

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Control *in vitro* de Esporas de *Fusarium oxysporum* Schltdl con Tres Extractos Botánicos

Por:

**DANIEL ALFARO LÓPEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITOLÓGO**

Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Control *in vitro* de Esporas de *Fusarium oxysporum* Schldl con Tres Extractos Botánicos

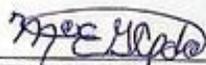
Por:

**DANIEL ALFARO LÓPEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de  
**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda  
Asesor Principal



M.C. Aideé González Ruíz  
Asesor Principal Externo



M.C. Abiel Sánchez Arizpe  
Coasesor



Dr. Vidal Zavala Zapata  
Coasesor



Dr. Alberto Sánchez Arizpe  
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2025

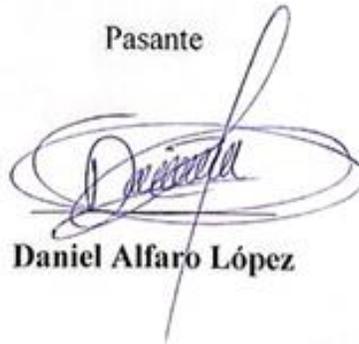
### **Declaración de no plagio**

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Daniel Alfaro López', is written over a large, stylized oval scribble. The signature is fluid and cursive.

**Daniel Alfaro López**

---

## AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por todas las bendiciones que ha hecho en mí y además de todo, las grandes oportunidades y fuerzas para seguir adelante y así poder cumplir mis sueños.

A mi **ALMA MATER** a la que aprecio demasiado y que siempre la llevaré en mi corazón, por acobijarme desde el momento que me volví en un buitre. Todo mi agradecimiento por que en ella me formé como profesional y además conocí a personas que se volvieron parte de mi familia y que siempre los llevaré en mi corazón, y de las cosas más importantes es que me enseñó amar a nuestra madre tierra que nos alimenta.

A la **Dra. Elizabeth Galindo Cepeda** por darme la oportunidad de trabajar con ella y además por el tiempo en que dedicó para la revisión de este proyecto.

Al **M.C. Abiel Sánchez Arizpe** por ser parte de mi formación profesional y que además gracias a sus consejos me hicieron cambiar para ser una mejor persona.

A la **M. C. Aideé Gonzales Ruiz** ya que se convirtió en una de las mejores amistades que he tenido, le doy gracias por todo el apoyo que me brindó en las buenas y en las malas. Al mismo tiempo le doy gracias a Dios por ponérmela en el camino, ya que amistades tan sinceras como ella valen demasiado, la quiero mucho y gracias por su amistad.

Al **Dr. Vidal Zavala zapata** que se convirtió en una gran amistad y por ayudarme en los datos estadísticos de este proyecto.

Al **M.C. Etelberto Cortez Quevedo** por brindarme su amistad y además el espacio para realizar mi proyecto.

A **Meli** (la china) por brindarme su amistad y además por darme muchos consejos que siempre los llevare presente.

A **Cristy** la mejor laboratorista, no puedo expresar suficiente lo agradecido que estoy por contar con una amistad como la de ella. Ha estado siempre conmigo en los buenos y malos momentos, brindándome siempre consejos y sobre todo mucho apoyo. Su amistad es algo muy valioso para mí que siempre llevare en donde vaya. Infinitamente muchas gracias porque más que una amistad ya es parte de mi familia, la quiero mucho.

A mis amigos del **Team bichos**: Ricardo Coronado, Luis Gerardo, Marisol Botello, Marlén Cortez y Rubén Quintero, muchas gracias por los momentos llenos de risa, alegrías y aventuras que hemos compartido juntos y quedaran en un muy bonito recuerdo. Siempre estaré muy agradecido por su lealtad, apoyo y amistad. Me siento muy afortunado de que la vida los puso en mi camino.

A mi tío **Eli Escalante** por apoyarme en mis estudios y también le agradezco mucho todos los consejos que siempre me ha dado a lo largo de los cinco años que estoy fuera de casa.

## DEDICATORIA

A mis padres

**Lucio Alfaro López y María Guadalupe López Cruz** como un testimonio de mi infinito aprecio y agradecimiento por toda una vida de esfuerzos y sacrificios, brindándome siempre cariño y apoyo cuando más lo necesité. Deseo de todo corazón que mi triunfo como hombre y profesionalista lo sientan como el suyo propio.

A mis abuelos

**Juan Alfaro, Rebeca López, Ofelia cruz** y en especial a mi abuelo **Guadalupe López (†)** que siempre estuvo para mí, dándome consejos y estoy seguro que en donde esté se siente muy orgulloso de mí. Siempre los voy a querer porque son como un padre y una madre para mí.

A mis hermanos

**Samuel Alfaro, Lesli Alfaro y Belinda Alfaro** que siempre me han demostrado su gran amor y principalmente todo su apoyo, gracias infinitas por creer en mi y sobre todo por ser un ejemplo a seguir. Lo amo, los quiero y los admiro muchísimo.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS .....	IV
DEDICATORIA .....	VI
ÍNDICE DE CUADROS .....	X
ÍNDICE DE FIGURAS .....	XI
RESUMEN .....	XII
ABSTRACT.....	XIII
INTRODUCCIÓN .....	1
Justificación.....	3
Objetivo General .....	3
Objetivos Específicos.....	3
Hipótesis.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA .....	4
<i>Fusarium spp</i> (Hypocreales: Nectriaceae).....	4
<i>Fusarium oxysporum</i> .....	6
Taxonomía.....	7
Descripción morfológica .....	7
Biología y ecología.....	9
Diseminación .....	10
Signos y síntomas .....	11
Estrategias de Control .....	12
Control cultural.....	12
Control biológico.....	12
Control químico.....	13
Extractos Vegetales .....	14
Metabolitos Secundarios de las Plantas .....	14

Especies Utilizadas en la Investigación .....	15
<i>Thevetia peruviana</i> .....	15
Clasificación taxonómica.....	15
Distribución.....	16
Descripción botánica.....	16
Usos.....	16
Composición fitoquímica.....	16
<i>Moringa oleífera</i> .....	17
Clasificación taxonómica.....	17
Distribución.....	18
Descripción botánica.....	18
Usos.....	18
Composición fitoquímica.....	18
MATERIALES Y MÉTODOS .....	19
Ubicación del Experimento.....	19
Recolección de Semillas .....	20
Elaboración de los Extractos .....	21
Aislamiento y Purificación del Patógeno.....	22
Purificación de los Patógenos Mediante Cultivos Monoconidiales.....	22
Identificación Morfológica.....	23
Evaluación <i>in vitro</i> de Inhibición de Germinación de Esporas.....	23
Diseño Experimental.....	25
Porcentaje de Inhibición.....	25
Análisis.....	25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	26
Identificación Morfológica.....	26

Prueba <i>in vitro</i> de Extracto de Semillas Verdes de <i>Moringa oleifera</i> en el Control de la Germinación de Esporas .....	27
Prueba <i>in vitro</i> de Extracto de Semillas Secas de <i>Moringa oleifera</i> en el Control de la Germinación de Esporas. ....	30
Prueba <i>in vitro</i> de Extracto de Semillas de <i>Thevetia peruviana</i> en el Control de la Germinación de Esporas .....	32
CONCLUSIÓN.....	35
LITERATURA CITADA .....	36

## ÍNDICE DE CUADROS

Tabla 1. Resultados de inhibición en la germinación de esporas de <i>Fusarium oxysporum</i> mediante el extracto de semillas verdes de <i>Moringa oleifera</i> . .....	28
Tabla 2. Resultados de inhibición en la germinación de esporas de <i>Fusarium oxysporum</i> mediante el extracto de semillas secas de <i>Moringa oleifera</i> .....	31
Tabla 3. Resultados de inhibición en la germinación de esporas de <i>Fusarium oxysporum</i> mediante el extracto de semillas secas de <i>Thevetia peruviana</i> .....	33

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Síntomas ocasionados por el género <i>Fusarium</i> en el cultivo de tomate (Kopper, 2024) .....	5
Figura 2. Ciclo de la enfermedad de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (Agrios, 2005). .....	10
Figura 3. Síntomas de <i>Fusarium oxysporum</i> f sp. <i>lycopersici</i> (Huarhua et al., 2020). .....	11
Figura 4. Departamento de Parasitología, UAAAN. ....	19
Figura 5. Semillas de <i>Thevetia peruviana</i> .....	20
Figura 6. Semillas de <i>Moringa oleifera</i> .....	20
Figura 7. Elaboración de extractos. ....	21
Figura 8. Purificación del hongo por el método monoconidial, germinación de la espora. .	22
Figura 9. Diagrama general del experimento.....	24
Figura 10. Crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> a las 192 horas después de siembra .....	26
Figura 11. Microconidios de <i>Fusarium oxysporum</i> .....	27
Figura 12. Inhibición en la germinación de esporas de <i>Fusarium oxysporum</i> con los tres extractos .....	34

## RESUMEN

*Fusarium oxysporum* es sin duda uno de los hongos actuales de mayor importancia económica, que causa enfermedades de marchitez en muchos hospedantes, a los que incluye cultivos de suma importancia en la alimentación humana, pero además es casi imposible de erradicar, pues el hongo puede sobrevivir en el suelo durante décadas. El uso excesivo de los agroquímicos ha causado serios problemas al medio ambiente y sobre todo efectos tóxicos en los seres humanos, por lo que en la actualidad se han estudiado muchas alternativas biológicas para suplirlos, tanto en cosechas como en postcosecha. El principal objetivo de este proyecto fue evaluar el potencial antifúngico de tres extractos etanólicos de *Moringa oleifera* y *Thevetia peruviana* para la inhibición de germinación de esporas de *Fusarium oxysporum* *in vitro* en siete concentraciones diferentes. El extracto de semillas de *Moringa oleifera* tanto en extracto crudo como en el seco mostraron controles arriba del 90 % en sus siete concentraciones ( $p < 0.05$ ), sin embargo, el extracto de *Thevetia peruviana* a partir de las concentraciones arriba de 800 ppm se tiene control del 90 %. Los resultados indican la capacidad antifúngica *in vitro* de los tres extractos etanólicos en la inhibición de germinación de esporas de *Fusarium oxysporum*. Para analizar las diferencias estadísticas se utilizó el Software INFOSTAT versión 2020 y prueba de comparación de medias por el método de TUKEY.

**Palabras clave:** Extracto, *Moringa oleifera*, *Thevetia peruviana*, espora, *Fusarium oxysporum*

## ABSTRACT

*Fusarium oxysporum* is undoubtedly one of the most economically important fungi today, causing *Fusarium* wilt diseases in many hosts, including crops that are essential for human nutrition. Moreover, it is nearly impossible to eradicate, as the fungus can survive in the soil for decades. The excessive use of agrochemicals has caused serious environmental problems and, more importantly, toxic effects on human health. As a result, numerous biological alternatives have been studied in recent years to replace them, both in crop production and postharvest stages. The main objective of this project was to evaluate the antifungal potential of three ethanolic extracts from *Moringa oleifera* and *Thevetia peruviana* in inhibiting the germination of *Fusarium oxysporum* spores *in vitro*, using seven different concentrations. The *Moringa oleifera* seed extracts, both crude and dried, showed over 90% inhibition at all seven concentrations tested ( $p < 0.05$ ). However, the *Thevetia peruviana* extract reached 90% inhibition only at concentrations above 800 ppm. The results demonstrate the *in vitro* antifungal activity of the three ethanolic extracts in inhibiting *Fusarium oxysporum* spore germination. Statistical differences were analyzed using INFOSTAT software, version 2020, and mean comparisons were performed using Tukey's test.

**Keywords:** Extract, *Moringa oleifera*, *Thevetia peruviana*, spore, *Fusarium oxysporum*

## INTRODUCCIÓN

Los hongos fitopatógenos son un problema de mucha importancia económica en el sector agrícola, de acuerdo a los datos mundiales a inicios del siglo XXI, se estima que las enfermedades microbianas son las causantes del 16 % de las pérdidas agrícolas a nivel mundial del cual se tiene un estimado que alrededor de 70 y 80 % lo causan las algas y hongos fitopatógenos, aunque con el paso del tiempo estos datos podrían ser aún mayores a causa de cambios globales y que las enfermedades cada vez son más patogénicas (Moore *et al.*, 2020).

Las enfermedades de las plantas con el paso del tiempo cada vez perjudican más al hombre ya que dañan a las plantas y sus productos derivados. Para los millones de personas que dependen directamente de este sector, estas enfermedades pueden ser un factor determinante entre una vida estable o una acosada por el hambre. Entre los ejemplos más destacados históricamente a nivel mundial se encuentra la hambruna irlandesa de los años 1845 y 1846 donde se obtuvo fracasos extremos en la producción de papa en Europa únicamente a una sola enfermedad a la que se le conoce como a la plaga tardía de la papa (causado por el alga fitopatógena que pertenece al grupo de los Oomycetos, *Phytophthora infestans*), causando el deceso de una de cada ocho personas irlandesas (Morillo, 2020).

