

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA



Actividad Antifúngica *in vitro* de Extractos Vegetales y *Bacillus subtilis* sobre
Macrophomina phaseolina Causante de la Pudrición Carbonosa del Frijol

Por:

LEZLY PIEDRA LÓPEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila, México

Octubre, 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Actividad Antifúngica *In Vitro* de Extractos Vegetales y *Bacillus subtilis* Sobre
Macrophomina phaseolina Causante de la Pudrición Carbonosa del Frijol

Por:

LEZLY PIEDRA LÓPEZ

TESIS

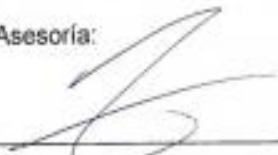
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Aprobada por el Comité de Asesoría:




Dr. Marco Antonio Tucuch Pérez
Asesor Principal




M.C. Jesús Eduardo Ramírez Méndez
Asesor Principal Externo



Dra. Fabiola Aureoles Rodríguez
Coasesora



Dr. Víctor Manuel Salas Reyes
Coasesor



Dr. Alberto Sandoval Ríos
Coordinador de la División de Agronomía




Saltillo, Coahuila, México

Octubre, 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, graficas, 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

Leidy Bedra López 

Firma y Nombre

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Agradezco, primeramente, a Dios por permitirme llegar hasta donde estoy. Por ser mi guía y mi fortaleza en cada etapa de mi vida. A la iglesia de Saltillo por brindarme un hogar y una familia, por ser mi apoyo en los días más difíciles.

A MI ALMA TERRA MATER

Con profundo respeto agradezco a mi Alma Terra Mater por todo el conocimiento brindado que recibí en cada una de sus aulas y en los grupos culturales de los cuales fui parte. porque durante mi estancia en ella, nunca me hizo falta el alimento, y la compañía

A MIS ASESORES DE TESIS

Gracias al Dr. Marco Antonio Tucuch por ser motivación para elegir este proyecto de investigación, por sus consejos, por su amistad y por estar en todo el proceso de inicio a final. Al Dr. Jesús Eduardo Ramírez por guiarme en los procesos que realicé durante mi proyecto de investigación, por la paciencia para enseñarme cada método y por la insistencia que tuvo para que pudiera terminar. Al Dr. Daniel Hernández por permitirme trabajar con él, con sus alumnos y por darme el espacio para poder seguir aprendiendo. A la Dra. Fabiola Aureoles, que durante la carrera fue mi tutora, gracias por su motivación, por sus consejos y por el apoyo que me ha brindado hasta hoy.

A MIS MAESTROS

Agradezco a cada uno de los profesores que intervinieron para mi formación académica y por su conocimiento brindado.

A MI FAMILIA

A mis padres, Gregoria López Torres y a Juan Carlos Piedra Almanza, gracias por su apoyo y su infinito amor hacia mí. Por tenerme la confianza y por ayudarme a llegar hasta donde me encuentro hoy. A mis hermanos, Juan Carlos, Evelyn, Emiliano y Aranza gracias por su cariño y apoyo que me han brindado. Gracias a

mis abuelitos, a mis tíos y primos, gracias por sus oraciones y por su compañía en este camino.

A MIS AMIGOS

Gracias a todos los que fueron parte de esta aventura. Gracias Lucy por ser mi amiga, mi compañera y mi hermana, por ser mi pilar en los días más tristes, por estar para mí, por recordarme siempre que podíamos lograrlo. Gracias Gera, Michaca, Adrián Martínez y Gabriel por compartir sus conocimientos conmigo, por tenerme paciencia y por enseñarme cosas que yo no sabía. A Mishi, Pati, Erika, Liz, Rebe, Jime y Dulce por ser mis amigas y por su cariño.

A mis amigos de la IASD, Biane, Vic, Emanuel Y Kelly, gracias por su amistad y por compartir su fe conmigo.

A las niñas de la escolta, Karen, Lupita, Shedey, Arely, Jesse y Vianney, gracias por hacer mis tardes más amenas y por la motivación de ser mejores cada día.

Y a mis amigos que encontré en el trabajo y que fueron apoyo para poder terminar este proceso. Al Ing. Martin, a Shes, Alison, Ing. Lulú, Tato, y Yessy, gracias por sus muestras de cariño y por todo el apoyo.

DEDICATORIA

En memoria de mi abuelito Delfino Piedra Almanza. Gracias por todo lo que me enseñó y por ser un ejemplo en mi vida.

