

**“UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE CIENCIAS SOCIOECONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE ADMINISTRACIÓN AGROPECUARIA**



**CARACTERIZACIÓN DE LA RAÍZ DE MORINGA Y DE-
TECCIÓN DE ACTIVIDAD ANTI FÚNGICA DEL EX-
TRACTO DE SU RAÍZ.**

TESIS

POR:

MARÍA GUADALUPE ESTRADA GARAY

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:**

INGENIERO AGRÓNOMO ADMINISTRADOR

**BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO.
MARZO DE 2015**

**“UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE CIENCIAS SOCIOECONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE ADMINISTRACIÓN AGROPECUARIA**

**CARACTERIZACIÓN DE LA RAÍZ DE MORINGA Y DETECCIÓN
DE ACTIVIDAD ANTI FÚNGICA DEL EXTRACTO DE SU RAÍZ.**

TESIS

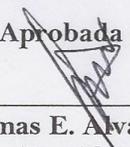
POR:

MARÍA GUADALUPE ESTRADA GARAY

**Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como
requisito
Para obtener el título de:**

INGENIERO AGRÓNOMO ADMINISTRADOR

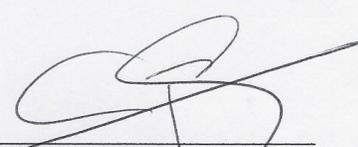
Aprobada por:



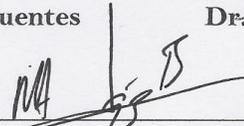
M.A.E Tomas E. Alvarado Martínez
Presidente



Dra. Yisa María Ochoa Fuentes
Sinodal



Dr. Enrique Navarro Guerrero
Sinodal
Universidad Autónoma Agraria
“ANTONIO NARRO”



Dr. Lorenzo Alejandro López Barbosa
Coordinador de la División de Ciencias Socioeconómicas

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
Marzo de 2015



DIV. CS. SOCIOECONOMICAS
COORDINACION

DEDICATORIAS

A **Dios** porque siempre ha estado iluminando mí camino, porque está siempre presente en cualquier lugar llenándome de luz y dándome la paz que necesito.

A mis **papás Gabina Garay G. y Crescencio Estrada G.:** Porque hacen que todo sea posible, por su apoyo incondicional, su gran amor, paciencia y tolerancia, por haberme dado el regalo más grande que es la vida, por acompañarme en el camino y porque sé que lo seguirán haciendo hasta el final. Los **amo** nunca lo duden y de verdad GRACIAS.

A mis hermanos, **Laura, Erika y José Eduardo** por su tan valiosa compañía que a través de la vida hemos compartido y la solidaridad sobre todo por su apoyo en los momentos difíciles. **Los quiero mucho.**

A mi sobrina **Zoe Korina** porque a pesar de ser una pequeña nena, me da todo su cariño incondicionalmente y aunque apenas empieza a hablar bien ella siempre me dice te quiero. Te quiero mucho Kori.

A mi prima **Dani:** porque es más que eso, también es mi hermana, gracias por escucharme, acompañarme, apoyarme **te quiero mucho** eres muy importante para mi nena.

A **mis tíos Silverio, Carmen, Pedro, Florentino y Xochitl:** porque siempre están al pendiente preguntando cómo nos va y porque sé que con sus oraciones constantes nos abren camino para que todo esté bien. Los **adoro.**

A **José Luis M.V.:** Luisito a ti porque eres parte de mi inspiración, tal que me has hecho mejor persona y madurar, me has apoyado muchísimo en todo, por tu gran ayuda, tu empuje, tus palabras, tus te amo, los consejos que me das, el gran interés que has demostrado hacia mí, tu preocupación de que todo salga bien, los momentos felices que me has regalado y me hacen seguir avanzando. Gracias!!!

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**: porque nunca me abandona, y me dio la oportunidad de venir a esta vida con una familia maravillosa.

A **mis padres**: por todo su apoyo económico, moral, espiritual y por su entrega como padres maravillosos, por sus desvelos, sus sacrificios y esfuerzos por ser mejor cada día.

A la **Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”** por darme la oportunidad de realizar mis estudios en ella, por prepararme como un profesional en sus aulas, y darme las bases para enfrentarme al mundo laboral.

A la **Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León** por abrirme sus puertas para la realización de esta investigación y por todos los buenos momentos que pase en ella. MUCHAS GRACIAS

Al **Dr. Jorge A. Torres**: Por su valioso apoyo, por el tiempo y esfuerzo que dedicó en la realización de esta investigación. También por sus buenos consejos y su gran empujé, Gracias.

A la **Dra. Yisa M. Ochoa Fuentes**: Por su gran apoyo, por el tiempo que me dedicó, y por contribuir en la realización de esta investigación de la mejor manera y disposición. Gracias.

Al **M.A.E Tomas E. Alvarado Martínez**: Por su colaboración en este trabajo, por el apoyo brindado y por sus enseñanzas en clases.

Al **Dr. Enrique Navarro Guerrero**: Por sus enseñanzas en clases, por el apoyo e interés demostrado en este trabajo.

A mis **amigas – amigos y compañeros**: Por contribuir de alguna u otra manera, escuchando mis quejas, haciéndome reír y pasar momentos de relax. ¡Gracias! Caro, Carmen, Urbi, Margarito, Cornelio, Luis, Rosita, Besai, Petrona, Deily, Llesmin, Yuli, Marisol, Flori, Ceci, Esme etc. etc.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|--|-----------|
| DEDICATORIAS | iv |
| AGRADECIMIENTOS..... | vi |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | x |
| ÍNDICE DE GRAFICAS..... | x |
| RESUMEN..... | xi |
| I. INTRODUCCION..... | 12 |
| II. OBJETIVOS | 14 |
| 2.1 General..... | 14 |
| 2.2 Especificos | 14 |
| III. HIPÓTESIS | 14 |
| IV. REVISION DE LITERATURA..... | 15 |
| 4.1 Descripcion y usos de la moringa | 15 |
| 4.2 <i>M. oleifera</i> en la alimentación humana | 16 |
| 4.3 Usos medicinales de <i>m. oleifera</i> | 18 |
| 4.4 Justificación fitoquímica de los efectos terapéuticos | 19 |
| 4.5 Actividad antimicrobiana | 20 |
| 4.6 Actividad antioxidante | 21 |
| 4.7 <i>M. oleifera</i> en el tratamiento de aguas..... | 22 |
| 4.8 Purificación de agua potable..... | 23 |
| 4.9 Usos no comestibles del aceite de <i>M. oleifera</i> | 24 |
| 4.10 Utilización de las cascarillas de las semillas y las vainas secas de <i>M. oleifera</i> | 26 |
| 4.11 Estudios <i>in vitro</i> con extractos vegetales | 27 |
| 4.12 Fitoquímica..... | 29 |
| 4.13 Metabolitos secundarios..... | 29 |
| 4.14 Generalidades de <i>Fusarium</i> | 30 |
| 4.15 <i>Fusarium</i> | 31 |
| V. MATERIALES Y MÉTODOS | 34 |
| 5.1 Localización del experimento..... | 34 |
| 5.2 Material de laboratorio | 34 |
| 5.3 Material vegetal | 34 |
| 5.4 Extracto de moringa | 35 |
| 5.5 Centrifugación | 35 |

| | | |
|-------------|--|-----------|
| 5.6 | Clarificado..... | 36 |
| 5.7 | Activación de las cepas de hongos | 36 |
| 5.8 | Preparación del medio de cultivo PDA..... | 37 |
| 5.9 | Fitoquímica..... | 37 |
| 5.9.1 | Identificación de Polifenoles | 38 |
| 5.9.2 | Identificación de Taninos | 38 |
| 5.9.3 | Identificación de Saponinas | 38 |
| 5.10 | Ensayo de los hongos y numeración de las cajas Petri. | 39 |
| VI. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN. | 40 |
| 6.1 | Fitoquímica..... | 40 |
| 6.1.1 | Detección de polifenoles | 40 |
| 6.1.2 | Detección de taninos..... | 41 |
| 6.1.3 | Detección de saponinas. | 42 |
| 6.2 | Detección de actividad antifúngica. | 43 |
| VII. | CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 46 |
| | BIBLIOGRAFÍA..... | 48 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Raíz y hoja de moringa..... | 35 |
| Figura 2. Diagrama para la obtención del extracto de moringa | 35 |
| Figura 3. Centrifugación | 36 |
| Figura 4. Clarificado. | 36 |
| Figura 5. Hongo Fusarium oxysporum..... | 37 |
| Figura 6. Medio de cultivo PDA | 37 |
| Figura 7. Extracto de moringa | 40 |
| Figura 8. Detección de polifenoles..... | 41 |
| Figura 9. Detección de taninos | 41 |
| Figura 10. Detección de saponinas | 42 |

ÍNDICE DE GRAFICAS

| | |
|---|----|
| Grafica 1. Medición a las 24 horas | 43 |
| Grafica 2. Medición a las 48 horas | 44 |
| Grafica 3. Medición a las 72 horas | 44 |
| Grafica 4. Medición a las 96 horas | 45 |
| Grafica 5. Medición a las 120 horas | 46 |

Correo Electrónico: María Guadalupe Estrada Garay, yarag_14@hotmail.com

RESUMEN

El propósito de esta investigación, consistió en realizar un experimento con la raíz de *Moringa oleifera*, este trabajo se realizó en la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Partiendo desde una hipótesis para comprobar con el experimento si la raíz de moringa presentaba compuestos que pueden tener efecto fúngico. El proceso del experimento consistió en la obtención de un extracto de la raíz de moringa para después identificar metabolitos secundarios con la ayuda de la fitoquímica que es una técnica para la identificación de compuestos en algunos extractos, para poder identificar el efecto fúngico se trabajó con el hongo *Fusarium oxysporum* este hongo varía de acuerdo a sus características morfológicas y fisiológicas, y esto explica la capacidad que tiene *Fusarium* para colonizar variados nichos ecológicos en distintas áreas geográficas.

Una vez obtenido el extracto de raíz de moringa se puso en cajas petri y después se colocó un explante de *Fusarium* para si después evaluar el crecimiento del hongo cada veinticuatro horas. Como resultado se obtuvo la identificación de polifenoles, saponinas y taninos; estos son algunos metabolitos secundarios que de acuerdo a investigaciones tienen propiedades que son de gran utilidad en la industria química y farmacéutica. Además que los polifenoles son importantes para la filosofía de las plantas pues contribuyen a la resistencia de microorganismo e insectos.

Con la evaluación que se realizó para observar cómo se comportaba el crecimiento de *Fusarium* se concluyó que ay un efecto fungistático ya que el hongo inhibe su crecimiento en presencia del extracto.

Palabras clave. *Moringa o.*, metabolitos secundarios, efecto fúngico.