A nivel nacional uno de los mayores problemas en la producción de hortalizas es causada por el hongo *Fusarium oxysporum*, y es que este tipo de hongo en producciones de tomate se tienen registros hasta pérdidas del 60 % de la producción (Martínez-Ruiz *et al.*, 2016). El gran problema de los productores es que este hongo es cosmopolita y que puede sobrevivir en el suelo durante mucho tiempo aunando a una ausencia de hospedero, pero para su control se han venido usando en grandes cantidades los fungicidas químicos a base de benzimidazoles y azoles. Además de la incrementa de aplicaciones por temporada para su control, se ha venido teniendo otros problemas como lo es la selección de cepas resistentes, incremento en costos de producción y daños en general de ambiente y salud humana (Marx-Stoelting *et al.*, 2020). Ya que la sociedad después de diversos acontecimientos que se han vivido a nivel mundial esta demanda productos más sanos libres de agroquímicos, por lo cual, en el sector agrícola se está empezando a buscar alternativas para el control de plagas y

enfermedades libre de químicos (Rodrigo *et al.*, 2022). Por ellos los extractos de plantas cada vez se está viendo como una alternativa para poder tener un control eficiente de organismos patógenos de muchos cultivos hortícolas, esto porque las plantas son productoras de metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, terpenos, fenoles glucósidos, taninos y ácidos que se encuentran específicamente en dos grupos, fitoanticipinas y fitoalexinas. Aunque se ha tenido registro que algunos de extractos que pueden inhibir la germinación y desarrollo de las plantas, entonces es necesario la evaluación de fitotoxicidad de los extractos antes de ser aplicados en campo (Moo-Koh *et al.*, 2022). con el avance de diversas investigaciones se han comprobado que existen muchas maneras de hacer frente a estos problemas, se han probado productos para su control siendo el control biológico el cual producen grandes beneficios a las plantas que son hospedantes de hongos fitopatógenos, bacterias y virus. Estos casos podrían ser más utilizados teniendo gran impacto en la reducción de fungicidas químicos que esta científicamente comprobado con la relación de varios problemas de salud e impacto ambiental (Rodrigo *et al.*, 2022).

## **Justificación**

*Fusarium oxysporum* presenta una de las principales amenazas fitopatológicas a nivel nacional e internacional, porque tiene una alta capacidad de adaptación, además, de persistir en el suelo y su amplio rango de hospedantes. La dificultad para controlar este hongo, sumada a la resistencia que ha adquirido por tratamientos convencionales, hace importante la búsqueda de estrategias sostenibles y eficaces para su control. Por ello, se buscan alternativas efectivas que sean amigables con el medio ambiente y sin efectos negativos a la salud humana.

## **Objetivo General**

Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de extractos botánicos para el control de esporas de *Fusarium oxysporum*

## **Objetivos Específicos**

1. Procesar y elaborar los extractos de codo de fraile (*Thevetia peruviana*) y moringa verde y seca (*Moringa oleifera*)
2. Evaluar el porcentaje de inhibición en la germanización de esporas de *Fusarium oxysporum* con los extractos de codo de fraile (*Thevetia peruviana*) y moringa verde y seca (*Moringa oleifera*) por la metodología de microplaca
3. Comparar el efecto esporicida entre los extractos de *M. oleifera* y *T. peruviana*

## **Hipótesis**

La aplicación *in vitro* de extractos botánicos de *Moringa oleifera* para el control de esporas de *Fusarium oxysporum* inhibirá al menos en un 90%.

## REVISIÓN DE LITERATURA

*Fusarium spp* (Hypocreales: Nectriaceae)

El género *Fusarium* fue introducida principalmente por Link en 1809, pero este género tomó más importancia cuando Wollenweber y Reinking publicaron “Die Fusarien” en 1935. Para los años 1940 y 1950, Snyder y Hansen en EE. UU redujeron el número de especies a nueve. En los años 1940 y 1980 un grupo de micólogos desarrollaron diversas taxonomías para *Fusarium*, pero ninguno recibió un acuerdo global. Para la década de 1980 se llegó a un acuerdo único de este género, pero para 1990 con la introducción del concepto de especies filogenéticas con la secuenciación del DNA se introdujeron nuevas especies. En épocas recientes como en el año 2006, Leslie y Summerell publicaron “The *Fusarium* Manual de Laboratorio” donde están descritas 70 especies (Babadoost, 2018).

*Fusarium spp* presenta una gran distribución por todo el mundo, es cosmopolita y endémico de las zonas maiceras. Se conoce que muchas especies de plantas, principalmente las hortícolas son hospedantes por lo menos de una especie de *Fusarium*. Por su capacidad fitopatógena, normalmente muchas de estas causan la marchitez vascular y conocido regularmente por ser un patógeno oportunista (Forero-Reyes *et al.*, 2018). Este género es muy diverso con un aproximado de 300 especies filogenéticamente distintas, aunque muchas de ellas no son patógenas y en ocasiones forman relaciones mutualistas con las plantas hospedantes (Jackson *et al.*, 2024). Las plantas infectadas por el género, *Fusarium* generalmente ocasionan marchitamientos vasculares, manchas, pudrición de raíces y tallos, pudrición de fruto, granos y semillas. También este género puede causar muchos metabolitos tóxicos (micotoxinas) tal como tricotecenos y fumonisinas que actúan como un contaminante de productos agrícolas por lo que hace que dichos productos no sean adecuados para la alimentación. Las especies de *Fusarium* pueden producir esporas sexuales y hasta tres tipos de esporas asexuales, pero se desconoce aún si todas las especies produzcan todos los tipos de esporas, pero lo que sí se sabe es que aproximadamente menos del 20% de las especies tienen un ciclo sexual conocido. La mayoría de las especies vagamente son clasificados como hemibiotrofos ya que al inicio la infección es muy parecida a la de un patógeno que depende

de un huésped vivo (biotróficos), pero con su ciclo pasa a matar y consumir las células del huésped (necrotrófico) (Ma *et al.*, 2015).

Algo muy peculiar al ataque de *Fusarium* a la planta es que este puede inactivar algunas de las sustancias tóxicas para el hongo que son producidas por la misma planta huésped, y además puede producir toxinas de sí mismas que aumentan en gran medida su virulencia. Por ejemplo, las eniatinas y ácido fusárico, son conocidos como fitotoxinas que son demasiado tóxicas para cualquier planta que sea un huésped ideal para este tipo de hongo. Algo importante a tomar en cuenta es que *Fusarium* tiene complejidad con otros hongos y algas fitopatógenas como *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., del cual, se tiene un complejo fitopatogénico que causan pérdidas que van del 60 al 100% de una producción total. Estudios mencionan sobre la relación que hay entre *Meloidogyne incognita* y *F. oxysporum* en tomate (Villa-Martínez *et al.*, 2015).

De forma general, si se desea identificar visualmente este género, en campo lo primero es la localización de plantas no normales con síntomas y posiblemente signos. Por ejemplo, en la base del tallo presenta lesiones hundidas de color negro a marrón, manchas rojizas en los peciolo cercanos a la copa de la planta, en caso de los signos, podemos apreciar masas de micelio que van de un color rosado o blanco (Fig. 1) (Babadoost, 2018).



Figura 1. Síntomas ocasionados por el género *Fusarium* en el cultivo de tomate (Kopper, 2024)

Entonces, el marchitamiento es común de esta enfermedad y en especial sobre las especies de tomate, siempre y cuando la producción de esta hortaliza sea de manera intensa. Los estudios demuestran que la enfermedad se establece e infecta más en los climas cálidos, así como en los suelos cálidos y arenosos de regiones templadas. Mayormente se obtiene más pérdidas a nivel mundial por la utilización de variedades susceptibles, y más aún combinándolos con los climas favorables. El marchitamiento se puede observar achaparramiento de las especies cultivadas, de los cuales, en muy poco tiempo se pueden marchitar consecuentemente de una pérdida total. Algo que tiene muy preocupado a los agricultores es que esta enfermedad se puede establecer momento antes de la cosecha, lo que implicaría en pérdidas consecuentes (Agrios, 2005).

### *Fusarium oxysporum*

Este es uno de los hongos de los cuales tiene mayor importancia económica debido a la alta gama de hospedantes de los cuales algunos de los cultivos son de suma importancia en la producción agrícola nacional e internacional. Además, *Fusarium oxysporum* es uno de los hongos que más estudios científicos se le está dando en la actualidad para ayudar a productores a tener mayores márgenes en estrategias de control. La enfermedad característica de esta cepa se le conoce como marchitez vascular, esto es en muchas especies de cultivos tanto de producciones protegidas, así como en condiciones no controladas. Los cultivos más importantes económicamente afectados son el tomate, pepino, cebolla, plátano y las legumbres. Además, también se tiene registros en plantas ornamentales como tulípanes, claveles y orquídeas (Jackson *et al.*, 2024).

Cuando se habla de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* los aislados pueden alcanzar el centro de las raíces por crecimiento intracelular por lo cual las medidas de control ante estos ataques podrían ser muy nulas, por lo cual, se tiene que tomar en cuenta una ruta crítica de prevención (Hernández *et al.*, 2021)

## Taxonomía

Según SENASICA (2020) la taxonomía de *Fusarium oxysporum* es la siguiente

Phylum:	Ascomycota
Clase:	Sordariomycetes
Orden:	Hypocreales
Familia:	Nectriaceae
Género:	<i>Fusarium</i>
Especie:	<i>oxysporum</i>

## Descripción morfológica

Cuando se desea reconocer las especies resultaría muy complejo, por eso la identificación morfológica presenta un alto grado de dificultad, más aún cuando se desea identificar especies con características fenotípicas similares. En la actualidad está tomando cada vez más importancia la identificación de especies y razas mediante métodos moleculares, basada principalmente en marcadores específicos que amplifica una región del genoma del dicho fitopatógeno (Salazar *et al.*, 2020).

*Fusarium oxysporum* causante del marchitamiento vascular, como tal, no se le conoce una fase de reproducción sexual, pero en sí, el patógeno tiene la capacidad de producir tres tipos de esporas asexuales, conocidos como microconidios, macroconidios y clamidosporas. En cuestión de los microconidios son muy abundantes, ovalados a reniformes, unicelulares y los

podemos visualizar sobre conidióforos cortos, se ha tenido información que los microconidios pueden llegar a infectar raíces, pero esto a escalas pequeñas en la infección debido a su naturaleza efímera, estas son las esporas que el hongo va a producir más en las condiciones establecidas y en sí, los microconidios son los que se forman más en los vasos internos de la planta. Por otro lado, los macroconidios son fusiformes (forma de canoa), con tres a cinco células de las cuales se producen a gran escala, los podemos encontrar también en grupos conocidos como esporoquios. Los macroconidios llegan infectar raíces, aunque hay estudios que revelan que estas actúan más como una estructura de supervivencia, pues resulta que estas tienen la capacidad de formar clamidosporas (estructura de reposo asexual), una de las características distintivas de los macroconidios es la frecuente aparición en las zonas superficiales de la planta que ya ha sido destruido por el patógeno (Ríos *et al.*, 2021). Las clamidosporas constituyen la principal estrategia de supervivencia que este tipo de hongo tiene y que se forma cuando las condiciones son desfavorables, ya sea en el deterioro o muerte de el hospedero. *F. oxysporum* forma dos tipos de clamidosporas de paredes gruesas, una que va dentro del macroconidio y otra dentro del micelio, cuando la clamidospora se forma en el micelio generalmente aparecen en forma individuales o en pares dentro del micelio o terminales que pueden sobrevivir en el suelo hasta en dos ciclos agrícolas y llegan a germinar e infectar por medio de las heridas de las raíces emergentes o bien penetrar directamente en las raíces jóvenes en la zona de elongación. No hay información documentada sobre la producción natural de estructuras como peritecios, ascos y ascosporas producidas por *F. oxysporum*. Todos esos tipos de esporas los podemos analizar en cultivos del hongo bajo condiciones controladas, pero también pueden formarse en el suelo, aunque en estas condiciones las clamidosporas son las que pueden sobrevivir más tiempo (Rangel *et al.*, 2023; Gordon, 2017).

Los microconidios de *F. oxysporum* presentan tamaños que van en promedio de 9.44  $\mu\text{m}$  de largo y 3.46  $\mu\text{m}$  de ancho, por lo contrario, los macroconidios tienen en promedio tamaños de 24.20  $\mu\text{m}$  de largo y 4.19  $\mu\text{m}$  de ancho y las clamidosporas pueden alcanzar entre 10 0 15  $\mu\text{m}$  de diámetro. En cuanto al crecimiento en el medio del cultivo, estas se desarrollan mediante un color blanco con apariencia algodonosa y conforme se expanden se torna a un color lila, o bien de color rosado durazno con gran capacidad de producción de esporas, pero con un tono purpura o violeta (Barcenás *et al.*, 2020).

## Biología y ecología

Este patógeno tiene la capacidad de habitar en el suelo y pueden sobrevivir sobre rastros que están sobre el suelo esto en forma micelial o en cualquiera de sus tipos de esporas (microconidios, macroconidios y clamidosporas), aunque mayormente cuando se trata de supervivencia se encuentra en forma de clamidosporas. Existen cepas específicas de *F. oxysporum* que va en función al huésped, aunque se ha documentado casos de infección cruzada, aunque va más en relación con métodos en laboratorio o en invernaderos (Agrios, 2005).