INDICE

INTRODUCCIÓN	1
Justificación	3
Objetivo general	3
Objetivos específicos	3
Hipótesis	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
Importancia económica del cultivo de frijol en México.....	5
Taxonomía del frijol	6
Descripción botánica del frijol.....	7
Tallo.....	7
Raíz.....	7
Hojas	7
Flores	8
Fruto	8
Semilla.....	8
Enfermedades fúngicas asociadas al cultivo del frijol.....	8
<i>Macrophomina phaseolina</i>	9
Importancia de <i>Macrophomina phaseolina</i> en el cultivo de frijol	10
Medidas de control de <i>Macrophomina phaseolina</i> en el cultivo de frijol.....	10
Control químico.....	11
Control cultural.....	11
Control biológico y natural	11
Extractos vegetales para control de <i>Macrophomina phaseolina</i>	12

<i>Bacillus subtilis</i> para control de <i>Macrophomina phaseolina</i>	13
Perspectivas futuras para el control de <i>Macrophomina phaseolina</i>	13
MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
Obtención de microorganismos.....	15
Obtención de extractos vegetales.....	15
Caracterización de fitoquímicos presentes en los extractos vegetales mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución Acoplada a Espectrometría de Masas (HPLC-MS).....	15
Actividad antifúngica de extractos vegetales sobre <i>Macrophomina phaseolina</i> por el método de medio envenenado.....	16
Actividad antagónica de <i>Bacillus subtilis</i> sobre <i>Macrophomina phaseolina</i> mediante la técnica de cultivo dual.....	17
Dónde: R1= crecimiento radial del patógeno (diámetro en centímetros) R2= Diámetro de la colonia en la placa tratada (porcentaje).....	17
Preparación de los filtrados de <i>Bacillus subtilis</i>	17
Actividad antifúngica de <i>Euphorbia antisyphilitica</i> , <i>Helianthus annuus</i> , y <i>Thymus vulgaris</i> y filtrados de <i>Bacillus subtilis</i> sobre <i>Macrophomina phaseolina</i> en hojas de frijol.....	18
Análisis Estadístico.....	19
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
Caracterización de fitoquímicos presentes en <i>Euphorbia antisyphilitica</i> , <i>Helianthus annuus</i> , y <i>Thymus vulgaris</i> mediante HPLC-MS.....	20
Actividad antifúngica de extractos vegetales sobre <i>Macrophomina phaseolina</i> por el método del medio envenenado.....	23
Actividad antagónica de <i>Bacillus subtilis</i> sobre <i>Macrophomina phaseolina</i> por el método de cultivo dual.....	25

Actividad antifúngica de extractos vegetales y filtrados de <i>Bacillus subtilis</i> sobre el crecimiento de <i>Macrophomina phaseolina</i> en hojas de frijol.	25
CONCLUSIONES	28
REFERENCIAS.....	29
ANEXOS.....	42

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Principales estados productores de frijol en México	6
Cuadro 2. Compuestos fitoquímicos identificados en extractos de <i>Euphorbia antisyphilitica</i> , <i>Helianthus annuus</i> y <i>Thymus vulgaris</i> por HPLC-MS	22
Cuadro 3. Concentración inhibitoria al 50 y 90 % de extractos de <i>Euphorbia antisyphilitica</i> , <i>Helianthus annuus</i> , y <i>Thymus vulgaris</i> sobre <i>Macrophomina phaseolina</i>	24

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de inhibición de <i>Euphorbia antisyphilitica</i> , <i>Helianthus annuus</i> y <i>Thymus vulgaris</i> sobre <i>Macrophomina phaseolina</i> por el método de medio envenenado.	23
Figura 2. Área bajo la curva de progreso de la enfermedad de extractos de <i>Euphorbia antisyphilitica</i> , <i>Helianthus annuus</i> , <i>Thymus vulgaris</i> y filtrados de <i>Bacillus subtilis</i> sobre <i>Macrophomina phaseolina</i>	26