I. INTRODUCCION

Las plantas han sido capaces de protegerse de las plagas por sí mismas antes de que el hombre jugara un rol activo en protegerlas (Wilson, et al., 1999). Se conoce que sintetizan una gran variedad de metabolitos secundarios relacionados con los mecanismos de defensa. El proceso para obtener metabolitos secundarios de los extractos vegetales es variable; se pueden obtener extractos acuosos (Bautista, et al., 2002a) o polvos (Bautista, et al., 2003a), o utilizar otros disolventes para obtener diferentes compuestos, según su polaridad (Abou-Jawdah, et al., 2002).

Diversos productos derivados de las plantas han mostrado un efecto antimicrobiano. Entre estos compuestos destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos (Cowan, 1999). Sus mecanismos de acción son variables; por ejemplo, la toxicidad de los fenoles en microorganismos se atribuye a inhibición enzimática por oxidación de compuestos. El modo de acción de los terpenos y aceites esenciales no ha sido dilucidado por completo, pero se postula que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos. De los alcaloides se ha postulado que se intercalan con el DNA, y de las lectinas y poli péptidos se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (Cowan, 1999). Montes et al. (2000) evaluaron 206 especies vegetales contra 26 especies de hongos fitopatógenos, y encontraron que entre 32 y 51% de las plantas evaluadas interactuaban con los hongos y causaban desde estimulación biológica hasta inhibición total. Si se considera que la mayoría de los compuestos obtenidos de las plantas son biodegradables e inocuos, y que en México se encuentran aproximadamente 10 % de las especies de plantas superiores del mundo y más de 40 % de ellas son habitantes exclusivas del país (CONABIO, 1998), resulta conveniente explorar el potencial de empleo de sus extractos vegetales para controlar las enfermedad en las plantas.

Moringa oleifera es un árbol originario de la India al que se le atribuyen múltiples beneficios para el bienestar humano. Es de crecimiento rápido, de relativamente poca exigencia hacia el suelo y se cultiva en toda la franja intertropical. Uno de los principales usos de sus hojas y de la torta de prensado de su semilla es en la formulación de raciones para la alimentación animal. Sin embargo, prácticamente todas las partes del árbol tienen diversas aplicaciones, sobre lo cual existen testimonios que se remontan a la Antigüedad.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antifúngica del extracto de la raíz de *M. oleifera* ante el hongo *Fusarium oxysporum* así como determinar e identificar algunos componentes químicos de la raíz que son denominados metabolitos secundarios.

II. OBJETIVOS

2.1 GENERAL

Realizar una descripción de algunos componentes bioquímicos de la raíz de moringa.

2.2 ESPECIFICOS

Determinar la presencia de metabolitos secundarios mediante la marcha fitoquímica.

Evaluar el posible efecto anti fúngico del extracto acuoso sobre hongos fitopatógenos.

III. HIPÓTESIS

La raíz de moringa presenta diferentes compuestos solubles en agua que pueden tener efecto antifúngico.

IV. REVISION DE LITERATURA

4.1 DESCRIPCION Y USOS DE LA MORINGA

Moringa oleifera, árbol perteneciente a la familia *Moringaceae*, es nativo de las estribaciones meridionales del Himalaya y en la actualidad se cultiva prácticamente en todas las regiones tropicales, subtropicales y semiáridas del mundo. Puede crecer en condiciones de escasez de agua, pero su cultivo intensivo, con irrigación y fertilización, aumenta los rendimientos de biomasa hasta superar las 100 toneladas por hectárea (Foidl, Makkar y Becker, 2001). Se conoce por diferentes nombres vernáculos, tales como: marango, moringa, resedá, árbol de rábano, árbol de la baqueta, ángela, árbol de los espárragos, árbol de las perlas, árbol "ben", árbol de la vida y árbol de los milagros (Fuglie, 2001). Este último nombre es una medida de la importancia de esta planta para solucionar problemas de salud que, de otra manera, podrían considerarse incurables.

Desde hace milenios, prácticamente todas las partes de *M. oleifera* han sido utilizadas por el hombre. Las hojas, las flores, los frutos y las raíces son apreciados por su valor nutritivo y pueden ser usados tanto en la alimentación humana como en la animal. Las hojas son excepcionalmente ricas en vitaminas y diferentes aminoácidos, por lo que se recomiendan para tratar problemas de malnutrición en niños (Fuglie, 2001). También se emplean como forraje, biopesticida y para la producción de biogás (Fahey, 2005). Las semillas se utilizan en la alimentación, la medicina, el tratamiento de aguas y como fertilizantes (Foidl, *et al.*, 2001). La corteza del tronco es útil en la adsorción de metales pesados (Reddy, Ramana, Seshaiyah y Reddy, 2011), así como para la fabricación de cuerdas y alfombras (Ramachandran, Peter y Gopalakrishnan, 1980). El aceite se usa en la industria de perfumería y la de cosméticos como lubricante, en la alimentación humana y en la producción de biodiesel (Rashid, Anwar, Moser, y Knothe, 2008). Las cascarillas de las semillas sirven de materia prima para la producción de carbón activado y de intercambiadores aniónicos. La planta también se emplea como cerca viva o corti-

na rompevientos, mientras que la biomasa lignocelulósica del tronco y de las ramas puede ser utilizada como material de construcción y para producir pulpa celulósica y etanol (Fahey, 2005).

A pesar de su utilidad ancestral, su aplicación ha sido más bien empírica y la mayor parte de la información existente proviene de la tradición oral o de publicaciones de carácter general. Solo a finales del siglo XX este árbol empezó a recibir una atención merecida por parte de la comunidad científica. Durante las últimas dos décadas se han publicado numerosos reportes sobre la evaluación científica de los procesos de utilización de la planta, así como la identificación de principios activos y mecanismos de acción, lo que ha permitido explicar muchos de los efectos beneficiosos previamente conocidos, optimizar su explotación y proponer nuevas aplicaciones.

4.2 M. oleífera en la alimentación humana

Prácticamente todas las partes de la planta tienen uso alimenticio. Las frutas, las hojas, las flores, las raíces y el aceite son altamente apreciados por su valor nutritivo y se utilizan para la elaboración de diferentes platos en la India, Indonesia, Filipinas, Malasia, el Caribe y en varios países africanos (Foidl, *et al.*, 2001; Ghazali y Mohammed, 2011). Las hojas tiernas cocinadas se emplean en la preparación de ensaladas, sopas y salsas; también pueden ser consumidas crudas, como otras verduras. Las flores cocinadas tienen un sabor que recuerda al de algunas setas comestibles. Las vainas tiernas son muy apreciadas en la India; se preparan del mismo modo que las habichuelas y su sabor son parecidos al de los espárragos. Al madurar, las vainas se tornan algo leñosas y pierden cualidades como alimentos. No obstante, las semillas pueden ser separadas de la vaina madura y utilizadas como alimento. Las semillas maduras se pueden preparar de manera similar a los guisantes; y también consumirse fritas, tostadas (como el maní), en infusiones y en salsas (Ramachandran, *et al.*, 1980). En Malasia, las vainas verdes se utilizan como ingredientes de variedades locales de curry. A partir de las raíces se preparan salsas que, por su sabor, recuerdan al rábano picante; por ello la morin-

ga en algunos sitios se conoce como el árbol del rábano (Ramachandran, *et al.*, 1980).

Las hojas de esta especie presentan un elevado contenido de vitaminas, provitaminas y minerales (Palada y Chang, 2003). Además, se ha demostrado que contienen todos los aminoácidos esenciales para la vida, incluyendo algunos como la arginina y la histidina, que se encuentran generalmente en proteínas de origen animal y que son muy importantes para el desarrollo de los infantes. Por esta razón, en la última década la FAO promovió un programa para el uso de moringa dirigido a la población infantil con altos índices de desnutrición y a las madres gestantes y lactantes (Fuglie, 2001). No obstante, debe señalarse que algunas fuentes en Internet reportan números exagerados para comparar esta planta con diferentes frutas y vegetales en cuanto al contenido de nutrientes.

El aceite de moringa es rico en ácido oleico y en tocoferoles (Anwar, Ashraf y Bhangar, 2005). Excepto por su menor contenido de ácido linoleico, dicho aceite presenta composición química y propiedades físicas que lo asemejan al de oliva. Se utiliza en el aderezo de ensaladas en Haití y otras islas del Caribe (Foidl, *et al.*, 2001), sin que se hayan reportado casos de efectos adversos, alergias o toxicidad (Ghazali y Mohammed, 2011).

También puede ser empleado en el mejoramiento de la estabilidad oxidativa de otros aceites. Durante la conservación, cocción y fritura de los aceites vegetales tradicionales ocurre el deterioro de sus cualidades nutritivas debido a reacciones colaterales de degradación del ácido linoleico (Warner y Knowlton, 1997). El ácido oleico, el cual es más resistente a la oxidación que el linoleico, está contenido en grandes cantidades en el aceite de *M. oleifera* (Martín, *et al.*, 2010); por eso, la adición de este a otros aceites permite obtener mezclas con propiedades mejoradas para el uso culinario sin que se afecten las propiedades nutricionales.

4.3 Usos medicinales de *M. oleifera*

En muchos países tropicales es difícil diferenciar entre usos alimenticios y medicinales de *M. oleifera*, ya que esta es utilizada tanto por sus cualidades nutricionales como por sus atributos médicos, los cuales son reconocidos desde hace milenios. En la India, la medicina ayurvédica contemplaba el uso de esta planta para prevenir, mitigar o curar «más de 300 enfermedades». Se dice que las hojas, frutos, raíces y semillas son útiles para combatir: anemia, ansiedad, asma, ataques de parálisis, bronquitis, catarro, cólera, congestión del pecho, conjuntivitis, deficiencia de esperma, déficit de leche en madres lactantes, diabetes, diarrea, disfunción eréctil, dolor en las articulaciones, dolores de cabeza, dolor de garganta, escorbuto, esguince, espinillas, falta de deseo sexual femenino, fiebre, gonorrea, hinchazón glandular, hipertensión arterial, histeria, impurezas en la sangre, infecciones cutáneas, llagas, malaria, otitis, parasitismo intestinal, picaduras venenosas, problemas de la vejiga y la próstata, soriasis, trastornos respiratorios, tos, tuberculosis, tumores abdominales, úlceras, etc.. Sus usos terapéuticos son practicados en varios países como Bangladesh, Egipto, Filipinas, Guatemala, India, Malasia, Myanmar, Nicaragua, Puerto Rico, Senegal, Sri Lanka, Tailandia y Venezuela, entre otros (Fuglie, 2001).

A pesar del profundo arraigo del uso de la moringa en multitud de remedios y tratamientos médicos en diferentes naciones, no todo está documentado en la literatura científica. El estudio de la química y la farmacología asociadas a sus atributos médicos es reciente y aún está en desarrollo. Y aunque muchos de sus beneficios terapéuticos han sido comprobados mediante rigurosas investigaciones *in vitro* e *in vivo* en modernos laboratorios, otros están pendientes de ser avalados por pruebas clínicas. A pesar de que en la red de redes se divulga la información sobre sus propiedades curativas, con frecuencia esta se basa en fundamentos empíricos sin hacer referencia a la literatura especializada. Además, una buena parte de la información procede de compañías que producen y/o distribuyen suplementos nutricionales y otros preparados de esta planta, por lo que su valor es más

bien publicitario. A continuación se discuten algunas de sus propiedades curativas que sí están confirmadas en la literatura científica.