El ciclo de esta enfermedad tiene comienzo al momento de que las clamidosporas u otra forma de spora germina en el suelo mediante los estímulos de los exudados de las raíces laterales, donde se producen hifas infecciosas, aunque también una de las formas de infección más rápido es cuando se tienen raíces dañadas o heridas (Li *et al.*, 2017).

Cuando se ha superado la barrera del huésped se producen microconidios e hifas más gruesas que se convierten en clamidosporas entre los espacios intracelulares e intercelulares. El hongo tiene la capacidad de penetrar desde la epidermis a la endodermis en un lapso aproximado de tres días después de la infección y alcanzar la xilema en el cuarto día, aunque esto puede tener una variación en cuestión de diferentes factores que el hongo permita su desarrollo (Martínez *et al.*, 2023).

Cuando este hongo llega a los haces vasculares de las raíces laterales o secundarias de la planta (xilema específicamente), obstruye los pasos de los nutrientes y transporte de agua hacia partes superiores de la planta, lo cual comienza con más esporulación, por lo cual este hongo se le conoce como sistémico, pudiendo acabar con la planta en unos periodos cortos (Guo *et al.*, 2015). En etapas finales de la enfermedad o bien cuando la planta muere, el hongo crece a lo largo del tallo que se ha descompuesto, observando micelio blanco con una gran cantidad de macroconidios que después pasan al suelo convirtiéndose en clamidosporas, con capacidad de supervivencia para la siguiente temporada (Li *et al.*, 2017). Así mismo, la planta tiene la gran capacidad de bloquear la entrada del patógeno gracias a las paredes celulares de las raíces, esto generando acciones inmediatas previo a la infección teniendo impacto en la resistencia u otra defensa de la planta (Fan *et al.*, 2017).

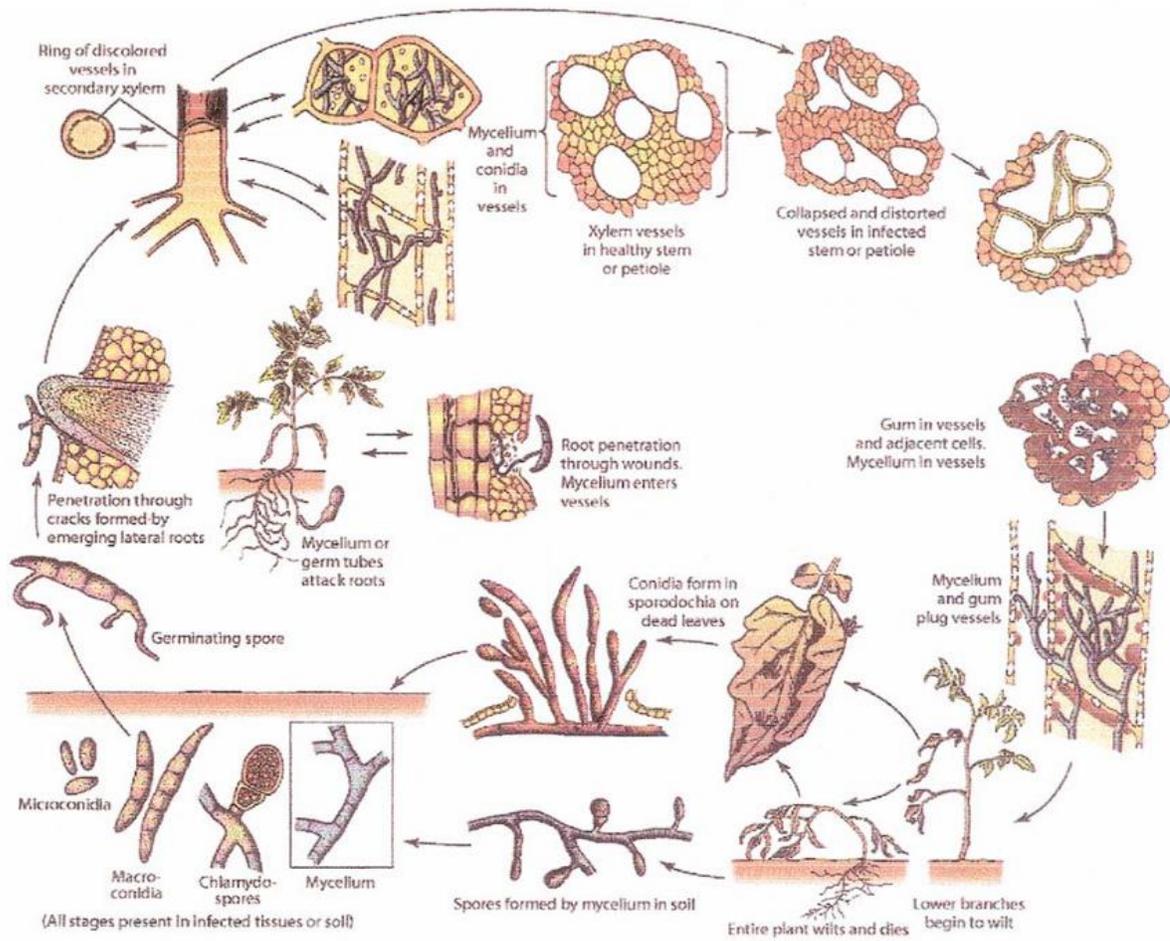


Figura 2. Ciclo de la enfermedad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Agris, 2005).

### Diseminación

La dispersión o diseminación de este hongo se da por movimiento pasivos de propágulos, de los cuales está incluido el material vegetal, ya que en muchas ocasiones son utilizados para compost o lixiviados y se genera un alto riesgo; el agua también tiene una suma importancia en diseminación, pues cuando llueve o en riegos, se generan salpicaduras que pueden llevar propágulos del patógeno; el suelo es una fuente de inóculo importante, aunque el patógeno por sí solo puede ser incapaz de moverse por lo que necesita de las raíces secundarias para poder infectar; el aire puede aumentar la diseminación por medio de huracanes, ciclones y fuertes

vientos; hay algunos animales como cerdos y roedores conocidos como vectores, aunque los más importantes son algunos géneros de nematodos y gorgojos (Dita *et al.*, 2018).

### Signos y síntomas

Los signos principales es la acumulación de hifas en los vasos conductores de las raíces, que liberan toxinas, geles y formación de tilides (Gordon, 2017).

Cuando la planta se ve afectada por este hongo lo que se observa a primera vista son los síntomas que estas producen, en los que se encuentran la reducción de crecimiento, marchitez ascendente, por lo cual se inicia por las hojas basales, necrosis en las raíces y corona por el avanzado ciclo de la enfermedad, reducción de la cantidad de frutos y eventual muerte de la planta (Vega y Granados, 2023). Los síntomas de esta enfermedad se inician con una ligera decoloración en las nervaduras de las hojas, después los peciolo se caen (epinastia), al poco tiempo hay amarillamiento total de hojas basales con posterioridad a hojas jóvenes y por último la planta llega a una marchitez total. cuando se hace un corte en el tallo se puede observar una coloración parda de las células vasculares (Huarhwa *et al.*, 2020).



Figura 3. Síntomas de *Fusarium oxysporum* f sp. *lycopersici*. A-B: Amarillamiento de las hojas basales, epinastia. C: Muerte total de la planta. D-E: Decoloración vascular (Huarhwa *et al.*, 2020).

## Estrategias de Control

La marchitez causada por *Fusarium oxysporum* es un desafío considerable en el manejo, y más aún cuando no se tienen variedades resistentes a la enfermedad, pero aun así hay muchos métodos de manejo para reducir el daño que este puede causar. Aun así es muy complicado pues el hongo actúa como endófito en células y tejidos vasculares (Vásquez y Castaño, 2017).

### Control cultural

Cuando se usan estas prácticas se induce al hongo a un ambiente que no es favorable para el desarrollo, dentro de las practicas comunes está el aumento del pH del suelo entre 6.5 y 7.5, arados profundos que ayuda a modificar porosidad, retención de agua, oxigenación y temperatura, lo cual la materia orgánica se descompone más fácilmente lo que reduce las fuentes de inóculo (Vásquez y Castaño, 2017). La rotación de cultivos es muy importante para reducción fuentes de inóculo, aunque esto tiene algunas limitaciones, porque el hongo tiene la capacidad de sobrevivir como clamidosporas por largos periodos, aun cuando no tiene a su hospedero principal, cuando se tienen a *Fusarium oxysporum* f spp. *lycopersici*, lo más recomendable no es usar cultivos de la familia Solanaceae (López y Castaño, 2019). El uso de acolchados ayuda a controlar malezas hospederas, optimiza humedad del suelo, lo que significa a que el hongo no tendrá condiciones favorables para su desarrollo. Se recomienda eliminar malezas en el área y también matas cultivadas que se vean con síntomas de la enfermedad (Maurya *et al.*, 2019).

### Control biológico

Mediante el uso descontrolado de diferentes métodos para el control de esta enfermedad, se ha buscado alternativas más viables, y que resulte familiar con el medio ambiente, actualmente se destaca el uso de microorganismos como hongos y bacterias. Se ha reportado el uso de bacterias del género *Streptomyces* como antagonistas de hongos fitopatógenos (Lu *et al.*, 2016). Los estreptomicetos producen metabolitos secundarios con una fuerte actividad antifúngica con enzimas extracelulares como quitinasa y pectinasa (Ríos *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2020).

Diversos estudios han demostrado la eficacia de bacterias como *Pseudomonas fluorescens* y *Burkholderia cepacia*, así como de hongos antagonistas como *Trichoderma spp.*, *Gliocladium virens* y cepas no patógenas de *Fusarium spp.* Estos microorganismos lo que hacen es inhibir la germinación de esporas y su supervivencia ya sea por antibiosis, competencia y resistencia inducida, estos biocontroladores pueden ser muy efectivos hasta ser igual o mayor en efectividad comparándolo con un producto químico (Álvarez *et al.*, 2020). Por otro lado, la combinación de *Bacillus subtilis* CRB20 con quitina tiene la capacidad de hacer que la planta tenga un buen crecimiento además de tener un buen control de *Fusarium oxysporum* f sp. *lycopersici* (Yang *et al.*, 2024). En reportes recientes se descubrió una cepa Y-4 de *Bacillus velezensis* que se caracteriza por ser una bacteria aeróbica Gram-positiva con capacidad de secretar enzimas extracelulares y sideróforos, también tiene genes resistentes a enfermedades y genes antibacterianos, por otro lado, esta cepa inhibe el crecimiento del hongo hasta de un 72% en plantas (Wang *et al.*, 2025).

### Control químico

Los productos químicos son los más utilizados en la actualidad, pues en muchos de los casos el control se hace cuando la enfermedad ya está propagada. Por eso, que estos productos son fáciles de manejar, buena consecución y muy buena rapidez en el efecto que estos tienen, aunque siempre son tema de que hablar, ya que el uso inadecuado e intensificado puede causar problemas a la salud humana, vida silvestre y al ambiente, además de mutaciones y resistencia que adquiere el hongo (Ramu *et al.*, 2016).

Los fungicidas benzimidazoles y azoles son los químicos más utilizados para el control de la marchitez vascular. Además, el tratamiento de semillas podría reducir el inóculo en ellas, también hay productos químicos que ayudan a controlar la enfermedad como picloraz, bromuconazol, carbendazim, imazalil y benomyl. Las aplicaciones más eficientes es la fumigación en el suelo, anteriormente se utilizaba en gran demanda el bromuro de metilo, pero este producto cada vez se está restringiendo en cuanto a su uso, entonces se ha optado por productos como la cloropicrina, yoduro de metilo y metam sodio (Rahman *et al.*, 2021).

## Extractos Vegetales

Actualmente en la agricultura se están buscando muchas alternativas ecológicas, económicas y que sean muy favorables con el medio ambiente para el control de hongos fitopatógenos, con una disminución en el uso de agroquímicos, estos últimos generan problemas ambientales y a corto o largo plazo deterioran la salud humana. Por ello, la conciencia sobre la salud y alimentos saludables cada vez está tomando mucha importancia en la sociedad, por lo cual las personas tienen la intención de invertir en productos vegetales que estén libres de fertilizantes sintéticos, residuos de pesticidas y otros (Tamilselvi y Arumugan, 2017).

Es conocido que las enfermedades en las raíces son de las más difíciles de controlar, ya que en el suelo se encuentran condiciones muy favorables para su óptimo desarrollo de patógenos (Rodríguez *et al.*, 2020). Ante el creciente interés por reducir el impacto ambiental asociados al uso de productos sintéticos, se evidenció que los extractos vegetales representan una alternativa viable y sostenible para combatir y bajar pérdidas económicas que causan las enfermedades asociadas a hongos, nematodos y bacterias (Cerqueira *et al.*, 2016).

