of the Chilean Chemical Society 66(2):5183-5189. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072021000205183>
- Gholami M, Ebrahimi A, Mozafari J, Bihanta MR and Rahaie M. 2019. Phenotypic and genotypic screening of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces for resistance to collar rot fungus (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) in North of Iran. Journal of Plant Pathology 102:67-78. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00373-9>.
- Gomez KA and Gomez AA. 1984. Statistical procedures for agricultural research. Second Edition. Wiley. New York, USA 680p.
- González U, Nieto-Camacho A, Hernández-Ortega S, Martínez M, Maldonado E. 2023. Withanolides from *Datura ceratocaula* and *Datura discolor* and their acetylcholinesterase inhibitory activity. Fitoterapia. <https://doi.org/doi:10.1016/j.fitote.2023.105655>. Epub 2023 Aug 17. PMID: 37595646.

- Guarnaccia V, Groenewald JZ, Polizzi G, Crous PW. 2017. High species diversity in *Colletotrichum* associated with citrus diseases in Europe. *Persoonia* 39:32–50. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2017.39.02>
- Jabeen N, Javaid A, Ahmed E and Sharif A. 2014. Management of causal organism of collar rot of bell pepper (*Sclerotium rolfsii*) by organic solvents extracts of *Datura metel* fruit. *Pakistan Journal of Phytopathology*. 26(01):15-20.
- Jabeen N, Khan IH and Arshad J. 2022. Fungicidal potential of leaf extracts of *Datura metel* L. to control *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Allelopathy Journal* 56(1):59-68. <https://doi.org/10.26651/allelo.j/2022-56-1-1387>
- Kagale S, Marimuthua T, Thayumanavan B, Nandakumara R, Samiyappana R. 2004. Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Pathology* 65(2):91–100. <https://doi.org/10.1016/j.pmp.2004.11.008>.
- Karim M, Jabeen K, Iqbal S and Javaid A. 2017. Bioefficacy of a common weed *Datura metel* against *Colletotrichum gloeosporioides*. *Planta Daninha* v35:e017164676. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582017350100040>
- Kewate B, Singh D, Singh VD, Malik NP and Kumar R. 2020. *In-vitro* Effect evaluation of botanicals against *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, caused stem rot disease in rapeseed-mustard. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 9(8):3733-3741. <https://doi.org/10.20546/ijemas.2020.908.431>
- Le-Tan H, Fauster T, Haas K and Jaeger H. 2022. Aqueous extraction of curcuminoids from *Curcuma longa*: effect of cell disintegration pre-treatment and extraction condition. *Food Bioprocess Technol* 15: 1359–1373. <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02820-5>
- Martínez-Álvarez JC, Camacho-Angulo F, Bojórquez-Armenta YJ, Sánchez-Soto B, Cordero-Ramírez JD, Romero-Urías CA, Félix-Gástelum R and Mora-Romero GA. 2021. Efecto inhibitorio de bacterias antagonistas contra *Sclerotium rolfsii*, agente causal del tizón sureño del frijol. *Revista mexicana de fitopatología* 39(1):207-218. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2006-5>
- Martínez-Ereva OE. (2022). Bacterias asociadas a la rizosfera de papa, con potencial para el control de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii* y *Rhizoctonia solani* en el norte de Sinaloa. Tesis de Maestría en Fitopatología y Medio Ambiente-Universidad Autónoma de Occidente.
- Matías R, Fernández V, Correa BO, Pereira SH and Oliveira AKM. 2020. Phytochemistry and antifungal potential of *Datura innoxia* Mill. on soil phytopathogen control. *Bioscience Journal* 36(3):691-701. <http://dx.doi.org/10.14393/BJ-v36n3a2020-47881>
- Ordóñez-Valencia C, Ferrera-Cerrato R, Alarcón A, Hernández-Cuevas LV and Larsen J. 2018. Desarrollo morfológico temprano de esclerocios por *Sclerotinia sclerotiorum* en presencia de bicarbonato de potasio. *Revista mexicana de fitopatología* 36(3):363-378. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1803-4>
- Öz AÜ. 2017. The antifungal effects of *Datura stramonium* L., *D. metel* L., *D. innoxia* Mill. in flora of Turkey. *Mugla Journal of Science and Technology* 3(2):96-103. <https://doi.org/10.22531/muglajsci.345175>
- Paneerselvam A, Kumar D, Thenmozhi R, Anupama P, Nagasathya A, and Thajuddin N. 2012. Selection of potential antagonistic *Bacillus* and *Trichoderma* isolates from tomato rhizospheric soil against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *J Microbiol Biotechnol Res* 2:78–89.
- Pérez-Mora JL, Mora-Romero GA, Beltrán-Peña H, García-León E, Lima NB, Camacho-Tapia M, Tovar-Pedraza JM. 2021. First report of *Colletotrichum siamense* and *C. gloeosporioides* causing anthracnose of *Citrus* spp. in Mexico. *Plant Disease* 105(2):496-496. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-20-1743-PDN>
- Roy S, Dana I and Biswas MK. 2021. Response of *Sclerotinia sclerotiorum* against different fungicides, plant extract and bio-control agents *in vitro*. *Journal of Mycopathology Research* 59(3):315-318.
- Sharma D, Sharma Y and Nagar A. 2015. Comparative study of different flowering plants on the basis of their antifungal activity. *International Journal of Advanced Technology in Engineering and Science* 3(1):365- 373.
- Siddiqui S, Naheed S, Ahmad S, Haider I. 1987. A novel withanolide from *Datura metel*. *Phytochemistry* 9:2641–2643.
- Tequida-Meneses M, Cortez-Rocha M, Rosas-Burgos E, López-Sandoval S and Corrales-Maldonado C. 2002. Effect of alcoholic extracts of wild plants on the inhibition of growth of *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium poae* moulds. *Revista Iberoamericana de Micología* 19(2):84-8.

Verdugo-Contreras X, Martínez-Álvarez J, Díaz-Camacho S, Félix-Gastélum R, Leyva-Madrigal K, Ibarra-Sarmiento C, Romero-Urías C and Mora-Romero G. 2022. Antifungal activity of weed aqueous extracts on Persian lime anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Journal of Plant Diseases and Protection 130(2):293-300. <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00671-y>

Zhang QW, Lin LG and Ye WC. 2018. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. Chinese Medicine 13(20):1-26. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>