4.4 Justificación fitoquímica de los efectos terapéuticos

Recientemente se ha demostrado la presencia, en *M. oleifera*, de importantes fitoquímicos responsables de sus propiedades curativas. En uno de los primeros estudios exhaustivos sobre la composición química de esta especie se reveló que es rica en varias sustancias muy peculiares, como glucosinolatos, isotiocianatos, flavonoides, antocianinas, proantocianidinas y cinamatos (Benett, *et al.*, 2003); también se incluyó la distribución de fitoquímicos en las distintas partes del árbol.

Varios de los compuestos identificados pueden considerarse nutracéuticos, ya que son útiles tanto en la nutrición como en la salud humana. Por ejemplo, el 4-(4'-O-acetil- α -L-ramnopiranosiloxi)-isotiocianato de bencilo, el 4-(α -L-ramnopiranosiloxi)-isotiocianato de bencilo, el isotiocianato de bencilo y el 4-(α -L-ramnopiranosiloxi)-glucosinolato de bencilo presentan actividad anticancerígena, hipotensiva y antibacteriana (Fahey, 2005). El alto contenido de vitaminas, minerales y otros fitoquímicos como vainillina, ácidos grasos omega, carotenoides, ascorbatos, tocoferoles, β -sitosterol, ácido octacosanoico, moringina, moringinina y fitoestrógenos también es un factor importante en los efectos terapéuticos de *M. oleifera* (Fuglie, 2001; Fahey, 2005; Singh, *et al.*, 2009).

4.5 Actividad antimicrobiana

El uso de *M. oleifera* para el control de diversas infecciones provocadas por microorganismos es bien conocido, y en años recientes se han generado resultados científicos que confirman su actividad antimicrobiana. Estudios *in vitro* han comprobado la actividad de diferentes partes de la planta sobre los microorganismos patógenos. La inhibición del crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* por extractos acuosos de las hojas fue demostrada por científicos guatemaltecos (Cáceres, *et al.*, 1991). Por otra parte, Chuang *et al.* (2007) demostraron la actividad antifúngica de aceites esenciales de las hojas y de extractos alcohólicos de las semillas y las hojas contra dermatofitos como *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes*. Además, se logró identificar 44 componentes de los aceites esenciales de las hojas que pueden ser utilizados en el desarrollo futuro de fármacos para el tratamiento de enfermedades cutáneas típicas de las áreas tropicales. (Chuang *et al.* 2007)

Estudios bacteriológicos demostraron la actividad antimicrobiana de los extractos de semillas de moringa, los cuales flocculan bacterias Gram positivas y Gram negativas del mismo modo que lo hacen con los coloides del agua. Su acción bacteriostática consiste en la disrupción de la membrana celular por inhibición de enzimas esenciales (Suárez, Entenza y Doerries, 2003). El principal ingrediente responsable de dicha actividad es el 4-(4'-O-acetil- α -L-ramnopiranosiloxi)-isotiocianato de bencilo, el cual tiene acción bactericida sobre varias especies patógenas, incluyendo aislados de *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Legionella* resistentes a antibióticos. La potencia de los isotiocianatos como antibióticos también quedó demostrada en un estudio con *Helicobacter pylori*, que es el causante de úlceras gástricas y duodenales (Fahey, 2005).

En una investigación muy reciente realizada en Kenya se demostró la actividad antimicrobiana de extractos de semillas de *M. oleifera* sobre las bacterias *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli*, causantes de la fiebre tifoidea, el cólera y la gastroenteritis, respectivamente (Walter, Peter y Joseph,

2011). Los autores de la presente reseña consideran que ese resultado puede tener un gran impacto, ya que se trata de agentes antimicrobianos naturales que constituyen un método barato y sostenible para el control de enfermedades y para mejorar la calidad de vida en comunidades pobres. Debe tenerse en cuenta que en muchas regiones rurales de los países subdesarrollados, debido al alto costo del cloro y otros desinfectantes, no se les practica ningún tratamiento a las aguas, lo que genera enfermedades provocadas por los microorganismos contaminantes.

4.6 Actividad antioxidante

La acumulación de radicales libres está asociada a la patogénesis de muchas enfermedades humanas. Los antioxidantes son sustancias capaces de retardar o prevenir la formación de radicales libres, y su uso en farmacología es estudiado de forma intensiva, particularmente como tratamiento para accidentes cerebrovasculares y enfermedades neurodegenerativas, así como en la prevención del cáncer y la cardiopatía isquémica. Las plantas contienen compuestos antioxidantes como los carotenoides, tocoferoles, ascorbatos y fenoles que pueden atenuar el daño oxidativo; ya sea de manera indirecta, al activar las defensas celulares, o directa, al eliminar los radicales libres (Ogbunugafor, *et al.*, 2011).

Las diferentes partes de *M. oleifera* contienen más de 40 compuestos con actividad antioxidante. Entre los compuestos con este potencial, ya sea por actividad de captación de radicales libres o por capacidad de formación de quelatos de iones metálicos identificados en las semillas de moringa, se encuentran compuestos fenólicos como el kaempferol y los ácidos gálico y elágico (Singh, *et al.*, 2009).

Estudios *in vitro* demostraron que los extractos de hojas, frutos y semillas de moringa, debido a sus propiedades antioxidantes, protegen las células vivas del daño oxidativo del ADN asociado con el envejecimiento, el cáncer y las enfermedades degenerativas (Singh, *et al.*, 2009); también se indicó que dichos extractos inhiben la peroxidación lipídica y el quorum sensing bacteriano, y se propuso a *M.*

oleifera como un candidato ideal para las industrias farmacéutica, nutracéutica y de alimentos funcionales. En otro estudio se reveló que la fracción extraída con acetato de etilo, la cual es rica en ácidos fenólicos y flavonoides, presenta el mayor poder antioxidante entre las fracciones extraídas con distintos disolventes (Verma, Vijayakumar, Mathela y Rao, 2009).

La actividad antioxidante de las hojas de moringa varía en dependencia de las condiciones agroclimáticas y estacionales (Iqbal y Bhangar, 2006). Las muestras de regiones frías de Pakistán presentaron mayor actividad antioxidante que las de regiones templadas de ese país, mientras que las colectadas en diciembre mostraron mayor actividad que las tomadas en junio.

Los extractos de semillas de *M. oleifera* pueden ser usados en terapias antioxidantes para disminuir la genotoxicidad del arsénico y otros metales pesados, cuyos mecanismos de acción carcinogénica están relacionados con especies reactivas de oxígeno. La acción antídota de las semillas de esta planta se demostró en experimentos con ratas de laboratorio previamente expuestas a arsénico (Gupta, Dubey, Kannan y Flora, 2007). Se comprobó que el polvo de tales semillas reduce la concentración de arsénico y protege contra las alteraciones hematológicas y el estrés oxidativo inducidos por ese metal, en lo que desempeñan un papel significativo varios fitoquímicos con poder antioxidante y quelatante. Los coagulantes naturales de la semilla de moringa, su alto contenido de aminoácidos como metionina y cisteína, y de antioxidantes como las vitaminas C y E, y β -caroteno son los responsables de la remediación del estrés oxidativo inducido por el arsénico (Flora y Pachauri, 2011).

4.7 *M. oleifera* en el tratamiento de aguas

El uso de *M. oleifera* en el tratamiento de aguas con el fin de purificarlas es una práctica antigua. En algunas fuentes de literatura popular se dice que este uso está recogido en el siguiente pasaje del Antiguo Testamento: "...no pudieron beber las aguas de Mara, porque eran amargas (...) Moisés clamó a Jehová, y Jehová le

mostró un árbol; y lo echó en las aguas, y las aguas se endulzaron (Éxodo 15:22-27). Independientemente de los atributos de la moringa y del valor teológico del mencionado pasaje bíblico, los argumentos para relacionarlos carecen de fundamento científico. Del mismo modo que no existen evidencias que demuestren que: "el árbol de la vida, que produce doce cosechas al año (...) sus hojas son para la salud de las naciones..." (Apocalipsis 22:2-3) sea otra mención a la moringa en las Sagradas Escrituras. Lo que sí es cierto es que sus semillas han sido utilizadas desde hace siglos en distintas regiones de Asia y África como un coagulante natural para la clarificación de aguas turbias (Jahn, 1988; Foidl, *et al.*, 2001).

4.8 Purificación de agua potable

La efectividad de las semillas de *M. oleifera* para la remoción de materias en suspensión contenidas en aguas turbias ha sido convincentemente demostrada (Jahn, 1988; Muyibi y Evison, 1995; Ndabigengesere, *et al.*, 1995). Además, se ha comprobado que la moringa no solo tiene propiedades coagulantes, sino también acción bactericida (Folkard y Sutherland, 1996), lo que avala su uso en la potabilización de agua. En una investigación realizada con aguas turbias del Nilo, en dos horas de tratamiento se logró hasta un 99,5 % de reducción de la turbidez y la eliminación de hasta el 99,99 % de las bacterias (Madsen, Schlundt y El Fadil, 1987).

Asimismo, se ha indicado que la acción coagulante es realizada por determinadas proteínas floculantes que han sido extraídas de las semillas de *M. oleifera* y caracterizadas por diferentes autores (Bhuptawat, Folkard y Chaudhari, 2007; Santos, *et al.*, 2009). Se trata de proteínas catiónicas divalentes con una masa molar de 13 kDa y puntos isoeléctricos entre 10 y 11 (Ndabigengesere, *et al.*, 1995). El mecanismo de coagulación está vinculado a la adsorción y neutralización de las cargas coloidales.

En opinión de los autores, el uso de las semillas de moringa para la purificación de agua es una opción económicamente atractiva para los países subdesarrollados,

teniendo en cuenta el alto costo de muchos coagulantes químicos. Además, algunos de ellos como el sulfato de aluminio (alumbre) pueden tener efectos adversos en la salud humana (Mendoza, Fernández, Ettiene y Díaz, 2000). La aplicación de la semilla al tratamiento de aguas genera menores volúmenes de lodo, en comparación con el alumbre (Ndabigengesere, et al., 1995).

La dosis de extractos de semilla requerida es similar a la de alumbre que normalmente se utiliza, pero si el tratamiento se realiza con proteínas purificadas y no con el extracto total, el efecto coagulante es mucho mayor. Teniendo en cuenta además que la moringa es biodegradable, no es tóxica, no afecta el pH ni la conductividad del agua, y el lodo producido por la coagulación es inocuo y poco voluminoso, puede considerarse un sustituto viable del alumbre. Aunque la no toxicidad de las semillas está confirmada, (Santos *et al.* 2009) sugieren tratar térmicamente el agua purificada para desnaturalizar la proteína lectina, que es un reconocido factor antinutricional.