RESUMEN

Macrophomina phaseolina causa la pudrición carbonosa del frijol, una enfermedad que reduce considerablemente el rendimiento y la producción del cultivo. Debido a lo anterior mencionado, en la actualidad se desarrollan alternativas ecológicas como los extractos vegetales y el uso de microorganismos antagonistas. El objetivo del presente estudio fue la caracterización fitoquímica de un extracto cetónico de *Euphorbia antisiphilitica*, y de los extractos etanólicos de *Helianthus annuus* y *Thymus vulgaris*, además de la evaluación de la actividad antifúngica *in vitro* de los extractos vegetales y de una cepa de *Bacillus subtilis* sobre *M. phaseolina*. La caracterización fitoquímica se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS), y la determinación de la actividad antifúngica de los extractos vegetales se llevó a cabo por el método de medio envenenado utilizando concentraciones del 1 al 80 %, en tanto que la efectividad de la cepa de *B. subtilis* se determinó mediante la técnica de cultivo dual, posteriormente se calculó la Concentración Inhibitoria al 50 % (CI₅₀) mediante un análisis Probit, y con estos resultados se probaron las CI₅₀ de los extractos y filtrados de *B. subtilis* (FBS) mediante la técnica de hoja desprendida (THD) en la que se calculó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC). Se identificaron fitoquímicos como el ácido cafeico, diosmina, apigenina y patuletina, los cuales han mostrado poseer propiedades antifúngicas. En relación a la actividad antifúngica, se observó inhibición del 100% de *M. phaseolina* a dosis del 20% con *H. annuus* y *T. vulgaris*, y del 80% con *E. antisiphilitica*, mientras que *B. subtilis* presentó inhibición del 51.7%. En cuanto a los datos obtenidos en la THD, los FBS y los extractos de *T. vulgaris* y *H. annuus* resultaron altamente efectivos, limitando el crecimiento de *M. phaseolina* a un 7.14%, 12.57% y 13.86%, respectivamente. Los resultados muestran que *B. subtilis*, así como los extractos de *T. vulgaris* y *H. annuus* fueron altamente efectivos para controlar *M. phaseolina*.

Palabras clave: Frijol (*Phaseolus vulgaris*), *Macrophomina phaseolina*, *Euphorbia antisiphilitica*, *Helianthus annuus* y *Thymus vulgaris*, *Bacillus subtilis*.

INTRODUCCIÓN

En México, el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es uno de los más importantes tanto en consumo como en comercialización. En 2024, la producción nacional alcanzó 584,645 t, con una superficie cultivada de 1,018,769 ha, destacando los estados de Zacatecas, Durango, Chiapas, Guanajuato y San Luis Potosí como los principales productores (SIAP, 2025). Sin embargo, el cultivo de frijol enfrenta diversas enfermedades que afectan su rendimiento y calidad, siendo una de las más devastadoras la “pudrición carbonosa”, causada por el hongo fitopatógeno *Macrophomina phaseolina*, el cual, si no es controlado puede ocasionar pérdidas de rendimiento de hasta el 100 % (Mayek-Pérez *et al.*, 2009; Mayek-Pérez y Hernández-Delgado, 2010).

M. phaseolina es un hongo capaz de infectar una amplia variedad de hospederos, manifestándose con la producción de micelio, microesclerocios y picnidios en los tejidos afectados (Mayek-Pérez y Hernández-Delgado, 2010). Su control ha sido principalmente mediante fungicidas sintéticos; sin embargo, estos han mostrado baja eficacia debido a la rápida propagación del patógeno. Además, su uso excesivo genera impactos ambientales negativos y genera resistencia de los microorganismos fitopatógenos hacia los ingredientes activos (Hernández-Pérez *et al.*, 2017; Méndez *et al.*, 2019).

Por lo anterior mencionado, en la actualidad se exploran alternativas biorracionales dentro de un manejo integrado de enfermedades. Entre estas opciones, los extractos vegetales y los agentes de control biológico como las bacterias benéficas han demostrado ser una opción viable para el control de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos (Ribera & Zuñiga, 2012).

En este sentido, diversos estudios han demostrado, que extractos de las especies vegetales *Euphorbia antisyphilitica*, *Helianthus annuus* y *Thymus vulgaris*, así como

poseen actividad antifúngica contra diversos hongos fitopatógenos (Ascacio-Valdés *et al.*, 2013; Lawson *et al.*, 2019; Aksit *et al.*, 2022; Khaledi *et al.*, 2015; Moghaddam & Mehdizadeh, 2020), en tanto que *Bacillus subtilis* (Singh *et al.*, 2008; Hernández-Pérez *et al.*, 2017). El objetivo de este estudio fue identificar los compuestos fitoquímicos presentes en los extractos de *E. antisiphilitica*, *H. annuus* y *T. vulgaris*, así como evaluar su actividad antifúngica *in vitro*, junto con una cepa de *B. subtilis*, contra *M. phaseolina*.