## Metabolitos Secundarios de las Plantas

Tanto la vegetación terrestre como mariana contiene muchos metabolitos secundarios que pueden evitar y controlar enfermedades. Se conoce que en la actualidad se han obtenido alrededor de cien mil compuestos bioactivos de plantas superiores y con la tecnología sofisticada es posible conocer los principales compuestos y así evaluar la principal acción antimicrobiana que estas tienen (Manilal y Idhayadhulla, 2014). Dentro de los principales metabolitos secundarios con actividad biológica se encuentran los flavonoides, eriodictiol, saponinas, citronelal, citronelol, taninos, fenoles, alcaloides, glucósidos, terpenoides y triterpenos, y otros (García *et al.*, 2023). La concentración de los compuestos va a depender de la especie vegetal, de las condiciones ambientales y también del patosistema, aunque en muchos estudios se demuestra que en las especies medicinales tiene más concentración de estos compuestos (Cerqueira *et al.*, 2016). La extracción de los compuestos puede ser de raíces, hojas, tallos, flores y frutos, y las técnicas utilizadas emplean solventes de los que se obtienen extractos acuosos, etanólicos o aceites esenciales (Mesa *et al.*, 2019).

## Especies Utilizadas en la Investigación

### *Thevetia peruviana*

*Thevetia peruviana* es considerada una planta que en consumos extremos pueden resultar altamente venenosos, es de la familia Apocynaceae (Kumar *et al.*, 2024). De acuerdo a las regiones se le conoce como adelfa bastarda, adelfa exiliada, manzano tigre, codo de fraile y nuez de la suerte. Por sus relucientes flores amarillas es por la se utiliza para lujos en zonas subtempladas y trópicos. Actualmente estudios hacen referencia que los glucósidos tóxicos contenidos en semillas y raíces inhiben enzimas en el sistema cardiovascular (Pramod *et al.*, 2015). Uno de las características importantes de esta planta, es que las flores y frutos están presentes en todo el año, por lo que es de muy interés para investigaciones principalmente en las semillas (Rehman *et al.*, 2024).

### Clasificación taxonómica

Según GBIF (2024) la clasificación taxonómica se describe de la siguiente manera:

Reino:	Plantae
Phylum:	Tracheophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Gentianales
Familia:	Apocynaceae
Género:	<i>Thevetia</i>
Especie:	<i>peruviana</i>

### Distribución

Se conoce que su origen puede ser en México y América tropical, reportes mencionan que su procedencia podría formar parte de la India Occidental. En México se tiene registro en los estados de Veracruz, Guerrero, Oaxaca, Tabasco y Chiapas. Así mismo puede tener más distribución dentro del territorio (García, 2018).

### Descripción botánica

Arbusto u árbol de una copa densa con ramificaciones, hojas de color verde oscuro, simples, linear-lanceolada. Las flores son de un característico color amarillo en racimos que se encuentran en las puntas de las ramas, son tubulares y contiene 5 lóbulos. El fruto es una drupa carnosa triangular, al principio es de color verde y después amarillo para volverse de color negra dentro de la cual contiene dos semillas. Tiene savia de color blanco lechoso (Bandara 2010; García, 2018).

### Usos

El principal uso que se le ha dado a esta planta es con destino a lo ornamental, aunque existen muchos reportes sobre los extractos para el control principalmente de bacterias clínicas. El aprovechamiento de esta planta es principalmente como medio diurético, cardiotónicos, y para curar edemas, además, sus hojas con sus componentes se emplean para uso de purgantes. Así mismo, el uso para medicinal se debe administrar con mucho cuidado, pues estudios mencionan que esta planta puede ser tóxica y sus semillas venenosas, abortivas y alterantes, por ello, es importante el aislamiento de compuestos que le confieren estas propiedades, tanto medicinales como tóxicos para el ser humano (García, 2018; Chauhan *et al.*, 2023).

### Composición fitoquímica

Los metabolitos secundarios se basan en las rutas biosintéticas de los cuales son considerados 3 o 4 familias o bien grupos de moléculas: fenoles, terpenos esteroides y alcaloides. Para este caso los principales metabolitos son: terpenoides, glicósidos cardiotónicos, flavonoides, y esteroides. Aunque se menciona en investigaciones que estos metabolitos se encuentran presentes en bajas concentraciones (Arias, 2013).

### *Moringa oleífera*

Este árbol también se le conoce como el árbol de la vida o árbol milagroso *por* sus grandes propiedades medicinales, hay aproximadamente 13 especies conocidas (*M. drouhardii*, *M. hildebrandtii*, *M. concanensis*, *M. borziana*, *M. longituba*, *M. pygmaea*, *M. ovalifolia*, *M. peregrina*, *M. stenopetala*, *M. oleífera*, *M. arborea*, *M. rivaie*, *M. ruspoliana*) pero *M. oleífera* es la que más destaca por uso en nutrición, producción de biogás, fertilizantes y otro (Pareek *et al.*, 2023). Hablando de alternativas, la moringa es la especie más demandada, ya que es una alternativa barata para proporcionar buena nutrición, además de sus propiedades son de las más eficaces para prevenir y tratar muchas enfermedades. A pesar de la importancia económica, la moringa aún no está bien explotada considerándola una planta infrutilizada (Gandji *et al.*, 2018).

#### Clasificación taxonómica

Según Hernández e Iglesias (2022), la clasificación taxonómica de *Moringa oleífera* es la siguiente:

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Brasicales
Familia:	Moringaceae
Género:	<i>Moringa</i>
Especie:	<i>oleífera</i>

### Distribución

La moringa se cree que puede ser originaria de Afganistán, Bangladesh, India y Pakistán, y después sería introducida a América en el siglo XIX por su potencial en la agricultura y medicinal (Sanjay y Dwivedi, 2015). En cuanto a su distribución, en América se distribuye desde el sur de Florida (Estados Unidos de América) hasta Argentina, Islas del Caribe y las Indias Occidentales. En México se encuentra desde la costa del Pacífico de Baja California hasta el sur de Chiapas (Olson y Fahey, 2011).

### Descripción botánica

Se caracteriza por tener un fruto en forma de vaina larga y leñosa, una vez madurando estas se abren en tres valvas con notables semillas trivalvas con ligeras alas longitudinales. Contiene hojas pinnadas y con folíolos dispuestos sobre el raquis. Las flores zigomorfas con cinco pétalos, cinco sépalos, cinco estambres funcionales y unos cuantos estaminodios; con inflorescencias axilares y pedicelos. La planta tiene tallos erectos con raíces tuberosas, este árbol puede crecer hasta los 10 m (Velázquez *et al.*, 2016).

### Usos

Gracias a sus muchas propiedades bioactivas y nutricionales, esta planta se ha utilizado en muchas áreas de la vida, por ejemplo, en la salud (heridas, úlceras estomacales, alergias, obesidad, diabetes, inflamación, asma, y otros), cosmética, agricultura, alimentación y también para tratamiento de agua (Ngukuran e Iruoghene, 2023). Las principales partes que se utilizan de esta planta son las hojas, las semillas y raíces. Además, se puede usar el desarrollo de las plantas, ya que las hojas son ricas en zeatina. Los extractos pueden aumentar el rendimiento de los cultivos y son utilizados como biopesticidas eficaces contra hongos fitopatógenos e insectos (Leone *et al.*, 2015).

### Composición fitoquímica

Se han identificados numerosos metabolitos secundarios entre los que se destacan taninos, saponinas, polifenoles (incluyendo flavonoides como kaempferol, quercetina, mirecetina, así como glucosidos de kaempferol y rutinócidos), malonilglucósidos, fitatos, glucosidos fenólicos y en menor proporción isocianatos y glucosinolatos (Forster *et al.*, 2015 citado por Velázquez *et al.*, 2016).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del Experimento

La investigación se realizó en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México (25° 21' 13"N, 101 °01 '56" O, 1610 msnm) y en el Laboratorio de Fertilidad de Suelos y Nutrición Vegetal, en el Departamento de Ciencias del Suelo.



Figura 4. Departamento de Parasitología, UAAAN.

## Recolección de Semillas

Para evaluar los extractos vegetales, primero se recolectó el material vegetal (semillas) de las especies botánicas de Codo de Fraile *Thevetia peruviana*, Moringa Verde *Moringa oleifera* y Moringa Madura *Moringa oleifera* en Mapastepec, Chiapas. Material fue trasladado en bolsas de polietileno transparente tipo ziploc estériles con cierre hermético, contenidas en hieleras de poliestireno expandido al Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coahuila.



Figura 6. Semillas de *Thevetia peruviana*



Figura 5. Semillas de *Moringa oleifera*

## Elaboración de los Extractos

Preparación de extractos botánicos: Los extractos botánicos fueron obtenidos a partir de semillas secas, las cuales se desinfectaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 3% durante 2 min (tres veces) y en agua destilada por 1 min (tres veces), posteriormente se dejaron secar hasta retirar el exceso de agua e iniciar el proceso de secado en una estufa a 35 °C por tres días, se pesaron 50 g de semillas y también se midió un litro de solvente (etanol 99.9%), se molió mecánicamente con una licuadora de la marca Hamilton Beach para la preparación de extractos y se dejaron reposar de quince días a temperatura ambiente (27°C), en frascos color ámbar. Posteriormente se filtró con ayuda de una bomba de vacío utilizando papel filtro Whatman número 1 colocado sobre el embudo Buhner, el filtrado se recolectó en un matraz Kitasato de 1 L obteniendo los extractos crudos, los cuales se rota-evaporaron mediante un rotavapor SINCE 1989– YAMATO a 60°C por 30 minutos y 250 rpm, para separar el solvente (1000ml) de los 50g de muestra vegetal. El extracto obtenido se filtró con filtros de 0.41 micras para esterilizarlo y se almacenaron en tubos falcón estériles y conservaron recubiertos con aluminio en refrigeración hasta su uso (Domínguez, 1973).



Figura 7. Elaboración de extractos. A: Peso de semillas para procesar. B: Filtración de extracto en bomba de vacío. C: Rota-evaporación del extracto. D: Filtración de extractos para su esterilización. E: Almacenamiento de extractos para su utilización

### **Aislamiento y Purificación del Patógeno**

Las cepas fueron aisladas de raíces del cultivo de tomate del campo experimental Buenavista en la UAAAN. Las muestras se seccionaron en cortes de 1cm<sup>2</sup> de las raíces sanas e infectadas, bajo campana de flujo laminar, las cuales se desinfectaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 3% durante 2 min (tres veces) y en agua destilada por 1 min (tres veces), posteriormente se dejaron secar por 10 min, y enseguida se colocaron en la caja de Petri con medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) (Bioxon®) (39 g/L agua destilada). Las cajas de Petri se sellaron y mantuvieron a 25 ± 2 °C hasta el llenado de la caja (siete días para *F. oxysporum*) en una cámara de crecimiento (Yamato®).

### **Purificación de los Patógenos Mediante Cultivos Monoconidiales**

Se extrajeron explantes de 5 mm de diámetro de cada colonia de hongo aislado y se colocaron en tubos de ensayo con 9 mL de agua destilada estéril y se extrajo 1 mL para enseguida depositaron en una placa de Petri con medio PDA y con una varilla de dispersión se diseminó uniformemente sobre toda la caja, 24 h después se tomó solamente un conidio germinado y se colocó en placas de Petri con PDA y se mantuvieron a 25 ± 2 °C hasta el llenado de la caja para la obtención de cepas puras.

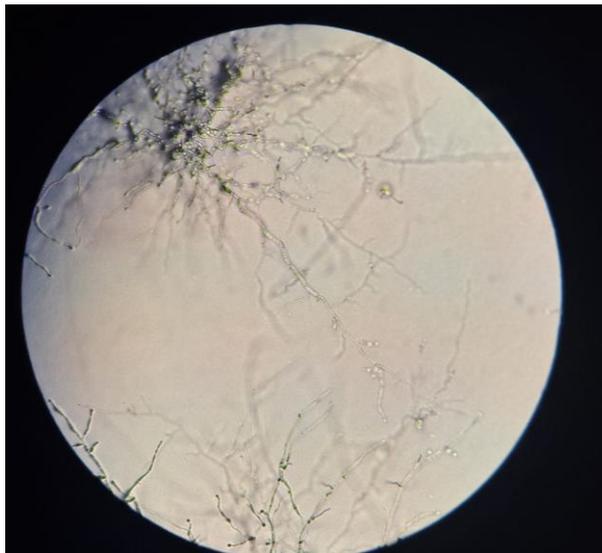


Figura 8. Purificación del hongo por el método monoconidial, germinación de la espóra.

### **Identificación Morfológica**

Se realizó mediante montas de estructuras de micelio y sus respectivas conidias en portaobjetos con lactofenol y solución de algodón azul. Su observación se realizó a 40 y 100X en un microscopio compuesto y para la identificación a nivel de género con las claves taxonómicas para géneros de hongos imperfectos de Barnett y Hunter (1998) y a nivel de especie para *Fusarium* las claves taxonómicas de Leslie y Summerell (2006).