Además de las investigaciones a nivel de laboratorio también se han realizado pruebas exitosas a escala piloto e industrial (Folkard, Sutherland y Grant, 1992). Sin embargo, no ha sido posible generalizar la aplicación debido a la fuerte competencia de los coagulantes comerciales. Por otra parte, el estricto control sanitario existente en muchos países restringe el uso de nuevos productos en el agua potable. Por eso, un primer paso en la generalización de los resultados podría ser la aplicación de extractos de semilla de *M. oleifera* en el tratamiento de aguas residuales (Bhuptawat, et al., 2007).

4.9 Usos no comestibles del aceite de *M. oleifera*

Usos tradicionales

El aceite representa entre el 22 y el 40 % del peso de las semillas de *M. oleifera* (Abdulkarim, *et al.*, 2005) y contiene alrededor de un 70 % de ácido oleico. Además de los usos comestibles discutidos anteriormente, su aceite conocido comúnmente como "aceite de ben" recibe diversos usos no comestibles, muchos

de los cuales se remontan a las civilizaciones clásicas de la Antigüedad y están relacionados con sus particulares propiedades físicas y químicas (Martín , *et al.*, 2010).

Este aceite tiene la propiedad de absorber y retener fragancias florales, lo que lo hace muy apropiado para la industria de perfumería y la de cosméticos. En el Antiguo Egipto el aceite de moringa se usaba en la preparación de perfumes, cremas de belleza, ungüentos sagrados, protectores de la piel contra infecciones, repelente contra insectos, humectante y acondicionador de la piel y el cabello (Deon, 2006). Las civilizaciones griega, etrusca y romana también lo usaron con los mismos fines (Forbes, 1955). En la industria cosmética moderna, se utiliza en la fabricación de jabones y perfumes (Ghazali y Mohammed, 2011), como humectante y para el cuidado del cabello (Kleiman, Ashley y Brown, 2008). Durante mucho tiempo fue muy bien valorado como lubricante de relojería y maquinaria de precisión (Ramachandran, *et al.*, 1980), y también se ha reportado su uso en la iluminación debido a que arde sin humo.

Producción de biodiesel

M. oleifera, por ser una planta de crecimiento rápido, resistente a la sequía y con un alto rendimiento de aceite, es una excelente opción para la producción sostenible de biodiesel en países con tierras áridas. En un estudio de las plantas oleaginosas con potencial para producir biodiesel en África, esta especie con un rendimiento anual de tres toneladas de aceite por hectárea resultó la segunda más prometedora, por encima de *Jatropha curcas* y superada solo por *Croton megalocarpus* (Kibazohi y Sangwan, 2011).

Investigaciones recientes han demostrado el potencial del aceite de moringa para la producción de biodiesel (Rashid, *et al.*, 2008; Silva, *et al.*, 2010). Las propiedades de productos de la transesterificación de dicho aceite, tales como: densidad, viscosidad cinemática, lubricidad, estabilidad oxidativa, índice de cetano y punto de enturbiamiento, cumplen con los estándares internacionales para su uso como combustible. Recientemente se reportó la optimización de las condiciones de

transesterificación alcalina del aceite de *M. oleifera* para la producción de biodiesel (Rashid, *et al.*, 2011).

4.10 Utilización de las cascarillas de las semillas y las vainas secas de *M. oleifera*

Si se industrializara la extracción del aceite de *M. oleifera* y el aprovechamiento de la torta de prensado, se generarían grandes cantidades de residuos sólidos formados por las cascarillas de la semilla y las vainas secas del fruto. Una posible aplicación de las cascarillas es en la producción de carbón activado. En investigaciones sobre la carbonización, seguida de su activación al vapor, se obtuvieron carbones con una estructura microporosa altamente desarrollada y una elevada área específica (Pollard, Thompson y McConnachie, 1995). También se ha evaluado la pirólisis al vapor en una sola etapa, lo que hace que los carbones posean una mayor capacidad adsorptiva que aquellos producidos por el método convencional de carbonización-activación en dos etapas (Warhurst, McConnachie y Pollard, 1997). En ambos casos, los carbones mostraron un comportamiento comparable al de los carbones activados comerciales, y su producción representaría ahorro de recursos en la importación. Otro posible uso de las cascarillas es en la producción de resinas de intercambio aniónico (Orlando, *et al.*, 2003).

Se ha observado que su contenido de polisacáridos es relativamente alto y los glucanos representan el 28 % en las cascarillas (Martín, *et al.*, 2010) y el 32 % en las vainas (Martín, C. y Puls, inédito). El alto contenido de glucanos, comparable con el de otros biorrecursos lignocelulósicos (Martín, López, Plasencia y Hernández, 2006), incentiva el interés hacia estos materiales como posibles sustratos para la producción de etanol o de otros productos de la bioconversión de la glucosa. Para ello es necesario hidrolizar los polisacáridos para obtener azúcares fermentables. En experimentos preliminares se demostró que los glucanos presentes en las vainas (Hernández, *et al.*, 2010) se hidrolizan con mayor facilidad que los de las cascarillas (Martín, *et al.*, 2008), lo que se puede atribuir al mayor contenido

de lignina en estas últimas. Si se tiene en cuenta, además, que la vaina representa el 64 % del peso del fruto, se resalta el considerable potencial de ese material para la producción de etanol.

4.11 Estudios *in vitro* con extractos vegetales

De 18 extractos vegetales evaluados sobre el desarrollo de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc. sólo los de ajo (*Allium sativum* L.), acuyo (*Piper auritum* HBK.), guayaba (*Psidium guajava* L.) y eucalipto blanco (*Eucalyptus globulus* Labill.) redujeron significativamente el crecimiento micelial en 54.3, 48.8, 47.7 y 39 %, respectivamente (Baños, *et al.*, 2004).

La actividad fungistática difiere entre los extractos acuosos y los polvos. También se ha evidenciado un efecto fungistático selectivo que depende de la especie de planta y del patógeno. El guamúchil [*Pithecellobium dulce* Roxb. Benth. (Fabaceae)] fue la especie botánica más sobresaliente en detener el desarrollo de los hongos *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Pestalotia* spp. y *Rhizopus* spp. Otras especies con buena actividad antifúngica fueron chicozapote (*Achras sapota* L), chimoya, zapote blanco (*Casimiroa edulis* Llav. et Lex), limón (*Citrus limon* L.), tejojote (*Crataegus mexicana* Moc. et Sess), papaya (*Carica papaya* L.), guayaba, aguacate (*Persea americana* Mill.) y ciruela mexicana (*Spondias purpurea* L.) (Bautista, *et al.*, 2000a).

La aplicación *in vitro* de polvos y extractos de guamúchil causó inhibición del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* Pers.Fr., inhibición que varió de 50 a 78 % en función del órgano de la planta y de la época de cosecha en la que se obtuvieron las hojas para elaborar los extractos (Bautista, *et al.*, 2003a). Análisis preliminares mediante resonancia magnética nuclear indicaron la presencia de un triacil glicerol en la fracción más activa de extractos de guamúchil (Barrera, *et al.*, 2002). Esta

especie vegetal se considera promisorio para controlar enfermedades postcosecha causadas por diversos hongos fitopatógenos de productos hortofrutícolas. De forma similar, al evaluar estos extractos sobre *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Penicillium digitatum* Lind. y *R. stolonifer* Ehrenb. (Ex Fr.) Lind, se encontró que los extractos acuosos por sí solos tuvieron un ligero efecto sobre la inhibición micelial, y que los extractos de semilla de papaya sólo mostraron efecto sobre la esporulación; sin embargo, al combinarse con quitosano el efecto mejoró (Bautista, *et al.*, 2004a).

Los extractos crudos de *Allium* y *Capsicum* afectaron totalmente la germinación de esporas de *B. cinerea*. Asimismo, los extractos de nogal negro (*Juglans nigra* L.), liquidámbar (*Liquidambar styraciflua* L.), *Matricaria* spp., durazno (*Prunus persica* L.), peral (*Pyrus communis* L.) y tejo inglés (*Taxus canadensis* Marsh.) inhibieron la germinación entre 90 y 99 % (Wilson, *et al.*, 1997). Otros estudios con extractos de sábila (*Aloe vera* L.) también resultaron positivos al inhibir la germinación de esporas de *B. cinerea* en 95 % y el crecimiento micelial en 68 % (Saks y Barkai, 1995). Los extractos de ajedrea (*Santureja hortensis* L.) tuvieron un efecto fungicida en todas las dosis evaluadas, sobre *Alternaria mali* Roberts y *B. cinerea* (Boyratz y Ozcan, 2006).

La germinación de conidios de *Penicillium expansum* Link. Se inhibió totalmente con derivados semipuros o crudos de chile (*Capsicum frutescens* L.), en todas las concentraciones evaluadas (Bautista, *et al.*, 2004b). Los extractos de hojas de 19 especies vegetales inhibieron más la esporulación y la germinación de esporas de *R. stolonifer* que al desarrollo micelial (Bautista, *et al.*, 2000b).

El contenido de alcaloides presentes en semillas de tres especies de *Lupinus* spp. no resultó directamente proporcional al efecto fungicida sobre el crecimiento micelial de *Sclerotium rolfsii* Sacc, *Alternaria solani* Sorauer, *Rhizoctonia solani* Kuhn y *F. oxysporum*. El extracto de *Lupinus exaltus* Zucc (Fabaceae) mostró la mayor actividad fungicida (Bernal, *et al.*, 2005).

4.12 Fitoquímica

Es un método que se ha desarrollado para la detección de los diferentes constituyentes químicos, basados en la extracción de estos con solventes apropiados en la aplicación de pruebas de coloración.

Un análisis fitoquímico tiene como objetivo determinar los metabolitos secundarios presentes en la especie vegetal a evaluar, aplicando una serie de técnicas de extracción, de separación, purificación y de determinación estructural.

4.13 Metabolitos secundarios.

Las sustancias producidas por las plantas pueden dividirse en dos categorías, metabolitos primarios y metabolitos secundarios. Los primeros son compuestos que están dispersos ampliamente en la naturaleza y de una forma u otra lo poseen todas las especies vegetales; son requeridos para el desarrollo fisiológico puesto que tienen un rol en el metabolismo celular básico, son compuestos económicos comercialmente y son usados como materia prima, alimentos o aditivos para éstos. Los secundarios son compuestos biosintéticamente derivados de los primarios pero más limitados en su distribución entre plantas, restringiéndose a ciertos grupos taxonómicos; no parece que tengan una función en el metabolismo prima-

rio de la planta (Balandrin , et al., 1985), juegan más bien un papel ecológico muy importante en la adaptación de las plantas al medio ambiente (Mulubagal & Tsay, 2004) ya se actuando como mecanismo de defensa contra microorganismos, insectos, depredadores y otras plantas (alelopatía) o como sustancias de reserva de energía, precursores de importantes compuestos orgánicos o fuentes de nitrógeno que puedan ser recirculados en la planta (Seigler, 1998), permitiendo una respuesta química a situaciones de estrés causadas por la reducción de nutrientes o por condiciones ambientales adversas.