Justificación

La resistencia de *Macrophomina phaseolina* a los fungicidas químicos, junto con la dificultad de su manejo en el cultivo de frijol, hace indispensable el desarrollo de alternativas de control más efectivas y que se puedan aplicar en el contexto de una agricultura sostenible. Por lo que, el empleo de extractos vegetales y agentes de bio control, como *Bacillus subtilis*, surgen como alternativas viables y sostenibles, capaces de reducir la dependencia de productos químicos y contribuir a un manejo integrado de enfermedades más seguro y respetuoso con el ambiente.

Objetivo general

Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de extractos de *Euphorbia antisyphilitica*, *Helianthus annuus* y *Thymus vulgaris*, y una cepa de *Bacillus subtilis*, contra *Macrophomina phaseolina*.

Objetivos específicos

- Identificar fitoquímicos presentes en los extractos de *Euphorbia antisyphilitica*, *Helianthus annuus*, y *Thymus vulgaris*.
- Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de los extractos de *Euphorbia antisyphilitica*, *Helianthus annuus* y *Thymus vulgaris*, así como de una cepa de *Bacillus subtilis*, sobre *Macrophomina phaseolina* mediante medio envenenado y cultivo dual respectivamente.

- Determinar la efectividad biológica en hojas de frijol de extractos de *Euphorbia antisyphilitica*, *Helianthus annuus* y *Thymus vulgaris*, y de filtrados de *Bacillus subtilis*, sobre el desarrollo de *Macrophomina phaseolina* en.

Hipótesis

Los extractos de *Euphorbia antisyphilitica*, *Helianthus annuus* y *Thymus vulgaris*, así como *Bacillus subtilis*, contienen compuestos bioactivos con propiedades antifúngicas capaces de inhibir el crecimiento de *Macrophomina phaseolina*, agente causal de la pudrición carbonosa del frijol.

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia económica del cultivo de frijol en México

El frijol ha sido cultivado durante miles de años, con su domesticación originada en Mesoamérica y los Andes. Su cultivo se expandió globalmente tras el intercambio colombiano (Myers & Kmiecik, 2017; Badar-UI, 2022). Su alto valor nutricional y su importancia en la alimentación, especialmente en América Latina, lo han convertido en un cultivo de gran valor en la región (Pérez-Veyna *et al.*, 2008). La diversidad genética del frijol ha sido fundamental para mejorar su adaptación y resistencia a condiciones adversas.

México ocupa el cuarto lugar en la producción global de frijol, consolidándose como un actor clave en la producción de este cultivo. Esta información subraya la relevancia de México en la cadena global de producción de frijol, un cultivo esencial para la soberanía alimentaria y la economía agrícola del país (FAOSTAT, 2024). En este sentido, Zacatecas se posiciona como el estado con mayor producción de frijol, seguido de Sinaloa, Nayarit, Chiapas y Durango. A nivel nacional, se tiene registrada una producción aproximada de 996,392.77 t, con un valor aproximado de 19,432,232.52 miles de pesos (SIAP, 2025) Su producción es fundamental en regiones con alto potencial productivo (Guzmán-Soria *et al.*, 2019) y desempeña un papel clave en la soberanía alimentaria, al ser una fuente esencial de proteínas y nutrientes para las poblaciones de bajos ingresos (Ulloa *et al.*, 2011; Cid-Gallegos *et al.*, 2023).

Descripción botánica del frijol

El frijol es una leguminosa que presenta una morfología única, caracterizada por sus raíces pivotantes que le permiten absorber nutrientes y agua del suelo, tallos herbáceos que puedan ser erectos o trepadores, y hojas compuestas que realizan la fotosíntesis y regulan la transpiración. Esta estructura morfológica permite al frijol adaptarse a diferentes ambientes y condiciones de crecimiento, lo que lo convierte en una planta versátil y productiva.

Tallo

Herbáceo cuando es joven y semileñoso al final del ciclo. De color verde, rosa o morado, largo o pubescente. Es soporte para la planta, en donde se insertan las hojas y diversos complejos axilares (López, 2014).

Raíz

Eje principal, pivotante y fibroso. Puede alcanzar hasta 1.2m de profundidad, generalmente se encuentran entre los primeros 20-25cm y en un diámetro de 5cm. Conforme la planta crece, desarrolla raíces laterales que aumentan la capacidad de absorción de nutrientes y proporcionan la estabilidad a la planta del frijol (Barreto, 2001).