### **Evaluación *in vitro* de Inhibición de Germinación de Esporas**

Se utilizó la técnica de inhibición de la germinación de esporas en microplaca. Se preparó medio de cultivo caldo PDA en una olla de presión (Presto Modelo 79291, capacidad 21 L) por 15 minutos a 15 libras a una temperatura de 121°C para su esterilización. Los extractos se prepararon en tubos de vidrio con 10 mL de agua destilada estéril, a partir de una solución madre de 3000 ppm se prepararon las concentraciones correspondientes (0, 100, 200, 400, 800, 100, 2000 y 3000 mg/L). Finalizada la esterilización se dejó enfriar el medio de cultivo, el cual se mezcló con la solución de extractos (de esta concentración se tomaron 100 µL), se agitaron por micro pipeteo para lograr homogenizar la solución con el medio y por último en cada tratamiento se agregó una cantidad de 200 µL (de esta solución se tomaron 100 µL para homogenizar la concentración de esporas  $1 \times 10^9$ ) en cada pocillo correspondiente.

El ensayo consistió en la preparación de tres microplacas, con las concentraciones de los extractos, mezcladas con la suspensión de esporas. Las microplacas se incubaron a una temperatura de  $25 \pm 2$  °C en cámara de crecimiento. Cada pocillo se consideró una repetición. De la germinación de esporas se corroboró los resultados obtenidos a través del método de microscopía óptica (40X), también se determinaron los porcentajes de germinación de esporas en un periodo de evaluación a las 24, 48 y 72 hrs. (Wilson *et al.*, 1997; Gabrielson *et al.*, 2002; Masoko *et al.*, 2005).

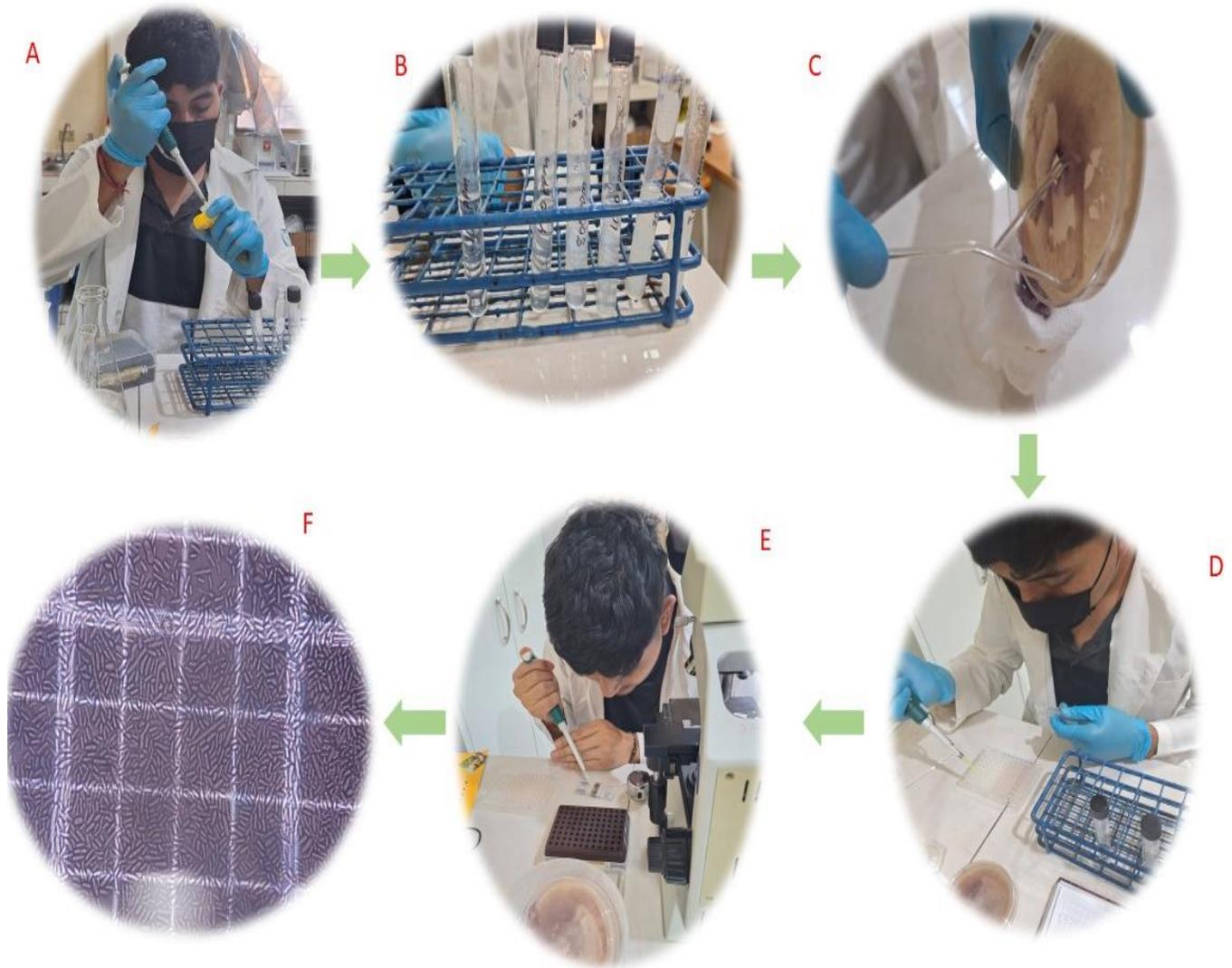


Figura 9. Diagrama general del experimento. A-B: Preparación de las dosis correspondientes en cada uno de los extractos. C: Recolección de las esporas de *Fusarium oxysporum* para la suspensión con el medio de crecimiento y extractos. D: Adicionamiento de cada uno de los extractos en la microplaca. E: Evaluación sobre la inhibición en el crecimiento de esporas en cámara de Neubauer. F: contabilización de esporas germinadas y no, de 24, 48 y 72 horas.

## **Diseño Experimental**

Se evaluó el efecto *in vitro* de extractos botánicos sobre las esporas de *F. oxysporum* bajo un diseño completamente al azar con 7 concentraciones (100, 200, 400, 800, 1000, 2000, 3000 mg/L) y un control, un testigo absoluto sin extractos (0 mg/L), con 8 repeticiones, considerado cada pocillo como una repetición.

## **Porcentaje de Inhibición**

Para realizar el análisis del porcentaje de inhibición, se calculó tomando en cuenta que la inhibición es el inverso del crecimiento y los resultados fueron calculados mediante las siguientes fórmulas (Tequida *et al.*, 2002; Moreno-Limón *et al.*, 2011):

El porcentaje de inhibición de esporas se determinará mediante la fórmula siguiente:

$$PIE = ((T1 - T2) / T1) \times 100$$

Donde:

PIE: es el porcentaje de inhibición de la esporulación

T1: representa el valor promedio del número de esporas del testigo

T2: es el valor promedio del número de esporas de la colonia inhibida (tratamiento).

## **Análisis**

Para determinar el efecto de los tratamientos sobre la inhibición en la germinación de esporas, se realizó un análisis de varianza y comparación de medias de los tratamientos con una prueba de rango múltiple de Tukey ( $P < 0.05$ ). Los datos de inhibición de esporas expresados en porcentaje serán transformados por raíz cuadrada de arcoseno para su análisis. Para los análisis se utilizará el software estadístico INFOSTAT (2020).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Identificación Morfológica

Se identificó el género *Fusarium* porque presenta micelio con una apariencia algodonosa, con diferente coloración dependiendo la edad, con conidióforos delgados y se veían agrupados y con dos tipos de conidias; una en forma de canoa (macroconidio) y el otro en forma ovalada unicelular, a lo que se llegó a las características mencionadas por Barnett y Hunter (1998).

Se logró determinar que la especie presente correspondía a *F. oxysporum*, debido a la observación de microconidios con morfología ovalada y elíptica, así como macroconidios con forma de canoa, los cuales presentaban en promedio tres septos, una célula basal corta y otra con apariencia de pie tales y como los menciona Leslie y Summerell (2006), el desarrollo del micelio comenzó con una tonalidad blanca, progresivamente cambió a un color anaranjado, y finalmente presentó una pigmentación violeta. Esta descripción también concuerda con lo descrito por Hernández *et al.* (2019). Este hongo forma parte del cepario de la UAAAN, lo cual fue identificado molecularmente, llegando a la misma especie identificada morfológicamente.

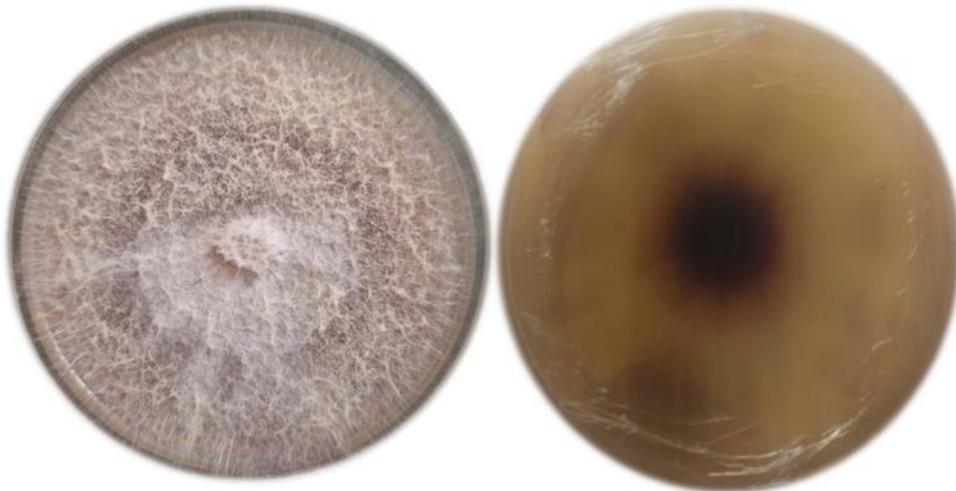


Figura 10. Crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* siete días después de siembra

## Prueba *in vitro* de Extracto de Semillas Verdes de *Moringa oleifera* en el Control de la Germinación de Esporas

De acuerdo a los resultados de la evaluación de las concentraciones de moringa verde, se procedió a calcular los porcentajes de inhibición en cada una de las dosis establecidas. Se tomó el factor de no germinación al observar si las esporas contaban o no con el tubo germinativo.

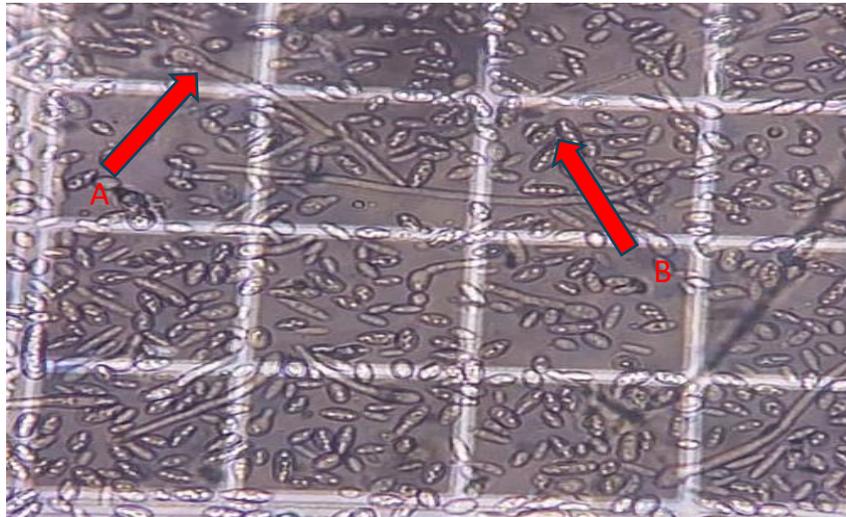


Figura 11. Microconidios de *Fusarium oxysporum*. A: espora germinada con tubo germinativo diferenciado. B: espora no germinada

Se puede observar los resultados después de evaluación en cada una de las diferentes dosis que se estableció, en un lapso de 72 horas. En el experimento con el extracto moringa verde se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (g.l: 7, f: 2489.55,  $p < 0.05$ ). Las concentraciones de 2000 ppm y 3000 ppm fueron las que alcanzaron hasta un 98% y 98.67% en la inhibición de la germinación de las esporas de *Fusarium oxysporum* respectivamente, aunque podemos observar en la tabla las concentraciones más bajas 100 y 200 ppm se obtienen resultados ya satisfactorios de 96.77% y 96.64% (Tabla 1). En un estudio realizado por Goss *et al.* (2017) sobre el crecimiento micelial de *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani* evaluaron extractos de semillas y hojas de moringa por separado al 10, 15, 20, 25 y 30%, del cual las observaciones mostraron que tanto los extractos de hojas

como los de semillas tuvieron efectos significativos en el crecimiento micelial de *Fusarium solani* ( $p < 0.001$ ), con respecto a los dos extractos evaluados extractos se obtuvo mayor inhibición de crecimiento micelial con el extracto de semillas en todas las concentraciones, aunque los efectos inhibidores se pronunciaron mejor a concentraciones de 20 y 25%, y en concentraciones del 30% ambos extractos mostraron un porcentaje de inhibición del 50%.