Los metabolitos secundarios se acumulan en pequeñas cantidades en la planta y tienden a ser sintetizados en células especializadas en distintas etapas del desarrollo lo cual hace que su extracción y purificación sea bastante compleja y por consiguiente su costo final, para la implementación en las diferentes industrias, por el momento sea elevado (Balandrin, et al., 1985).

La clasificación de los metabolitos secundarios en plantas se basa principalmente en sus rutas biosintéticas y se consideran entre 3 y 4 grandes familias o grupos de moléculas: fenoles, terpenos, esteroides y alcaloides (Bourgaud, et al., 2001; Bernards, 2000). Los metabolitos secundarios son compuestos químicos de estructura relativamente compleja y de distribución más restringida.

4.14 Generalidades de *Fusarium*

El género *Fusarium* es el agente causal del marchitamiento vascular, enfermedad que afecta a una gran variedad de cultivos tales como: ajo, algodón, arveja, banano, brócoli, calabacita, cebolla, chile, fresa, linaza, melón, ornamentales, clavel, crisantemo, gladiolos, tulipanes, repollo, tomate económicamente importantes alrededor de todo el mundo (Ortodena, , et al., 2004; Groenewald, 2006). Las especies de *Fusarium* están ampliamente distribuidas en

los suelos y sustratos orgánicos, por ejemplo, han sido aislados desde el permafrost en el Ártico hasta de las arenas de Sahara (Calle, 2005). El gran número de especies y poblaciones no identificadas en este género se debe al alto grado de variación en sus características morfológicas y fisiológicas, y esto explica la capacidad que tiene *Fusarium* para colonizar variados nichos ecológicos en distintas áreas geográficas (Díaz de Castro, *et al.*, 2007).

4.15 **Fusarium**

Fusarium crece rápidamente en agar papa dextrosa a 25 ° C, produciendo un micelio algodonoso e incoloro al principio, pero conforme madura adquiere un color crema o amarillo pálido, rojo o púrpura (Díaz de Castro, *et al.*, 2007). Este patógeno produce un micelio septado hialino que produce tres tipos diferentes de esporas asexuales. Los microconidios son producidos en el micelio aéreo solo o en cadenas, tiene de una a dos células y son las esporas que el hongo produce con mayor frecuencia y abundancia en todas las condiciones. Estas esporas son las que el hongo forma con más frecuencia en el interior de los vasos de las plantas infectadas (Díaz de Castro, *et al.*, 2007). El género *Fusarium* puede desarrollar tres formas conidiales: microconidias, generalmente filiasporas, macroconidios septados, así como clamidosporas globosas con paredes gruesas, solitarias o en cadena (Holliday, 1980).

Los reportes de *Fusarium* spp, afectando a plantas ha sido mencionado en gran parte del mundo, perturbando a una gran variedad de cultivos como algodón, ajo, arveja, banano, brócoli, calabacita, cebolla, chile, fresa, linaza, melón, ornamentales, clavel, crisantemo, gladiolos, tulipanes, repollo, tomate.

Económicamente este patógeno es importante alrededor de todo el mundo (Ortodena, *et al.*, 2004; Groenewald, 2006; Sanabria, *et al.*, 2002; Agrios, 2005). Las pérdidas provocadas por la enfermedad llamada pudrición basal causada por el patógeno *Fusarium* spp pueden alcanzar hasta el 40% en condiciones específicas. El hongo puede causar la pudrición de la semilla aunque en plantas adultas los primeros síntomas pueden observarse como deformaciones, amarillamiento y necrosis de las hojas (Velásquez, 2004; Amador, 2009). Este patógeno ya ha sido reportado afectando a plantas de ajo en México con anterioridad en los estados de Guanajuato, Zacatecas y Aguascalientes. En tanto se reportó una nueva sintomatología de este patógeno en Aguascalientes afectando el cultivo de ajo (Velásquez y Medina, 2004a).

En Guanajuato se ha mencionado *F. oxysporum* como agente causal de pudrición del bulbo. Esta enfermedad ha sido reportada en todas las áreas productoras de ajo en el mundo; en México su presencia se ha indicado previamente en los estados de Puebla y Guanajuato (Delgadillo, 2000; Alvarado, 1987). *F. oxysporum* puede ser transportado por la semilla, partículas del suelo, restos infectados del cultivo así como el agua excedente del riego. Las plantas afectadas por la enfermedad se pueden encontrar formando manchones bien definidos en el campo, amarillamiento y muerte regresiva de las puntas de las hojas, mostrando raíces de color café o rosa oscuro con crecimiento de micelio blanco en la base de los bulbos. Se sabe que las razas de este patógeno que atacan al ajo no son capaces de dañar a las plantas de cebolla; sin embargo sí son capaces de afectar a cultivos de cereales. El hongo se transmite por diente-semilla de ajo; en el suelo sobrevive indefinidamente en forma de clamidospora. La temperatura óptima para su desarrollo va de 25 a 28°C. (Velásquez y Medina, 2005; Delgadillo, 2000).

Además se ha observado que los bulbos de las plantas afectadas, no alcanzan a diferenciar completamente sus “dientes” aun cuando los bulbos alcanzan un

tamaño normal. Al ser presionados con la mano, los bulbos afectados tienen una consistencia esponjosa, por lo que se les conoce como “ajos de hule”. En Aguascalientes, este síntoma se ha observado con mayor frecuencia hacia la época de cosecha (Velásquez y Medina, 2004b).

F. proliferatum ha causado enormes pérdidas en la agricultura debido a su amplia variedad de hospederos. Este patógeno tiene importancia económica ya que se ha encontrado afectando a cultivos como el arroz, maíz, plátano, sorgo, espárrago, pinos, palmeras, cebolla (Leslie y Summerell, 2006; Galván, *et al.*, 2008). Este patógeno se encontró afectando a ajo en el noreste de los Estados Unidos, (Dugan, *et al.*, 2007), Egipto (Galand, *et al.*, 2002), Polonia, Serbia (Stankovic, *et al.*, 2007; Stepien, *et al.*, 2011) y recientemente en India (Ravi-Sankar, 2012), España (Palmero, *et al.*, 2012) y en México (Ochoa, *et al.*, 2013). También es posible que este patógeno puede afectar a plantas de ajo durante su crecimiento en campo (Stankovic, *et al.*, 2007).

Aunque se han logrado avances en la identificación de muchos hongos, aún existen dificultades para el adecuado reconocimiento de ciertos géneros y especies de este grupo de organismos. En Aguascalientes, México zona productora importante de ajo se han logrado identificar tres especies de *Fusarium* afectando a semillas de ajo, reportando a *F. verticillioides*, *F. oxysporum* y *F. proliferatum* este último es el primer reporte que se registra en México ya que este patógeno se ha encontrado afectando al género *Allium* en otras partes del mundo (Ochoa, *et al.*, 2012; Ochoa, *et al.*, 2013). Para *F. verticillioides* es más frecuente la afectación en cereales aunque en Aguascalientes, México se reporta a este patógeno en semillas de ajo (Ochoa, *et al.*, 2012)

Seefelder *et al.* (2002) indican la producción de micotoxinas en bulbos de ajo en Alemania. Se atribuye ser el principal origen de fumonisis en alimentos y sus derivados debido a la presencia de *F. verticillioides* y *F. proliferatum*.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

En este capítulo se describe la ubicación del experimento que se realizó, material de laboratorio, material vegetal: raíz de moringa, hongos Fito patógenos (*Fusarium oxysporum*; aislado de papa y de Jamaica), productos utilizados y métodos empleados.

5.1 Localización del experimento

Sitio de estudio: el experimento se realizó en las instalaciones de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en el laboratorio de Biotecnología de la facultad, en Escobedo, Nuevo León, México.

5.2 Material de laboratorio

Se identificaron y se utilizaron los siguientes materiales e instrumentos de laboratorio: Micropipetas, morteros, tubos de centrifuga, balanza analítica, microscopio electrónico, centrifuga, mechero, cajas Petri, micro tubos estériles, papel estéril, agujas de disección, barrilla, vasos de precipitado, jeringas, un sacabocados estéril, varilla de cristal, guantes estériles, recipientes entre otros.

5.3 Material vegetal

Para este experimento se utilizó la raíz de moringa, es un tipo de raíz pivotante carnosa en la imagen 1 se observa cómo es la estructura de esta raíz.



Figura 1. Raíz y hoja de moringa

5.4 Extracto de moringa

En la balanza analítica se pesó la raíz de moringa la cual peso 15.400 g, en seguida se molió en un mortero agregándole 30 ml de agua procurando macearla hasta homogeneidad. La mezcla se refrigeró, durante 30 minutos. Después del periodo de incubación la mezcla fue sometida a centrifugación a 10,000 x g por 10 min. Se recuperó el sobrenadante clarificado y se descartó la pastilla como se muestra en el siguiente diagrama:

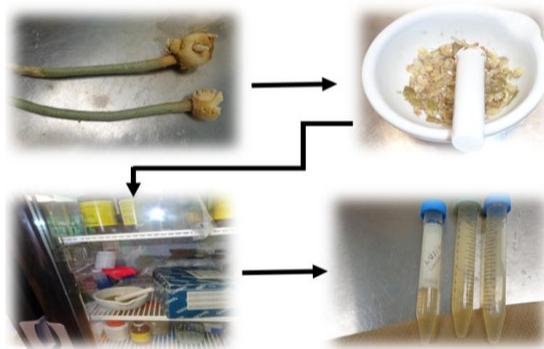


Figura 2. Diagrama para la obtención del extracto de moringa

5.5 Centrifugación

Se colocaron los tubos en la centrifuga durante 20 minutos esta técnica fue utilizada para separar las pequeñas partículas que estuvieran contenidas en el extracto.

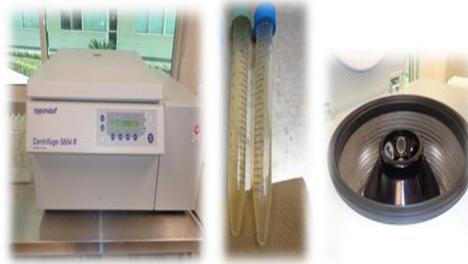


Figura 3. Centrifugación

5.6 Clarificado

Se utilizó esta técnica de clarificado para que el extracto no contuviera ninguna posible partícula. Una vez que el extracto fue sacado de la centrifuga se vació a microtubos y estos se colocaron en una centrifuga pequeña con una aceleración más rápida y así obtener un extracto más clarificado.



Figura 4. Clarificado.

5.7 Activación de las cepas de hongos

Los hongos fitopatógenos utilizados correspondieron a dos cepas de *Fusarium oxysporum* (un aislado en papa y un aislado en cultivo de Jamaica), lo cuales fueron activados en cajas de Petri con medio Papa –Dextrosa-Agar (PDA) previo a los ensayos.