Hojas

Estructuras planas y verdes, desarrollados en los nudos del tallo. Se dividen en pequeñas. El frijol tiene hojas trifoliadas, es decir, cada hoja se compone de tres folíolos distintos.

Flores

Las flores del frijol crecen en racimos terminales y están compuestas por pétalos, sépalos, estambres y carpelos (Camacho, 2024).

Fruto

Es una vaina con dos valvas. Las vainas son generalmente delgadas, angostas y comprimidos, pueden tener de 4 a 10 semillas por vaina.

Semilla

Extensa variación de color (blanco, rojo, crema, negro, etc.), de forma y brillo. Puede tener varias formas, cilíndricas, de riñón, esféricas u otras (Olivas, 1999).

Enfermedades fúngicas asociadas al cultivo del frijol

A pesar de su importancia a nivel nacional, el cultivo de frijol se ve afectado por diversos problemas fitosanitarios, siendo las enfermedades causadas por microorganismos fitopatógenos, un problema que disminuye la producción de manera considerable. En este contexto, las enfermedades por hongos fitopatógenos que afectan al frijol son una preocupación importante para la productividad agrícola debido a su impacto en el rendimiento y la calidad. Existen diferentes hongos fitopatógenos que afectan a este cultivo, cada uno con características distintas y desafíos de manejo (Usmael *et al.*, 2023).

Entre ellas se encuentran la Roya común del frijol (*Uromyces appendiculatus*) la cual es una de las más destructivas, reduciendo el rendimiento hasta en 100% en algunas regiones (Tsegaye *et al.*, 2024). La podredumbre de la raíz (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium spp.*, *Pythium catenulatum* y *Ceratobasidium sp.*) es otra enfermedad que puede causar pérdidas de hasta el 50% en campos infectados

(Rabago-Zavala *et al.*, 2023; Helmy & Abu-Hussien, 2024). La mancha angular de la hoja (*Pseudocercospora griseola*), es otro hongo fitopatógeno que afecta al frijol este presenta alta variabilidad patógena, especialmente en África (Aytenfsu & Terefe, 2023). La antracnosis causada por *Colletotrichum lindemuthianum* afecta tanto el rendimiento como la calidad del frijol (Gupta & Singh, 2020), y finalmente *Macrophomina phaseolina* el cual es un hongo fitopatógeno causante de la pudrición carbonosa, es uno de los principales problemas donde se cultiva frijol, y si no se controla puede causar pérdidas en el rendimiento de hasta el 100 %.

Macrophomina phaseolina

M. phaseolina, un hongo fitopatógeno de la familia Botryosphaeriaceae, afecta a más de 500 especies vegetales, incluyendo cultivos económicamente importantes. Se encuentra principalmente en suelos cálidos, invadiendo tejidos inmaduros o dañados bajo condiciones secas. En México, se ha reportado en cultivos como maíz, sorgo, soja, caña de azúcar y frijol (Leyva-Mir *et al.*, 2015). Este hongo fitopatógeno presenta colonias con crecimiento micelial denso y veloso, inicialmente gris oscuro y luego negro. Desarrolla microesclerocios negros, esféricos a irregulares, de 85-130 μm . En los tejidos infectados, se observan picnidios globosos, negros, de 165-260 μm , con ostiolo truncado. Los conidios inmaduros son hialinos, cilíndricos a elipsoidales, mientras que los maduros son café claro con apéndices mucoides (Leyva-Mir *et al.*, 2015). Su amplia diversidad genética y capacidad de adaptación dificultan el manejo, ya que exhibe múltiples cepas con niveles variables de patogenicidad (Khan & Javaid, 2023; Kumar & Sandhu, 2024). Su clasificación taxonómica es la siguiente:

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Dothideomycetes

Orden: Botryosphaeriales

Familia: Botryosphaeriaceae

Género: *Macrophomina*

Especie: *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

Importancia de *Macrophomina phaseolina* en el cultivo de frijol

En el cultivo de frijol provoca síntomas como marchitez y clorosis, afectando todas las etapas del cultivo, tanto en la etapa de plántula como en la adulta. Además, su habilidad para formar esclerocios le permite persistir en el suelo, lo que complica el control (Vázquez *et al.*, 2024; Abdelmagid & Kim, 2024). Por lo anterior mencionado, *M. phaseolina* representa una de las principales amenazas en el cultivo de frijol, causando pérdidas sustanciales en la producción al reducir la población de plantas en el campo, ya que una vez establecido y con las condiciones ambientales favorables, se desarrolla de manera eficiente y rápida, y de no realizar un correcto manejo de la enfermedad, puede causar pérdidas de hasta el 100 % en la producción (Leyva *et al.*, 2015).