Tabla 1. Resultados de inhibición en la germinación de esporas de *Fusarium oxysporum* mediante el extracto de semillas verdes de *Moringa oleifera*.

TRATAMIENTO	MORINGA VERDE
Testigo	12.46±1.62 A
100 ppm	96.77±0.12 B
200 ppm	96.64±0.36 B
400 ppm	97.19±0.19 B
800 ppm	97.29±0.20 B
1000 ppm	97.56±0.21 B
2000 ppm	98±0.10B B
3000 ppm	98.67±0.04 B
<i>G.L</i>	7
<i>F</i>	2489.55
<i>P&lt;F</i>	<0.0001 ***

Datos transformados mediante la raíz cuadrada de arcoseno. Medias con la misma letra no son estadísticamente distintas (Tukey  $p < 0.05$ ). \*\*\* indica contraste significativo al valor de F con  $p < 0.001$ ).

Las dosis 2000 ppm y 3000 ppm (tabla 1) tienen efectos inhibitorios similares, cercanos a una inhibición al 100%, estos resultados son muy similares a los reportados por Reyes *et al.* (2022) en donde evaluaron extractos acuosos de *moringa oleifera* a una concentración del 25% (peso/volumen), y obtuvieron una inhibición del 99% y 100% sobre *Fusarium spp* y *Curvularia spp* en periodos de evaluación de siete y 10 días respectivamente.

La moringa verde cuenta con muchos fitoquímicos de suma importancia para el control de *Fusarium oxysporum*, y hay metabolitos secundarios más concentrados en la planta que le confieren estas propiedades antifúngicas. En un estudio realizado por Lago (2021) reportó que realizó extractos de *Moringa oleifera*, además de analizar las concentraciones de metabolitos secundarios de la planta por espectrofotometría, en donde los resultados le dieron que los principales metabolitos secundarios evidenciaron la presencia de taninos, flavonoides, aceites y grasas, esteroides y aminoácidos, y que en mayor medida se encontraron altos contenidos de fenoles y flavonoides.

En estudios sobre las semillas crudas de *Moringa oleifera* Santamaría *et al.* (2023) reportaron la presencia de taninos, saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, terpenoides y fitanos, estos mismos metabolitos secundarios coinciden con los evaluados por Cabrera *et al.* (2017), donde reportaron que obtuvieron determinaciones cuantitativas de principales metabolitos secundarios con extractos acuosos y con el método de espectrofotometría indicaron la presencia de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos, además de reportar cantidades de metabolitos secundarios utilizando diferentes métodos, en donde prevalecía mayores concentraciones de fenoles y flavonoides, y que en edades de 12 meses y altura intermedia de la planta fue donde había más concentración de estos compuestos secundarios.

De acuerdo a los estudios previos, se menciona la importancia del uso de estos compuestos para el control de los agentes infecciosos, y con la información de reportes sobre *Moringa oleifera* se destaca dos principales compuestos activos encargados de la inhibición del hongo, que son: flavonoides y fenoles. En la actualidad surgen muchas dudas sobre lo que realmente sucede al entrar en contacto estos compuestos con el hongo, por lo cual Kotb *et al.* (2017) en un apartado de su evaluación mencionaron que los compuestos fenoles tienen la capacidad de hacer una ruptura citoplasmática, alteran permeabilidad de las células por medio del pH, inhibición de enzimas en membranas, por lo cual inhiben notoriamente las esporulaciones. Además, esta información coincide con la reportada por Okummu *et al.* (2016) donde mencionan que las hifas de *Fusarium oxysporum* se pueden deformar por la interacción de los compuestos fenólicos con las proteínas de membranas.

## **Prueba *in vitro* de Extracto de Semillas Secas de *Moringa oleifera* en el Control de la Germinación de Esporas.**

El experimento con el extracto de moringa seca se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (g.l: 7, f: 2635.59,  $p < 0.05$ ). Las concentraciones de 2000 ppm y 3000 ppm fueron las que alcanzaron hasta un 98.36% y 98.63% en la inhibición de la germinación de las esporas de *Fusarium oxysporum* respectivamente, aunque a las concentraciones relativamente más bajas, de decir de 100 y 200 ppm se obtuvieron resultados satisfactorios con 95.56% y 96.53%, a lo que significa que desde la concentración más baja a la más alta la inhibición de las esporas están arriba del control adecuado (Tabla 2). Esta información coincide con un estudio realizado por El-Mohamedy y Abdalla (2015) en donde evaluaron extractos acuosos de raíces, hojas y cascara de vainas de *Moringa oleifera* en la mezcla con agua fue de 1:1 (p/v) para preparar una solución de planta al 100%, y prepararon concentraciones de 5, 10, 15, 20 y 25 % de extracto de raíz, y de 10, 20, 30, 40 y 50% de hojas y vaina; los hongos de este experimento fueron *F. oxysporum*, *F. solani*, *A. solani* y *M. phaseolina*, y sus concentración de extractos de raíces de moringa al 25% inhibió el 100 % de crecimiento radial de *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani*, y en cuanto a la germinación de esporas la máxima inhibición fue a 25 % con una porcentaje de 92.8 % de germinación.

Hlokwe *et al.* (2018) también evaluaron extractos con el método de metanol de *Moringa oleifera* contra la marchitez por *Fusarium* en tomate *in vitro*, donde se usaron 6 concentraciones diferentes de 0, 2, 4, 6, 8 y 10 g/ml del extracto de la planta como tratamiento y se le añadieron a 200 ml de PDA, y posteriormente se inoculo 5 mm de patógeno, la evaluación total fue a los  $\pm 7$  días después de la inoculación, en el que se vio efecto sobre el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*, porque el extracto redujo significativamente ( $p < 0.05$ ) el crecimiento micelial del hongo en todos los tratamientos, en donde las concentraciones de 8 g/ml y 10 g/ml inhibieron el 61 % y 76 % de crecimiento radial. Además, se hace una referencia que cuando los extractos son aplicados al suelo hay un aumento significativo en el pH lo que resulta una reducción en cuanto a la severidad del patógeno, por lo cual el efecto del extracto con en el suelo puede ser una de las principales ventanas de control para la marchitez por *Fusarium oxysporum*.

Tabla 2. Resultados de inhibición en la germinación de esporas de *Fusarium oxysporum* mediante el extracto de semillas secas de *Moringa oleifera*.

TRATAMIENTO	MORINGA SECA
Testigo	12.46±1.62 A
100 ppm	95.56±0.17 B
200 ppm	95.53±0.13 B
400 ppm	96.55±0.12 BC
800 ppm	96.83±0.07 BC
1000 ppm	97.69±0.07 BC
2000 ppm	98.36±0.09 C
3000 ppm	98.63±0.12 C
<i>G.L</i>	7
<i>F</i>	2635.59
<i>P&lt;F</i>	<0.0001 ***

Datos transformados mediante la raíz cuadrada de arcoseno. Medias con la misma letra no son estadísticamente distintas (Tukey  $p<0.05$ ). \*\*\* indica contraste significativo al valor de F con  $p<0.001$ ).

Una de las ventajas encontradas durante el desarrollo de este proyecto en los extractos de *Moringa oleifera* es que no es tóxico para la naturaleza, por lo contrario, el uso de estos extractos aporta múltiples ventajas al desarrollo de las plantas, incluyendo una acción protectora frente a diversos fitopatógenos, Yadav *et al.* (2023) reportaron que la aplicación de la variedad PKM-2 MOLE de moringa llevaron a un aumento en la capacidad fotosintética, polifenoles y capacidad antioxidante, es decir, más producción de enzimas antioxidantes y de defensa. Se tiene un incremento considerable de dismutasa de superóxido (SOD), peroxidasa (POX), oxidasa de polifenoles (PPO) y fenilalanina amonio-liasa (PAL), que uno de los constituyentes principales son en la defensa frente al estrés biótico y abiótico.

## **Prueba *in vitro* de Extracto de Semillas de *Thevetia peruviana* en el Control de la Germinación de Esporas**

El experimento con el extracto de Codo de Fraile se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (g.l: 7, f: 1280.11,  $p < 0.05$ ). Las concentraciones de 2000 ppm y 3000 ppm fueron las que alcanzaron hasta un 95.26% y 96.29% en la inhibición de la germinación de las esporas de *Fusarium oxysporum* respectivamente, aunque a las concentraciones relativamente más bajas, de decir de 100 y 200 ppm se obtuvieron resultados satisfactorios con 81.74% y 83.21%, a lo que significa que desde la concentración más baja a la más alta la inhibición de las esporas están arriba del control adecuado (Tabla 3). En estudios aún no se han evaluado este tipo de extractos específicamente contra *Fusarium oxysporum*, pero en un reporte realizado por Naz *et al.* (2014) evaluaron la inhibición de germinación de urediniosporas (roya de la hoja) en trigo, donde dichas esporas fueron inhibidas con éxito con extractos acuosos de *Thevetia peruviana* en un experimento *in vitro* y también las plantas que se rociaron con este extracto redujo significativamente la incidencia de la enfermedad (número de plantas infectadas) a una concentración de 1.2 %, en la germinación de esporas sobre las pruebas *in vitro* el extracto de *Thevetia peruviana* logro alcanzar una inhibición de germinación del 78%, a lo que en este proyecto tiene una similitud en la inhibición de la concentración de 100 ppm.

Por otro lado, Raj *et al.* (2021) evaluaron la eficacia antifúngica el extracto de la hoja de *Thevetia peruviana* contra *Alternaria solani*, el extracto se preparó con el método de extracción en frío, una en agua, 50% de hidroalcohol y alcohol absoluto. Fueron 20 mg de material seco en polvo que se suspendieron en 100 ml de agua, 50% ml de alcoholes y 100 ml de alcohol absoluto donde después de 48 se filtró y el material se usó como extracto, y en la concentración madre se usaron 100 mg de extracto con 10 ml de acetona (10 mg/ml). En la evaluación, el extracto de 100% alcohólico es la que tuvo una inhibición del 72% sobre crecimiento micelial.

Tabla 3. Resultados de inhibición en la germinación de esporas de *Fusarium oxysporum* mediante el extracto de semillas secas de *Thevetia peruviana*.

TRATAMIENTO	CODO DE FRAILE
Testigo	12.46±1.62 A
100 ppm	81.74±0.49 B
200 ppm	83.21±0.34 B
400 ppm	85.17±0.61 B
800 ppm	90.68±0.84 C
1000 ppm	91.96±0.51 CD
2000 ppm	95.26±0.39 DE
3000 ppm	96.29±0.55 E
<i>G.L</i>	7
<i>F</i>	1280.11
<i>P&lt;F</i>	<0.0001 ***

Datos transformados mediante la raíz cuadrada de arcoseno. Medias con la misma letra no son estadísticamente distintas (Tukey  $p<0.05$ ). \*\*\* indica contraste significativo al valor de F con  $p<0.001$ ).

El extracto de *Thevetia peruviana* cuenta con muchos metabolitos secundarios, y que hay algunos compuesto más concentrados que otros, además las concentraciones de estos son los que le confiere las propiedades antimicrobianas a la planta, por ellos en una evaluación realizada por Pacheco *et al.* (2024) hicieron un estudio preliminar de los constituyentes fitoquímicos principalmente de las hojas y semillas, en donde obtuvieron más concentraciones en flavonoides, triterpenoides y esteroides, pero además se obtuvo los principales constituyentes de ácidos grasos del aceite de las semillas en donde los ácidos oleicos tenían hasta un 46 % de concentración. Así mismo Mendoza *et al.* (2020) evaluaron los metabolitos secundarios de *Thevetia peruviana* en mediante pruebas químicas estándar y cromatografía de capas finas en el que detectaron concentraciones más concentraciones de flavonoides, triterpenos y fenoles.

El uso de esta planta en la actualidad es un tema de que hablar, ya que diversos estudios científicos demuestran que el consumo inadecua puede ser extremadamente tóxico para el ser humano, llegando incluso a la muerte. En un reporte hecho por Chauan *et al.* (2023) mencionan que cualquier parte de la planta puede resultar seriamente en una emergencia

toxicológica, ya que estas cuentan con presencia de varios glucosidos cardiacos, de los que se incluyen neriifolina, oleandrina, tehevtina A y thevetina B, aunque en un apartado se menciona que se hicieron pruebas de CL50 de extracto de la planta con camarones y se determinó el valor de 627.21 g/ml, a lo que indica un efecto de seguridad en el extracto. Por otro parte, Kumar *et al.* (2015) también mencionan que en diferentes partes de la planta se encuentra la presencia de glúcidos tóxicos y que inhiben enzimas  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ \text{ATPasa}$  del sistema cardiovascular. Por los casos de intoxicación de esta planta se ha recomendado que en su manejo tengan todas las medidas de seguridad adecuadas.