Figura 5. Hongo *Fusarium oxysporum*

5.8 Preparación del medio de cultivo PDA.

El medio de cultivo PDA fue preparado de acuerdo a las instrucciones del fabricante, siguiendo una proporción de 20 g/L en agua destilada, el cual fue clarificado mediante calentamiento para lograr una homogeneización y luego fue distribuido en matraces de 250 ml. El medio se esterilizó en una autoclave a 120 ° C, 1 kg de presión por 20 min, y luego se dejó enfriar. Una vez que estuvo tibio se vació en cajas de Petri desechables en condiciones asépticas.



Figura 6. Medio de cultivo PDA

5.9 Fitoquímica

Para la detección de algunos metabolitos secundarios se realizó una marcha fitoquímica general, para lo cual se prepararon las siguientes soluciones:

5.9.1 Identificación de Polifenoles

Para la detección de polifenoles se empleó una solución de cloruro férrico al 1%. De la cual se agregaron unas cuantas gotas al extracto a evaluar, si la coloración cambió de verde, café o negro el resultado se consideró positivo. Otra de las formas para detectar compuestos fenólicos fue mediante la solución de permanganato de potasio al 0.2%, la cual varía de color rosa a verde o amarillo cuando está en presencia de dichos compuestos. El procedimiento de evaluación es colocar unas gotas en el extracto a evaluar, y si hay cambio de color se considera positivo.

5.9.2 Identificación de Taninos

Para la detección de taninos se empleó la reacción de precipitación de gelatina en la cual se emplearon las soluciones de:

- Gelatina al 2% + 100 mL de agua
- Gelatina al 2% + NaCl 1% + agua

A estas soluciones se le agregaron gotas del extracto de moringa si se presenta una coagulación de las gotas del extracto en esas soluciones el resultado se considera positivo.

5.9.3 Identificación de Saponinas

Para la detección de saponinas se empleó el índice de espuma, en el cual el extracto es mezclado con agua hirviendo, se dejó secar y luego se agitó para observar la formación de espuma. Si la espuma tubo un grosor mayor a 5 mm y un tiempo de duración de 10 min la reacción se consideró como positiva.

5.10 Ensayo de los hongos y numeración de las cajas Petri.

En ocho cajas Petri que se obtuvieron con el medio de cultivo se les colocaron 60 μ l del extracto de raíz de moringa en cada una de las 4 cajas y 120 μ l en las otras 4 respectivamente, todo esto se hizo cerca de dos mecheros para así evitar que se contaminaran, también en 4 cajas se les colocó 60ml de agua utilizando este como control y se enumeraron para después identificarlas.

Una vez obteniendo los hongos *Fusarium oxysporum* (aislado en papa y aislado en Jamaica) se inocularon en las cajas Petri que ya contenían el extracto de raíz de moringa y se dejaron a esperar los resultados midiendo el crecimiento de estos.

Se realizó la evaluación del extracto para determinar los efectos en el crecimiento de los hongos fitopatógenos, se presentaron tres tratamientos, un tratamiento control, un tratamiento 1, el cual consistió en agregar 60 μ l de extracto en la superficie del medio PDA solidificado, mismo que fue extendido y se permitió que se absorbiera previo a la inoculación con el hongo. Y el tratamiento 2, el cual incluyó la adición de 120 μ l de extracto el cual fue esparcido de la misma forma que en el tratamiento anterior. Una vez que las placas de Petri tratadas con el control y las alícuotas de extracto estuvieron listas se procedió a una inoculación con explantes de 4 mm de diámetro que fueron obtenidas de cultivos activos de *F. oxysporum*. El explante se colocó en el centro de la caja Petri y se dejó incubar a temperatura ambiente y cada 24 h se registró el crecimiento de diámetro a partir del explante inoculado.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Se obtuvo un extracto de moringa el cual se utilizó para evaluar el posible efecto anti fúngico sobre el hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* (aislado en papa y aislado en Jamaica), como se muestra en la siguiente imagen:



Figura 7. Extracto de moringa

6.1 Fitoquímica.

En las soluciones realizadas respectivamente para la detección de metabolitos secundarios presentaron los siguientes resultados:

6.1.1 Detección de polifenoles

Resultado: positivo.

El resultado se considera positivo ya que hubo cambio de color a café oscuro cuando las soluciones se mezclaron.



Figura 8. Detección de polifenoles

Los polifenoles son un tipo de producto químico natural en las plantas. Ellos son parte de un grupo más amplio de compuestos, denominado antioxidantes, que funciona para prevenir el daño celular en el cuerpo. A diferencia de las vitaminas y minerales, los polifenoles no son esenciales para la nutrición humana, sin embargo, crece la evidencia de que estos compuestos juegan un papel importante en el logro de una salud óptima y la prevención de enfermedades.

6.1.2 Detección de taninos.

Resultado: positivo

Porque al colocar gotas del extracto de moringa con las soluciones de gelatina se presentó una pequeña coagulación de este en las soluciones.



Figura 9. Detección de taninos

Los taninos son sustancias polifenólicas presentes en gran número de plantas producto del metabolismo secundario. Su carácter hidrosoluble permite que sea de fácil extracción y de utilidad en diversos usos en la industria química y farmacéutica

6.1.3 Detección de saponinas.

Resultado: positivo

Al colocar una cierta cantidad del extracto en agua hirviendo y al agitar esta solución se forma una espuma la cual midió 6mm y esta espuma tuvo una duración de 10 minutos por lo cual se consideró positivo.

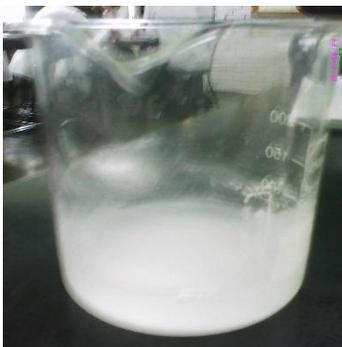


Figura 10. Detección de saponinas

Las saponinas son un grupo de glucósidos oleosos, los cuales son solubles en agua produciendo espumosis cuando las soluciones son agitadas.

Las contienen plantas muy diversas, entre ellas el abrojo, la saponaria o jabonera, el castaño de Indias y muchas otras. Estos principios activos están relacionados con las esterinas vegetales, su carac-

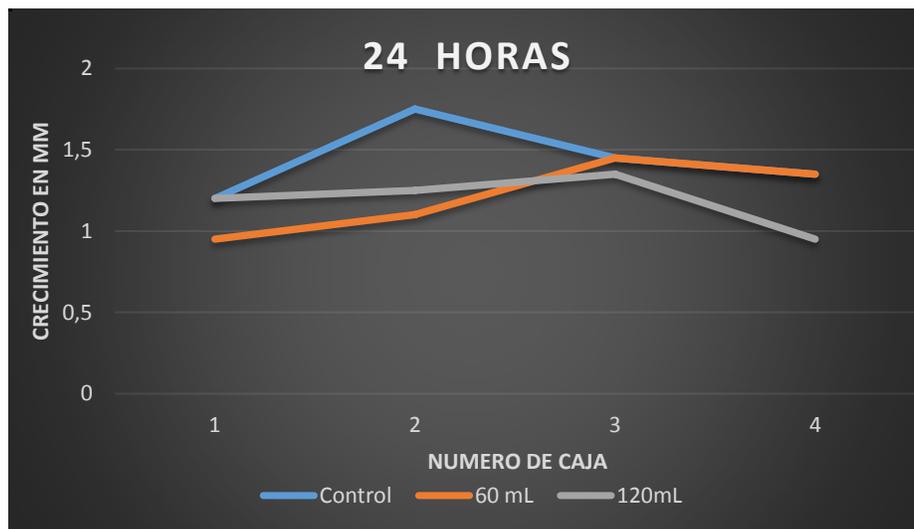
terística principal es la de contener muchos grupos hidroxilos y uniones de tipo éter y lactónicas.

Son metabolitos secundarios vegetales que tienen un interés farmacológico por sus acciones terapéuticas.

6.2 Detección de actividad antifúngica.

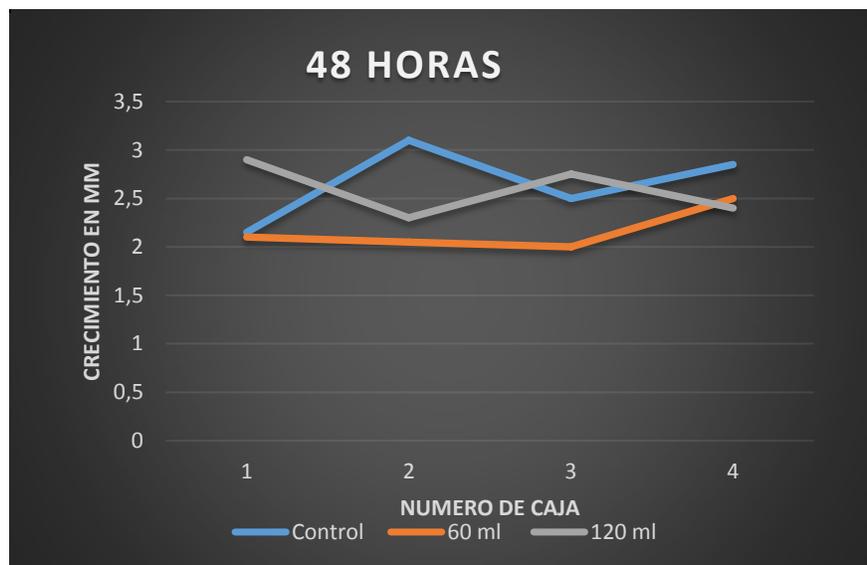
En las siguientes graficas se muestra el control y evaluación del crecimiento del explante del hongo *Fusarium oxysporum* contenido en las diferentes cajas Petri las cuales ya contenían agua para el control y 60 y 120 ml del extracto de moringa.

Grafica 1. Medición a las 24 horas



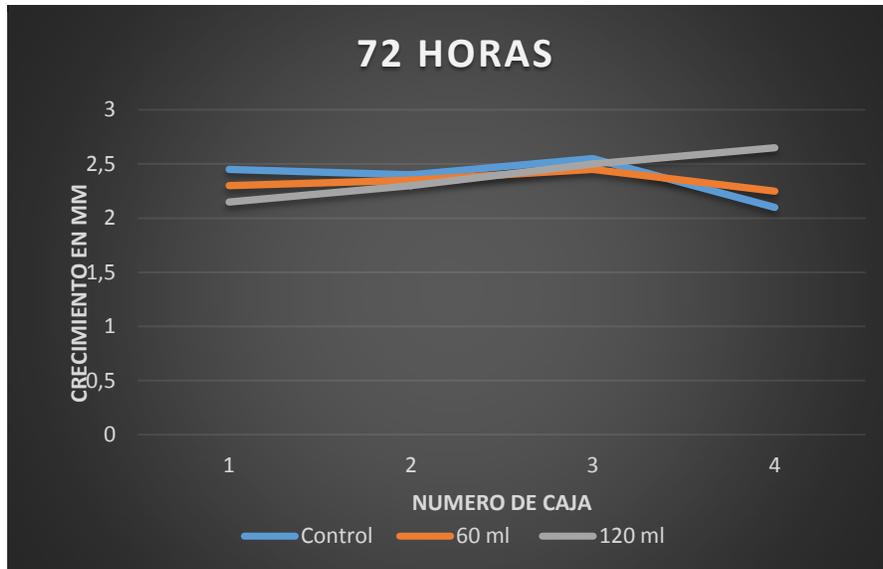
En esta gráfica podemos observar que el crecimiento del hongo fue menos colocando 60ml del extracto en el medio PDA.