Medidas de control de *Macrophomina phaseolina* en el cultivo de frijol

Existen diversas estrategias para el manejo de la enfermedad, incluyendo el uso de genotipos resistentes, tratamientos químicos y prácticas culturales. Sin embargo, debido a la adaptabilidad del patógeno, es necesario un enfoque de manejo integrado, por lo que el control de esta enfermedad se recomienda mediante diversos métodos de control (Gupta *et al.*, 2023; Khaire *et al.*, 2023).

Control químico

Este se realiza mediante fungicidas de síntesis química, los cuales presentan una eficacia relativamente rápida, entre estos se encuentran fungicidas como el azoxistrobina y difenoconazol, u hormonas sintéticas como el ácido salicílico el cual puede inducir resistencia en plantas contra el fitopatógeno. Sin embargo, el uso excesivo e indiscriminado de este método de control ha generado daños en el ambiente, en la salud humana, además de propiciar la aparición de cepas resistentes a los ingredientes activos (Meena *et al.*, 2021; Gupta *et al.*, 2023).

Control cultural

El control culturas se refiere a la aplicación de prácticas agrícolas adecuadas para reducir las condiciones favorables al desarrollo de microorganismos fitopatógenos, y al mismo tiempo, favorecer el crecimiento saludable del cultivo. En el cultivo de frijol, las prácticas culturales, como la selección de cultivares resistentes y la implementación de rotación de cultivos y labranza adecuada, ayudan a reducir la humedad en el suelo y el estrés en las plantas, minimizando la incidencia de la podredumbre carbonosa provocada por *M. phaseolina* (Singh *et al.*, 2023).

Control biológico y natural

El control biológico y natural de enfermedades en plantas se basa en el uso de organismos vivos y compuestos de origen natural que limitan el desarrollo de los microorganismos fitopatógenos, constituyendo una alternativa sostenible al uso de fungicidas químicos. En este tipo de control, diversos microorganismos como *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* han demostrado eficacia mediante diversos modos de acción como la competencia por nutrientes, antibiosis, micoparasitismo e inducción de resistencia (Thakur *et al.*, 2022). Por otro lado, los extractos vegetales y aceites esenciales han cobrado relevancia como

biofungicidas debido a que contienen compuestos fitoquímicos con propiedades antifúngicas, como fenoles, flavonoides, terpenoides y alcaloides, capaces de inhibir el desarrollo de hongos fitopatógenos. Estos métodos ofrecen una alternativa ecológica a los productos químicos, promoviendo un control natural de la enfermedad (Joshi *et al.*, 2023).

Extractos vegetales para control de *Macrophomina phaseolina*

Los extractos vegetales han demostrado ser una alternativa eficaz y ecológica para el control de *M. phaseolina* (Khaire *et al.*, 2018; Lakhran & Ahir, 2020). Entre ellos, los extractos acuosos de *Moringa oleifera*, *Morinda citrifolia*, *Azadirachta indica* y *Melia azedarach*, fueron efectivos para el control de *M. phaseolina* en semillas de habichuela (González García *et al.*, 2016). Sin embargo, los extractos alcohólicos han mostrado una alta capacidad de inhibición contra *M. phaseolina*, siendo algunas de las especies de plantas que han demostrado estas propiedades como *Sesamum indicum* (Mendoza & Laurentin, 2012), *Cuminum cyminum*, *Zingiber officinale* y *Citrullus colocynthis* (Abdul-Hassan, 2020).

Los extractos vegetales pueden inhibir a los fitopatógenos debido a la presencia de compuestos bioactivos, como alcaloides, flavonoides y terpenos, que afectan el crecimiento y desarrollo de los hongos. Estos compuestos actúan alterando procesos fisiológicos del patógeno, como la germinación de esporas, la formación de micelio y la producción de esporas, lo que contribuye a la protección de las plantas contra enfermedades (Ramírez-Méndez *et al.*, 2024). Aunque estos extractos ofrecen alternativas prometedoras a los fungicidas químicos, su eficacia varía según las condiciones ambientales, por lo que su integración con otras prácticas agrícolas sustentables podría optimizar su efectividad a largo plazo.