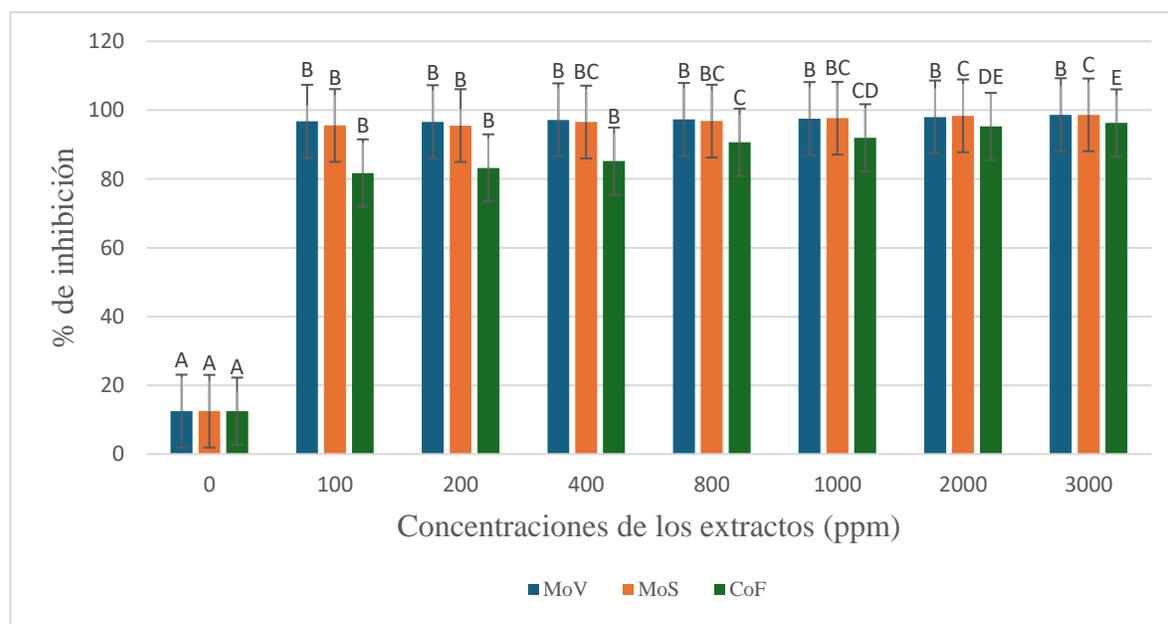


Figura 12. Inhibición en la germinación de esporas de *Fusarium oxysporum* con los tres extractos

Los tres extractos cumplen con buena actividad antifúngica para inhibir la germinación de esporas de *Fusarium oxysporum* en 3 días de evaluación, ya que desde las dosis más bajas de 100 y 200 ppm se tienen resultados arriba del 80% (Tabla 4). En el caso de las semillas verdes y secas de *Moringa oleifera* nos dice que los extractos de la planta la podemos hacer en diferentes estados fenológicos, ya que en el caso de las semillas obtenemos los mismos metabolitos secundarios, esto se puede observar ya que en todas las dosis se tienen resultados muy semejantes para ambos extractos.

## CONCLUSIÓN

Los extractos elaborados a partir de semillas verdes de *Moringa oleifera* poseen una notable capacidad antifúngica, superando el 90 % de inhibición en todas las concentraciones probadas, con un máximo del 98.67 % a 3000 ppm. De igual forma, los extractos de semillas secas de la misma especie mostraron un efecto inhibitor similar, alcanzando hasta un 98.63 %. En contraste, el extracto de *Thevetia peruviana* presentó una menor eficacia, con valores de inhibición que oscilaron entre 81.74 % y 96.29 %. Estos hallazgos posicionan al extracto de semillas verdes de *Moringa oleifera* como el más potente frente a la germinación de esporas de *Fusarium oxysporum*, en comparación con los otros extractos analizados.

## LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. (2005). Plant pathology. 5th ed. Amsterdam: Elsevier academic press.
- Álvarez, G. J. A., Santoyo, G., Rocha, G. M. (2020). *Pseudomonas fluorescens*: Mecanismos y aplicaciones en la agricultura sustentable. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 16(1), 1-10.
- Arias, Z. J. P. (2013). Optimización de parámetros de cultivo en suspensión de células de la especie vegetal *Thevetia peruviana* y su efecto en la producción de metabolitos secundarios.
- Babadoost, M. (2018). *Fusarium*: importancia histórica y continua. En Askun, Tulin., *Fusarium - Enfermedades de las plantas, diversidad de patógenos, diversidad genética, resistencia y marcadores moleculares. Balikesir: InTech*.  
<https://doi.org/10.5772/intechopen.69673>
- Bandara, V., Weinstein, S., White, J., and Eddleston, M. (2010). A review of the natural history, toxinology, diagnosis and clinical management of *Nerium oleander* (common oleander) and *Thevetia peruviana* (yellow oleander) poisoning. *Toxicon*, 56, 273-281.  
<https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.03.026>
- Barcenas, S. D., Guillén, S. D., Yazmín, B. C., Ramos, G. M., & Valle, D. M. (2020). Etiología de la secadera de la fresa (*Fragaria spp.*) en Morelos, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 37(3), 454-463.
- Barnett, H. L. and Hunter, B. B. (1998). Illustrated genera of imperfect of fungi. Fourth Edition. The American Phytopathological Society. St Paul, Minnesota. USA. 218 p.
- Cabrera, C. J. L., Jaramillo, J. C., Dután, T. F., Cun, C. J., García, P. A., & Rojas, A. L. (2017). Variación del contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en *Moringa oleifera* Lam. En función de su edad y altura. *Bioagro*, 29(1), 53-60.
- Cerqueira, V. M. D., Barcellos, C. H., Bueno, F. P. M., Aires, V. J., and Dummer, M. D. (2016). Antifungal activity of plant extracts with potential to control plant pathogens

- in pineapple. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(1), 26-31.  
<https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.09.026>
- Chauhan, V. S., Mazumder, A., and Chandel, S. (2023). *Thevetia peruviana*: Its Phytochemistry, Traditional and Medicinal Uses, and Pharmacological Activities. *Int J Drug Deliv Technol*, 13, 1657-1663.
- Dita, M., Barquero, M., Heck, D., Mizubuti, E., and Staver, C. P. (2018). *Fusarium* wilt of banana: current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable disease management. *Plant Sci*, 9, 1468. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01468>
- Domínguez, X. A. 1973. Métodos de investigación Fitoquímica. Editorial Limusa S.A., Primera Edición, México 1D.F.40-68 pp.
- El-Mohamedy, R. S., and Abdalla, A. M. (2015). Evaluation of antigungal activity of *Moringa oleifera* extracts as natural fungicide against some plant pathogenic fungi *in-vitro*. *Journal of Agricultural Technology*, 10(4), 963-982.
- Fan, H., Dong, H., Xu, C., Liu, J., Hu, B., Ye, J., Mai, G., and Li, H. (2017). Pectin methylesterases contribute the pathogenic differences between races 1 and 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Scientific Reports*, 7, 13140. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13625-4>
- Forero-Reyes, C. M., Alvarado-Fernández, A. M., Ceballos-Rojas, A. M., González-Carmona, L. C., Linares-Linares, M. Y., Catañeda-Salazar, R., Pulido-Villamarín, A., Góngora-Medina, M. E., Cortés-Vecino, J. A., & Rodríguez-Bocanegra, M. X. (2018). Evaluación de la capacidad patogénica de *Fusarium* spp. en modelos vegetales y murino. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(1), 90-96. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.11.009>
- Forster, N., Ulrichs, C., Schreiner, M., Muller, C., and Mewis, I. (2015). Development of a reliable extraction and quantification method for glucosinolates in *Moringa oleifera*. *Food Chemistry*, 166, 456-464. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.043>
- Gabrielson, J., Hart, M., Jarelöv, A., Kühn, I., McKenzie, D., and Möllby, R. (2002). Evaluation of redox indicators and the use of digital scanners and spectrophotometer

- for quantification of microbial growth in microplates. *Journal of Microbiological Methods*, 50(1), 63-73
- Gandji, K., Chadare, F. J., Idohou, R., Salako, V. K., Assogbadjo, A. E., and Glele, K. R. L. (2018). Status and utilisation of *moringa oleifera* lam: a review. *African Crop Science Journal*, 26(1), 137-156. <http://dx.doi.org/10.4314/acsj.v26i1.10>
- García, J. (2018). Inhibición del crecimiento de *Phytophthora citrophthora* en presencia de extractos de *Thevetia peruviana*.
- Garcia, R. E., Contreras, O. A., Salinas, R. J., Hernandez, R. G., Spinoso, C. J. L., and Colmenares, C. S. I. (2023). Plant extracts control *in vitro* growth of disease-causing fungi in chayote. *Plants*, 12(9), 1800. <https://doi.org/10.3390/plants12091800>
- GBIF. (2024). *Cascabela thevetia* (L.) Lippold. Recuperado el 25 de Marzo del 2025, de <https://www.gbif.org/es/species/3169652>
- Gordon, T. R. (2017). *Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* Wilt Syndrome. *Annual Review of Phytopathology*, 55, 23-39. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-095919>
- Goss, M., Mafongoya, P., and Gubba, A. (2017). *Moringa oleifera* extracts effect on *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani* growth. *Asian Research Journal of Agricultura*, 6(1), 1-10. <https://doi.org/10.9734/ARJA/2017/29835>
- Guo, L., Yang, L., Liang, C., Wang, G., Dai, Q., & Huang, J. (2015). Differential colonization patterns of bananas (*Musa* spp.) by physiological race 1 and race 4 isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Journal Phytopathology*, 163, 807-817. <https://doi.org/10.1111/jph.12378>
- Hernandez, A. F., Lisón, P., Rodrigo, I., Bellés, J. M., & López, G. M. P. (2021). Señalización en la inmunidad del tomate frente a *Fusarium oxysporum*. *Moléculas*, 26(7), 1818. <https://doi.org/10.3390/molecules26071818>

- Hernandez, A. A. D., Pineda, L. A. J., & Noriega, C. H. W. (2019). Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum* obtenidos de zonas productoras de "ají paprika" *Capsicum annumm* L. (Solanaceae) en el distrito de Barranca, Perú. *Arnaldoa*, 26(2), 689-698. <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.262.26211>
- Hernández, R. J., & Iglesias, M. I. (2022). Efectos benéficos de la *Moringa oleifera* en la salud de las personas. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 38(1), e1682.
- Hlokwe, M. T. P., Kena, M. A., and Mamphiswana, N. D. (2018). Evaluating crude extracts of *Masonia burkeana* and *Moringa oleifera* against *Fusarium* wilt of tomato. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B- Soil and Plant Science*, 68(8), 757-764. <https://doi.org/10.1080/09064710.2018.1484946>
- Huarhua, M., Aragón, L., Flores, J., Tsuzuki, R., & Arie, T. (2020). Primer reporte de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 1 aislada de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) proveniente de la Costa central del Perú. *Scientia Fungorum*, 50. <https://doi.org/10.33885/sf.2020.50.1257>
- Jackson, E., Li, J., Weerasingue, T., and Li, X. (2024). The ubiquitous wilt-inducing pathogen *Fusarium oxysporum*—a review of genes studied with mutant análisis. *Pathogens*, 13(10), 823. <https://doi.org/10.3390/pathogens13100823>
- Kobt, D. A., Shahein, M. R., Whab, M. E., and Metwally, M. M. K. (2017). Determination of polyphenolic compounds and antioxidant activity of olive leave, moringa leave and marigold petals extracts. *World J Dairy Food Sci*, 12(2), 102-107. <https://doi.org/10.5829/idosi.wjdfs.2017.102.107>
- Kopper. (2024). Fusariosis bascular. Recuperado el 02 de diciembre de 2024, de <https://www.koppert.mx/enfermedades-de-las-plantas/fusariosis-vascular/>
- Kumar, P., Atreya, A., and Kanchan, T. (2015). *Thevetia peruviana*. *Wilderness & Environmental Medicine*, 26(4), 590-591. <https://doi.org/10.1016/j.wem.2015.07.007>
- Kumar, S. S., Kumar, S. S., and Singh, A. (2024). Piscicidal Activity of *Thevetia peruviana* Latex against Freshwater Fish in Laboratory and Cement Plastering Pond Conditions.

*Contemporary Research and Perspectives in Biological Science*, 3(26), 37-48.  
<https://doi.org/10.9734/bpi/crpbs/v3/2044>

- Lago, V., Almora, H. E., Gonzáles, G. K., Hernández, R. Y., Echemendia, A. O., & Monteagudo, B. R. (2021). Metabolitos secundarios y capacidad antioxidante de hojas secas de *Moringa oleifera* Lam. Cultivada en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 26 (1), 1-12.
- Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, J., Aristil, J., and Bertoli, S. (2015). Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Leaves: An Overview. *Internacional Journal of Molecular Sciences*, 16, 12791-12835. <https://doi.org/10.3390/ijms160612791>
- Leslie, J. F., Summerell, B. A. (2006). The *Fusarium* laboratory manual. Ames, Iowa, USA, Blackwell Publishing. 388 Pag. ISBN-13: 978-0-8138-1919-8
- Li, C., Yang, J., Li, W., Sun, J., & Peng, M. (2017). Direct Root Penetration and Rhizome Vascular Colonization by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* are the Key Steps in the Successful Infection of Brazil Cavendish. *Plant Disease*, 101(12), 2073-2078. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-17-0467-RE>
- Lopez, Z. S. P., Castaño, Z. J. (2019). Manejo integrado del mal de Panamá *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. sp. *cubense* (E.F. SM.) W.C. Snyder & H.N. Hansen: una revisión. *Revista UDCA Actualidad y Divulgación Científica*, 22(1). <https://doi.org/10.31910/rudca.v22.n2.2019.1240>
- Lu, D., Ma, Z., Xu, X., and Yu, X. (2016). Isolation and identification of biocontrol agent *Streptomyces rimosus* M527 against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Journal of Basic Microbiology*, 56(8), 929-933. <https://doi.org/10.1002/jobm.201500666>
- Ma, L. J., Geiser, D. M., o'Donell, K., Proctor, E. H., Rooney, A. P., Trail, F., Gardiner, D. M., Manners, J. M., and Kazan, K. (2015). *Fusarium* pathogenomic. *Annual Review of Microbiology*, 67(1), 399-426.