Grafica 2. Medición a las 48 horas



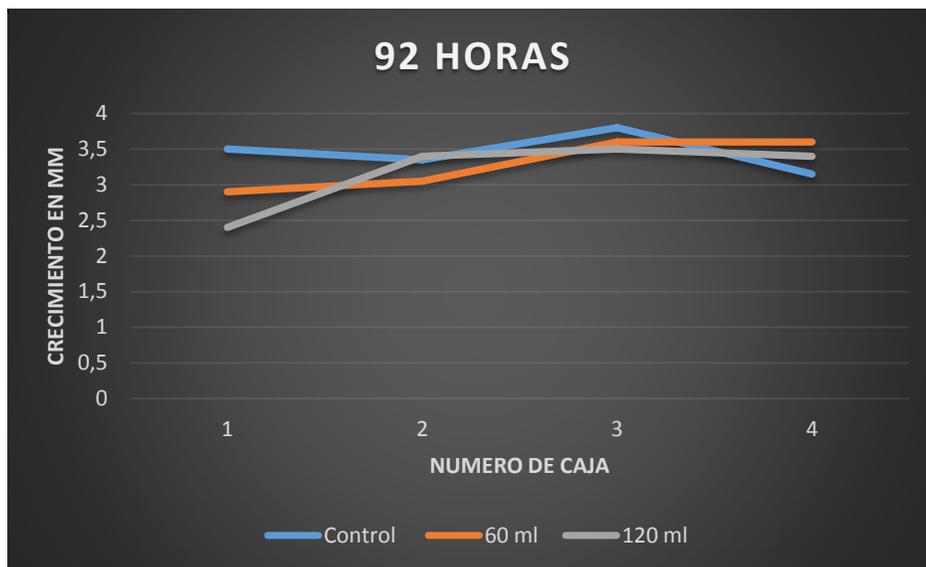
Esta gráfica muestra como el crecimiento del hongo reduce cuando contiene el medio PDA 60 ml del extracto se ve considerablemente que si hay un menor crecimiento.

Grafica 3. Medición a las 72 horas



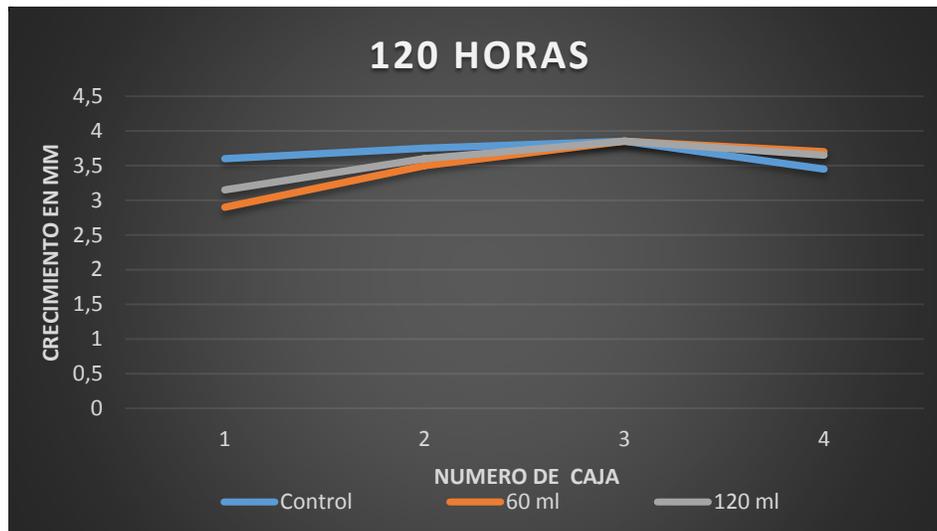
La gráfica muestra que hubo un crecimiento significativo a las 72 horas ya que no hay mucha variación en las mediciones.

Gráfica 4. Medición a las 96 horas



La gráfica muestra un crecimiento un poco más alto para el control y para la alícuota que contiene 120 ml, entonces podemos interpretar que al utilizar 60 ml existe inhibición del crecimiento del hongo.

Grafica 5. Medición a las 120 horas



Esta grafica muestra ya como el crecimiento del hongo no varía mucho.

VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Con la evaluación del efecto fúngico del extracto de raíz de moringa se llegó al resultado que si inhibe el crecimiento presentando un efecto fungistático porque impido la actividad del hongo; es decir solo en presencia del extracto se redujo el crecimiento mical de *Fusarium*.

Con los os resultados mediante la realización fitoquímica muestran alguna probable identificación de metabolitos secundarios aunque sabemos que es importante realizar más experimentos en la planta porque no hay variedad de información que muestren la identificación de algunos componentes como los encontrados en esta investigación, pero es importante mencionar que los polifenoles son importantes para la fisiología de las plantas pues contribuyen a la resistencia de microorganismos e insectos y ayudan a preservar su integridad por su continua exposición a estresantes ambientales, incluyendo radiaciones ultravioletas y relativamente altas temperaturas, además que los polifenoles actúan como antioxidantes con esto podemos demostrar que la planta contiene alguno de estos y de los muchos otros

beneficios. Así también con la identificación de taninos y saponinas se puede señalar que estos compuestos son de gran utilidad para la salud humana ya que pueden prevenir algunas enfermedades.

Este trabajo puede ser utilizado para investigaciones a futuro ya que si existen trabajos en los cuales se utilizan extractos de plantas para evaluar propiedades anti fúngicas. Según la revisión de literatura se utilizó el guamúchil haciendo un extracto para detener el desarrollo de *Fusarium*.

Sin embargo es necesario investigar más para determinar su efecto una vez que este hongo esté presente en alguna planta o también de acuerdo a su etapa de desarrollo. También es necesario aislar e identificar los compuestos activos que presentan las plantas, y considerar los cambios moleculares, morfológicos y bioquímicos que estos compuestos causan sobre el hongo fitopatógeno.

Moringa es un cultivo con grandes beneficios, por lo que es una alternativa como sistema productivo ya que se utiliza la mayor parte de esta planta para obtener productos que benefician a la sociedad.

La relación beneficio- costo se considera que si por planta se obtiene una determinada cantidad de raíces de moringa y después realizar extractos puede generar beneficios como el que se obtuvo en esta investigación, aunque no podemos demostrar cantidades y precios, se sabe que es una alternativa de cultivo en México que puede generar ingresos favorables y no solo utilizando la raíz si no todas las partes de ella desde la semilla, hoja, tallo etc.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abdulkarim, S.M. 2005. Some physico-chemical properties of *Moringa oleifera* seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods. *Food Chem.* 93:253.
2. Abou-Jawdah Y, H Sobh, A Salameh (2002) Antymicotic activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon, against phytopathogenic fungi. *J. Agric. Food Chem.* 50:3208-3213.
3. Agrios, G. 2005. Plant pathology. Fifth Edition. Amsterdam. Elsevier Academic Press. P 992.
4. Alvarado, M. S. 1987. Estudio de las enfermedades fungosas del ajo (*Allium sativum* L.) en Zacatlán, Puebla. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México. 53 p.
5. Anwar, F.; Ashraf, M. & Bhanger, M.I. 2005. Interprovenance variation in the composition of *Moringa oleifera* oil seeds from Pakistan. *J. Am. Oil Chemists Soc.* 82:45. Balandrin, M., Klocke, J., Wurtele, E., & Bollinger, W. (1985). Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. *Science.* 228(4704), 1154–60.
6. Bautista S, E Garcia D, L Barrera N, R Reyes C, C L Wilson (2003a) Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamuchil (*Pithecellobium dulce*): action against *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit. *Postharv. Biol. Technol.* 29:81-92.
7. Bautista S, L Barrera N, L Bravo L, K Bermúdez T (2002a) Antifungal activity of leaf and stem extracts from various plant species on the incidence of *Colletotrichum gloeosporioides* of papaya and mango fruits after storage. *Rev. Mex. Fitopatol.* 20:8-12.
8. Bhuptawat, H.; Folkard, G.K. & Chaudhari, S. . 2007. Innovative physico-chemical treatment of wastewater incorporating *M. oleifera* seed coagulant. *J. Hazardous Mat.* 142:477.
9. Cáceres, A. 1991. Pharmacological properties of *M. oleifera*. 1: Preliminary screening for antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacology.* 33:213.