Bacillus subtilis* para control de *Macrophomina phaseolina

El biocontrol con la bacteria *B. subtilis* es una alternativa efectiva para el manejo de *M. phaseolina*, aprovechando sus propiedades antagónicas y promotoras del crecimiento vegetal. *B. subtilis* actúa contra *M. phaseolina* mediante la producción de enzimas como proteasas, celulasas y pectinasas, que degradan la pared celular del patógeno (Nascimento *et al.*, 2025), además de péptidos antimicrobianos como iturina y surfactina, los cuales afectan sus membranas celulares (Dhanabalan *et al.*, 2024). Asimismo, genera compuestos volátiles que inhiben significativamente su crecimiento (Bojórquez-Armenta *et al.*, 2021).

Ensayos *in vitro* e *in vivo* han demostrado tasas de inhibición de hasta un 85% y una reducción considerable de la enfermedad en invernadero (Dhanabalan *et al.*, 2024), mientras que, en campo, formulaciones de *B. subtilis* han reducido la mortalidad vegetal y la gravedad de la enfermedad (Viejobueno *et al.*, 2021). Además de su capacidad antifúngica, este microorganismo mejora la disponibilidad de nutrientes mediante sideróforos y estimula el desarrollo de las plantas al producir ácido indol-3-acético (Dhanabalan *et al.*, 2024). Comparado con otros agentes de biocontrol como *Trichoderma*, *B. subtilis* ha mostrado una eficacia similar o superior en la inhibición de *M. phaseolina* (Ahmad & Khan, 2024). No obstante, debido a la variabilidad en su eficacia según las condiciones ambientales y las cepas utilizadas, se requiere más investigación y su integración con estrategias del MIP para optimizar su impacto en la agricultura sostenible.

Perspectivas futuras para el control de *Macrophomina phaseolina*

Estas se centran en un enfoque integrado que combine estrategias biológicas, químicas y culturales para mitigar su impacto en los cultivos. El control biológico ha mostrado resultados prometedores con el uso de *Bacillus* spp., que producen enzimas (proteasas, celulasas y pectinasas) para inhibir el crecimiento del patógeno (Nascimento *et al.*, 2025). Asimismo, *Trichoderma* spp. han demostrado eficacia

mediante parasitismo y antibiosis, además de inducir resistencia en las plantas (Silva-Sarzi *et al.*, 2024). Otros microorganismos, como *Pseudomonas*, *Serratia* y hongos micorrízicos arbusculares, también han sido identificados como agentes de biocontrol efectivos (Thakur *et al.*, 2022).

El uso de nanopartículas metálicas, como las de plata, cobre y zinc, ha emergido como una estrategia novedosa que reduce la incidencia de la enfermedad en laboratorio e invernadero (Choudhary *et al.*, 2023). En cuanto a las prácticas culturales, la implementación de técnicas como la siembra oportuna, el cultivo mixto y la labranza contribuyen a reducir la incidencia de *M. phaseolina* al mejorar la sanidad del suelo y la resistencia de las plantas (Singh, 2023). Además, el desarrollo de cultivares resistentes representa una estrategia sostenible a largo plazo, donde la evaluación del genotipo permite identificar variedades con mayor tolerancia al patógeno (Gupta *et al.*, 2023). En el ámbito químico, compuestos como el ácido salicílico y la riboflavina han demostrado inducir resistencia sistémica adquirida en las plantas, reduciendo la gravedad de la enfermedad (Gupta *et al.*, 2023).

De manera complementaria, diversos fitoextractos han mostrado capacidad antifúngica, posicionándose como alternativas naturales a los fungicidas sintéticos (Joshi, 2023). Si bien estas estrategias ofrecen soluciones innovadoras y sustentables, la variabilidad genética del patógeno y su adaptabilidad ambiental requieren investigación continua. La integración de estas herramientas en un plan de manejo integral es clave para mejorar su eficacia a largo plazo y minimizar las pérdidas agrícolas causadas por *M. phaseolina*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de microorganismos

El hongo fitopatógeno *M. phaseolina* (MPF1) y la bacteria *B. subtilis* (BAN2) se obtuvieron de la colección microbiológica del laboratorio de Micología y Biotecnología del departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). Estos fueron reactivados para su investigación, en el caso de *M. phaseolina*, se reactivó en medio Papa Dextrosa Agar (PDA). Por su parte, la cepa de *B. subtilis* fue reactivada en Agar Nutritivo (AN).