- Manilal, A., & Idhayadhulla, A. (2014). Potential in vitro antimicrobial efficacy of *Holigarna arnottiana* (Hook F). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(1), 25-29. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60203-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60203-3)
- Martínez -Ruiz, F. E., Cervantes-Díaz, L., Aíl-Catzím, C. E., Hernandez-Montiel, L. G., Del Toro-Sanchez, C. L., & Rueda-Puente, E. O. (2016). Hongos fitopatógenos asociados al tomate (*Solanum Lycopersicum L.*) en la zona árida del noroeste de México: la importancia de su diagnóstico. *Revista Científica Europea, ESJ*, 12(18), 232. <https://doi.org/10.19044/esj.2016.v12n18p232>
- Martínez, S. D., Yu, H., Allen, K. S., & Jun, M. L. (2023). Differential colonization of the plant vasculature between endophytic versus pathogenic *Fusarium oxysporum* strains. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*, 36(1), 4-13. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-22-0166-SC>
- Marx-Stoelting, P., Knabel, C., and Braeuning, A. (2020). The connection of azole fungicides with xeno-sensing nuclear receptors, drug metabolism and hepatotoxicity. *Cells*, 9(5), 1192. <https://doi.org/10.3390/cells9051192>
- Masoko, P., Picard, J., & Eloff, J. N. (2005). Antifungal activities of six south African *Terminalia* species (Combretaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 99(2), 301-308.
- Maurya, S., Dubey, S., Kumari, R., and Verma, R. (2019). Management tactics for *Fusarium* wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.): a review. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(5), 01-07.
- Mendoza, D., Arias, J. P., Cuaspid, O., and Arias, M. (2020). Phytochemical Screening of Callus and Cell Suspensions Cultures of *Thevetia peruviana*. *Archivo Brasileño de Biología y Tecnología*, 63, e20180735. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2020180735>
- Mesa, V. A. M., Marín, P., Ocampo, O., Calle, J., & Monsalve, Z. (2019). Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. *Revista de Investigación Agropecuaria*, 45(1), 23-30.

- Moore, D., Robson, G. D., and Trinci, A. P. (2020). *21st century guidebook to fungi*. Cambridge University Press.
- Moo-Koh, F. A., Cristóbal, A. J., Tun, S. J. M., Medina, B. I. L., Arjona, C. A. A., and Gamboa, A. M. (2022). Activity of aqueous extracts from native plants of the Yucatan Peninsula against fungal pathogens of tomato *in vitro* and from *Croton chichenensis* against *Corynespora cassicola* on tomato. *Plants*, 11(21), 2821. <https://doi.org/10.3390/plants11212821>
- Moreno-Limón, S., González-Solís, L. N., Salcedo-Martínez, S. M., Cárdenas-Ávila, M. L., y Perales-Ramírez, A. 2011. Efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* L.) sobre la inhibición *in vitro* de *Aspergillus flavus* y *Penicillium* sp. *Polibotánica*, (32), 193-205.
- Morillo, E. (2020). La emigración irlandesa decimonónica tras la gran hambruna, parte intrínseca del carácter irlandés. *Revista de Humanidades*, (41), 89-114.
- Naz, R., Bano, A., Wilson, N. L., Guest, D., and Roberts, T. H. (2014). Pathogenesis-related protein expression in the apoplast of wheat leaves protected against leaf rust following application of the plant extracts. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-11-13-0317-R>
- Ngukuran, J. A., and Iruoghene, E. G. (2023). *Moringa oleifera*: a valuable insight into recent advances in medicinal uses and pharmacological activities. *Science of Food and Agriculture*, 103(15), 7343-7361. <https://doi.org/10.1002/jsfa.12892>
- Okumu, M. O., Mbaria, J. M., Kanja, L. W., Gakuya, D. W., Kiama, S. G., and Ochola, F. O. (2016). Phytochemical profile and antioxidant capacity of leaves of *Moringa oleifera* (Lam) extracted using different solvent systems. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(4), 302-308.
- Olson, M. E., & Fahey, J. W. (2011). *Moringa oleifera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82(4), 1071-1082.
- Pacheco, L. D. J., Taborda, M. M. E., & De la Rosa, T. C. (2023). Estudio fitoquímico preliminar y evaluación de la actividad antifúngica de extractos de hojas, cortezas y semillas de *Thevetia peruviana* (Persoon) Schum. *Revista Unimagdalena*.

- Pareek, A., Malvika, P., Mohan, G. M., Kashania, P., Ratan, Y., Jain, V., Pareek, A., and Chuturgoon, A. A. (2023). *Moringa oleifera*: an updated comprehensive review of its pharmacological activities, ethnomedicinal, phytopharmaceutical formulation, clinical, phytochemical, and toxicological aspects. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2098. <https://doi.org/10.3390/ijms24032098>
- Pramod, K. G., Atreya, A., and Kanchan, T. (2015). *Thevetia peruviana*. *Wilderness & Environmental Medicine*, 26, 590-591.
- Rahman, M. Z., Ahmad, K., Bashir, K. A. A., Siddiqui, Y., Saad, N., Geok, H. T., Hata, E. M., & Hossain, M. I. (2021). Biología, Diversidad, Detección y Manejo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* que causa la enfermedad del marchitamiento vascular de la sandía (*Citrullus lanatus*): una revisión. *Agronomía*, 11 (7), 1310. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071310>
- Raj, M. B., M, S., Chittora, D., and Sharma, K. (2021). Antifungal efficacy of *Thevetia peruviana* leaf extract against *Aternaria solani* and characterization of novel inhibitory compounds by gas chromatography-mass spectrometry analysis. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 25, 100914. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2021.100914>
- Ramu, V., Venkatarangaiah, K., Krishnappa, P., Shimoga Rajanna, S. K., Deeplanaik, N., Chandra Pal, A., and Kini, K. R. (2016). Identification of Biomarkers for Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Infection and *in Silico* Studies in *Musa paradisiaca* Cultivar Puttabale through Proteomic Approach. *Proteomes*, 4(1), 9. <https://doi.org/10.3390/proteomes4010009>
- Rangel, R. L., Perez, S. A., Zavala, G. M., Hernandez, J, A., & Hernandez, R. J. (2023). Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum* obtenido de cultivos de *Solanum lycopersicum* en Irapuato, Guanajuato
- Rehman, K. R. A., Afzal, A., Aati, H., Aati, S., Rao, H., Ahmad, S., Hussain, M., and Rehman, K. K. (2024). Phytochemical characterization of *Thevetia peruviana* (lucky nut) bark extracts by GC-MS analysis, along with evaluation of its biological

- activities, and molecular docking study. *Heliyon*, 10(13), e33151. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33151>
- Reyes, C. B., Lorenzo, N. M. E., Castellanos, G. L., P, Y., & Jimenez, C. R. (2022). Potencial fungicida de cinco extractos vegetales sobre *Lasidiopodia theobromae*, *Fusarium* spp y *Curvularia* spp. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 22(2), 44-49. <https://doi.org/10.24054/cyta.v7i2.2808>
- Ríos, H. T. A., Uc, V. A., & Evangelista, M. Z. (2021). Control biológico de *Fusarium oxysporum*, agente causal de la pudrición del corno en gladiolo, mediante estreptomicetos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 39(3), 391-413.
- Ríos, H. T. A., UC, V. A., Evangelista, M. Z. (2021). Control biológico de *Fusarium oxysporum*, agente causal de la pudrición del corno en gladiolo, mediante estreptomicetos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 39(3), 391-413. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2105-3>
- Rodrigo, S., García-Latorre, C., and Santamaria, O. (2022). Metabolites produced by fungi against fungal phytopathogens: review, implementation and perspectives. *Plant*, 11(1), 81. <https://doi.org/10.3390/plants11010081>
- Rodriguez, C. A., Torres, H. S., Domínguez, C. A., Romero, G. A., & Silva, F. M. (2020). Extractos vegetales para el control de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*, una alternativa sostenible para la agricultura. *Abanico Agroforestal*, 2, 1-13.
- S.A.S. Institute. 2002. The SAS System for Windows, Release 9.0. SAS, Institute, Cary N. C. U.S.A.
- Salazar, G. C., Lagos, M. L. E., Días, R. V., Mora, C. S., & Betancourth, G. C. (2020). Salazar González, C., Lagos Mora, L. E., Díaz Rodríguez, V., Mora Chaves, S., & Betancourth Garcia, C. (2020). Caracterización de *Fusarium* spp. asociado con la pudrición basal de la cebolla de rama. *Revista UDCA Actualidad y Divulgación Científica*, 23(1).

- Sanjay, P., & Dwivedi, K. N. (2015). Shingru (*Moringa oleifera* Lam.): Una revisión crítica. *Revista Internacional de Ayurveda y Química Farmacéutica*, 3(1), 217-227.
- Santamaria, H. M. M., Quintero, L. A., Piloni, M. J., & López, P. C. U. (2023). Metabolitos secundarios con efectos tóxicos presentes en la semilla de moringa (*Moringa oleifera*). *Ciencia Latina Revista Multidisciplinar*, 7(1), 9637-9646. [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v7i1.5162](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i1.5162)
- Seifert, K. (1996). Clave interactiva Fuskey-*Fusarium*. Agricultura y Agroalimentación, Canadá. ISBN: 9780662241119, 0662241118
- SENASICA. (2020). Ficha técnica, *Fusarium spp.* (Hypocreales: Nectriaceae) Podredumbre de raíces.
- Tamilselvi, N. A., & Arumugan, T. (2017). Enfoques de mejoramiento para la producción sostenible de hortalizas: una revisión. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 6(11), 2845-2860. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.336>
- Tequida-Meneses, M., Cortez-Rocha, M., Rosas-Burgos, E. C., López-Sandoval, S., & Corrales-Maldonado, C. (2002). Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 19, 84-88.
- Vásquez, R. L. M., Castaño, Z. J. (2017). Manejo integrado de la marchitez vascular del tomate [*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (SACC.) W.C. SNYDER & H.N. HANSEN]: una revisión. *Revista UDCA Actualidad y Divulgación Científica*, 20(2), 363-374.
- Vega, L. M., & Granado, M. M. (2023). Eficacia de benomil y folpet sobre *Fusarium oxysporum* patógeno de la fresa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 14(3), 485-490. <https://doi.org/10.29312/remexca.v14i3.3253>

- Velázquez, Z. M., Peón, E. I., Zepeda, B. R., and Jimenez, A. M. A. (2016). Moringa (*Moringa oleifera* Lam.): usos potenciales en agricultura, industria y medicina. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 22(2), 95-116. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2015.07.018>
- Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, R., Morales-Morales, H. A., Basurto-Sotelo, M., Soto-Parra, J. M., & Martínez-Escudero, E. (2015). Situación actual en el control de *Fusarium* spp y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*, 64(2), 194-205.
- Wang, Q., Sun, Z., Li, T., Tiantian, A., Zhou, Z., Liu, J., Chen, X., and Wang, A. (2025). Identifying a Biocontrol Bacterium with Disease-Prevention Potential and Employing It as a Powerful Biocontrol Agent Against *Fusarium oxysporum*. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(2), 700. <https://doi.org/10.3390/ijms26020700>
- Wilson, C. L., Solar, J. M., El Ghaouth, A., and Wisniewski, M. E. (1997). Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Dis.* 81, 204-210.
- Yang, W., Wang, L., Li, X., Yan, H., Zhong, B., Du, X., Guo, Q., Él, T., and Luo, Y. (2024). Biological Control Potential of *Bacillus subtilis* Isolate 1JN2 against *Fusarium* Wilt on Cucumber. *Horticulturae*, 10(8), 843. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10080843>
- Yadav, S., Goswami, P., and Mathur, J. (2023). Evaluation of fungicidal efficacy of *Moringa oleifera* Lam. leaf extract against *Fusarium* wilt in wheat. *Journal of Natural Pesticide Research*, 4, 100034. <https://doi.org/10.1016/j.napere.2023.100034>
- Zhang, X., Wang, H., Zhu, W., Li, W., and Wang, Fu. (2020). Transcriptome Analysis Reveals the Effects of Chinese Chive (*Allium tuberosum* R.) Extract on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* Spore Germination. *Current Microbiology*, 77, 855-864. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-01875-x>