10. Calle B. J. 2005. Caracterización Morfológica y Molecular de Hongos Fitopatogenos de Suelo e Identificación de Bacterias Foliarens en el Cultivo de la Cebolla. Tesis de Maestría. UPRM. Mayagüez, Puerto Rico. P. 6. Universidad de Puerto Rico Recinto Universitario de Mayagüez.
11. Conabio (1998) La diversidad biológica de México. "Estudio de país". Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx>. (20 de abril de 2006).
12. Cowan M.M. (1999) Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*10: 564-582.
13. Delgadillo, S. F. 2000. Enfermedades: descripción y tratamiento. El ajo en México. Origen, mejoramiento genético, tecnología de producción. Libro Técnico Núm. 3. Comps. E. Heredia G. y F. Delgadillo S. Campo Experimental Bajío-INIFAP. León, Gto. Méx. P 102.
14. Deon, M.G. 2006. Historia de la cosmética natural. *Revista Crecimiento Interior*. 94:2.
15. Díaz de Castro, F. J.; Restrepo, M. A.; Rojas, W. 2007. Microbiología de las infecciones en plantas. Primera edición. Corporación para las investigaciones Biológicas. Medellín Colombia P 102-105.
16. Dugan F.M., B.C Hellier and S.L. Lupien, 2007. Pathogenic Fungi in Garlic Seed Cloves from the United States and China, and Efficacy of Fungicides against Pathogens in Garlic Germplasm in Washington State. *Journal of Phytopathology* 155 437–445.
17. Fahey, J. 2005. *Moringa oleifera*: A review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. *J. Trees for Life*. 1:5.
18. Lora, S.J.S. & Pachauri, V. 2011. Moringa (*Moringa oleifera*) seed extract and the prevention of oxidative stress. In: Nuts & seeds in health and disease prevention. Elsevier Inc. Amsterdam, the Netherlands. p. 776.
19. Foidl, N.; Makkar, H.P.S. & Becker, K. 2001. The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. In: The miracle tree: The multiple attributes of Moringa. (Ed. J. Lowell Fuglie). CTA Publication. Wageningen, The Netherlands. p. 45.
20. Folkard, G.K.; Sutherland, J.P. & Grant, W.D. 1992. Natural coagulants at pilot scale. In: Water, environment and management. Proceedings of the 18th WEDC Conference. (Ed. J. Pickford). Loughborough University Press. Kathmandu, Nepal. p. 51.
21. Forbes, R.J. 1955. Cosmetics and perfumes in antiquity. Studies in ancient technology. Vol. III. E.J. Brill Publishing. Leiden, The Netherlands. 86 p.
22. Fuglie, L.J. 2001. Combating malnutrition with Moringa. In: The miracle tree: the multiple attributes of Moringa. (Ed. L.J. Fuglie). CTA Publication. Wageningen, the Netherlands. p. 117.
23. Galal A.A., T.I. Abdel-Gawad and A.A. El Bana, 2002. Postharvest decay of garlic cloves caused by *Bacillus polymyxa* and *Fusarium moniliforme*. *Egyptian Journal of Microbiology* 3 71–88.
24. Galvan G.A., C.F.S. Koning-Bouxorin, W.J.M. Koopman, K. Burger-Meijer, P.H. González, C. Waalwijk, C. Kik and O.E. Scholten, 2008. Genetic variation among *Fusarium* isolates from onion and resistance to *Fusarium* basal rot in related *Allium* species. *European Journal of Plant Pathology* 12 499–512.
25. Ghazali, H.M. & Mohammed, A.S. 2011. Moringa (*Moringa oleifera*) seed oil: composition, nutritional aspects, and health attributes. In: Nuts & Seeds in Health and Disease Prevention. (Eds. V.R. Preedy, R. Ross and V.B. Patel). Elsevier Inc. Amsterdam, The Netherlands. p. 787.
26. Groenewald, S. 2006. Biology, pathogenicity and diversity of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. Trabajo de grado de maestría. Universidad of Pretoria. Sudamérica. P. 23-24.
27. Gupta, R.; Dubey, D.K.; Kannan, G.M. & Flora, S.J.S. 2007. Concomitant administration of *Moringa oleifera* seed powder in the remediation of arsenic-induced oxidative stress in mouse. *Cell Biology International*. 31:44.
28. Holliday, P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Dover Publications, Inc. New York, USA. P. 607.

28. Iqbal, S. & Bhangar, M.I. 2006. Effect of season and production location on antioxidant activity of *M. oleifera* leaves grown in Pakistan. *J. Food Comp. Analysis*. 19:544. 2006.
29. Jahn, S.A.A. 1988. Using Moringa seeds as coagulants in developing countries. *J. Am. Water Works Assoc.* 80:43.
30. Kibazohi, O. & Sangwan, R.S. 2011. Vegetable oil production potential from *Jatropha curcas*, *Croton megalocarpus*, *Aleurites moluccana*, *Moringa oleifera* and *Pachira glabra*: Assessment of renewable energy resources for bio-energy production in Africa. *Biomass and Bioenergy*. 35:1352.
31. Kleiman, K.; Ashley, D.A. & Brown, J.H. 2008. Comparison of two seed oils used in cosmetics, moringa and marula. *Ind. Crops Prod.* 28:361.
32. Leslie J.F. and B.A. Summerell (eds.), 2006. The Fusarium Laboratory Manual. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA. P. 212-264.
33. Madsen, M.; Schlundt, J. & El Fadil E.O. 1987. Effect of water coagulated by seeds of *Moringa oleifera* on bacterial concentrations. *J. Trop. Med. Hygiene*. 90:101. 1987.
34. Martín, C. 2010. Fractional characterisation of jatropha, neem, moringa, trisperma, castor and candlenut seeds as potential feedstocks for biodiesel production in Cuba. *Biomass and Bioenergy*. 34:533.
35. Mendoza, I.; Fernández, N.; Ettiene, G. & Díaz, A. 2000. Uso de la *Moringa oleifera* como coagulante en la potabilización de las aguas. *Ciencia*. 8:235.
36. Montes R, V Cruz C, G Martínez M, G Sandoval G, R García L, S Zilch D, L Bravo L, K Bermúdez T, H E Flores M, M Carvajal M .2000. Propiedades antifúngicas en plantas superiores. Análisis retrospectivo de investigaciones. *Rev. Mex. Fitopatol.* 18:125-131.
37. Mulabagal, V., & Tsay, H. 2004.. Plant cell cultures - An alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites. *International Journal of Applied Science and Engineering*. December, 29–48.
38. Muyibi, S.A. & Evison. 1995. L.M. *Moringa oleifera* seeds for softening hard water. *Water Res.* 29:1099.
39. Ndabigengesere, A.; Narasiah, K.S. & Talbot, B.G. 1995. Active agents and mechanism of coagulation of turbid waters using *Moringa oleifera*. *Water Res.* 29:703.
40. Ogbunugafor, H.A. 2011. Physico-chemical and antioxidant properties of *Moringa oleifera* seed oil. *Pakistan Journal of Nutrition*. 10:409.
41. Ochoa F. Y. M., Cerna C. E., Gallegos M. G., Landeros F. J., Delgado O. J. C., Hernández C. S., Rodríguez G. R. y Olalde P. V. 2012. Identificación de especies de *Fusarium* en semilla de ajo en Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Micología*. 36: 27-31.
42. Ochoa F. Y. M., Delgado O. J. C., Cerna C. E. Hernández C. F. D., Flores O. A., Gallegos M. G., Vázquez M. O., y Rodríguez G. R. 2013. The first report of *Fusarium proliferatum* causing garlic bulb rots in Mexico. *African Journal of Agricultural Research*. 8: 570-573.
43. Orlando, U.S. 2003. Chemical properties of anion-exchangers prepared from waste natural materials. *Reactive & Functional Polymers*. 55:311.
44. Ortodena, M.; Guarro, J.; Madrid, M.; Caracuel, Z.; Ronchero, M. I.; Mayayo, E.; 2004. *Fusarium oxysporum* as a multihost model for the genetic dissection of fungal virulence in plants and mammals. *Infection and Immunity* 72: 1760-1766.
45. Palada, M.C. & Chang, L.C. 2003. Suggested cultural practices for moringa. AVRDC International Cooperators' Guide. AVRDC Pub. 03-545. Shanhua, Taiwan.
46. Palmero D., M. De Cara, C. Iglesias, M.M. Moreno, N. González and J.C. Tello, 2012. First report of *Fusarium proliferatum* causing rot of garlic bulbs in Spain. *Plant Disease* 94, 277.
47. Pollard, S.J.T.; Thompson, F.E. & McConnachie, G.L. 1995. Microporous carbons from *M. oleifera* husks for water purification in less developed countries. *Wat. Res.* 29:337.

48. Reddy, D.H.K.; Ramana, D.K.V.; Sessaiah, K. & Reddy, A.V.R. 2011. Biosorption of Ni (II) from aqueous phase by *M. Oleifera* bark, a low cost biosorbent. *Desalination*. 268:150.
49. Ramachandran, D.; Peter. K.V. & Gopalakrishnan, P.K. 1980. Drumstick (*Moringa oleifera*): a multipurpose Indian vegetable. *Economic Botany*. 34:276.
50. Rashid, U. 2011. Application of response surface methodology for optimizing transesterification of *Moringa oleifera* oil: Biodiesel production. *Energy Conversion and Management*. 52:3034.
51. Rashid, U.; Anwar, F.; Moser, B.R. & Knothe, G. 2008. *Moringa oleifera* oil: a possible source of biodiesel. *Biores. Technol.* 99:8175.
52. Ravi Sankar N. 2012. First Report of *Fusarium proliferatum* causing rot of garlic bulbs (*Allium sativum*) in India. *Plant Disease* 9 290.
53. Sanabria, N.; Guadarrama, A.; Romero, H.; 2002. Caracterización de especies de *Fusarium* mediante patrones electroforéticos de proteínas. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia*. 28:161-173.
54. Santos, A.F.S 2009 Isolation of a seed coagulant *M. oleifera* lectin. *Process. Biochem.* 44:504.
55. Seefelder A., M. Gossman and H.U. Humpf, 2002. Analysis of Fumonisin B1 in *Fusarium proliferatum*-infected asparagus spears and garlic bulbs from Germany by liquid chromatography- electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural Food Chemical* 5: 2778–2781.
56. Singh, B.N. 2009. Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. *Food Chem. Toxicol.* 47:1109.
57. Stankovic S., J. Levic, T. Petrovic, A. Logrieco and A. Moretti, 2007. Pathogenicity and mycotoxin production by *Fusarium proliferatum* isolated from onion and garlic in Serbia. *Plant Pathology* 11: 165–172.
58. Stepien L., G. Koczyk and A. Waskiewicz, 2011. Genetic and phenotypic variation of *Fusarium proliferatum* isolates from different host species. *Journal of Applied Genetics* 5: 487–496.
59. Suarez, M.; Entenza, J.M. & Doerries, C. 2003. Expression of a plant-derived peptide harboring water-cleaning and antimicrobial activities. *Biotechnol. Bioeng.* 81:13.
60. Velásquez, V. R. y Amador, R. M. D. 2009. Enfermedades bióticas de ajo y chile en Aguascalientes y Zacatecas. Libro Técnico No. 9. Campo Experimental Zacatecas CIRNOC-INIFAP. P. 187.
61. Velásquez, V. R. y Medina, A. M. M. 2004a. Características Vegetativas de Variedades de Ajo (*Allium sativum* L.) Infectadas por *Fusarium* spp. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 22: 436-437.
62. Velásquez, V. R. y Medina, A. M. M. 2004b. Guía para conocer y manejar las enfermedades más comunes de la raíz del ajo en Aguascalientes y Zacatecas. Folleto para Productores Núm. 34. Campo Experimental Pabellón. INIFAP. Aguascalientes, Ags., México. P. 18.
63. Verma, A.R.; Vijayakumar, M.; Mathela, C.S. & Rao, C.V. 2009. In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food Chem. Toxicol.* 47:2196.
64. Walter, A.; Samuel, W.; Peter, A. & Joseph, O. 2011. Antibacterial activity of *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala* methanol and n-hexane seed extracts on bacteria implicated in water borne diseases. *African J. Microbiol. Res.* 5:153.
65. Warner, K. & Knowlton, S. 1997. Frying quality and oxidative stability of high-oleic corn oils. *J. Am. Oil Chemists Soc.* 74:1317.

66. Warhurst, A.M.; McConnachie, G.L. & Pollard, S.J.T. 1997. Characterisation and applications of activated carbon produced from *Moringa oleifera* seed husks by single-step steam pyrolysis. *Wat. Res.* 31:759.
67. Wilson C L, A El Ghaouth, M E Wisniewski .1999. Prospecting in nature's storehouse for biopesticides. *Rev. Mex. Fitopatol.* 17:49-53.