Obtención de extractos vegetales

Los extractos vegetales fueron proporcionados por la empresa GreenCorp Biorganiks de México S.A. de C.V., ubicada en la ciudad de Saltillo, Coahuila, México. Los productos suministrados incluyen extracto cetónico de *Euphorbia antisyphilitica*, y los extractos etanólicos de *Humulus annuus* y *Thymus vulgaris*

Caracterización de fitoquímicos presentes en los extractos vegetales mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución Acoplada a Espectrometría de Masas (HPLC-MS)

El análisis cromatográfico de alta resolución en fase inversa se llevó a cabo siguiendo el protocolo descrito por Ascacio *et al.*, (2016). Se utilizó un sistema de cromatografía líquida de alta presión (HPLC) Varian, equipado con un inyector automático, una bomba ternaria y un detector de matriz de fotodiodos (PDA). Asimismo, se empleó un espectrómetro de masas con trampa de iones equipado con una fuente de iones por electropulverización

Se inyectaron 5 μ L en una columna de fase inversa Denali. La temperatura de la columna se mantuvo constante a 30 °C. Los eluyentes utilizados fueron ácido

fórmico (disolvente A) y acetonitrilo (disolvente B). Se aplicó un gradiente de elución programado de la siguiente manera: 3 % B inicial, aumento lineal a 9 % B en 5 min, aumento lineal a 16 % B en 15 min y aumento lineal a 50 % B en 45 min. Después de la elución, se realizó el lavado y reacondicionamiento de la columna.

El caudal se mantuvo constante a 0.2 ml/min y la elución se monitoreó a longitudes de onda de 245, 280, 320 y 550 nm. Todo el efluente (0.2ml/min) se inyectó en la fuente del espectrómetro de masas sin división. Nitrógeno se utilizó como gas nebulizador y helio como gas de arrastre. Los parámetros de la fuente de iones fueron los siguientes: voltaje de pulverización de 5.0 kV, voltaje capilar de 90.0 V y temperatura de 350 °C. Los datos obtenidos se procesaron utilizando el Software MS Workstation (V 6.9).

Actividad antifúngica de extractos vegetales sobre *Macrophomina phaseolina* por el método de medio envenenado.

Se determinó la actividad antifúngica de los extractos vegetales por el método de medio envenenado propuesto por Ramírez-Méndez *et al.* (2024); los tratamientos utilizados fueron el extracto cetónico de *E. antisiphilitica*, y los extractos etanolicos de *H. annuus* y *T. vulgaris*, utilizando concentraciones de 1 a 80 %, además se utilizó un testigo positivo el cual consistió en el hongo sin ningún tratamiento. Se utilizó medio PDA, al que se agregaron los extractos vegetales. Posteriormente, se colocaron discos de 0.5 mm con micelio activo de *M. phaseolina* y se incubaron a 28 ± 2 °C, midiendo el crecimiento radial del patógeno hasta que el testigo positivo cubrió la placa por completo. El porcentaje de inhibición se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de Inhibición} = (\text{DC} - \text{DT} / \text{DC}) * 100.$$

Donde DC es el diámetro del tratamiento testigo, y DT es el diámetro de las diferentes concentraciones.

Actividad antagónica de *Bacillus subtilis* sobre *Macrophomina phaseolina* mediante la técnica de cultivo dual

La actividad antifúngica de la cepa de *B. subtilis* se determinó mediante la técnica de cultivo dual, siguiendo la metodología descrita por Rios-Velasco *et al.* (2016). Para ello, se colocó un disco de 0.5 mm con micelio de *M. phaseolina* en el centro de una caja Petri con medio PDA, inoculando la cepa de *B. subtilis* en los cuatro puntos cardinales de la caja. Se utilizó un testigo positivo y las cajas se incubaron a 28 ± 2 °C. El crecimiento radial se midió diariamente, finalizando cuando el testigo positivo cubrió toda la caja. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial mediante la fórmula:

Porcentaje de inhibición del crecimiento radial mediante = $[(R1-R2) / R1] * 100$.

Dónde: R1= crecimiento radial del patógeno (diámetro en centímetros) R2= Diámetro de la colonia en la placa tratada (porcentaje).

Preparación de los filtrados de *Bacillus subtilis*

Los filtrados de *B. subtilis* (FBS) se prepararon siguiendo el protocolo de Abdelmoteleb *et al.* (2017), con algunas modificaciones. Se inoculó *B. subtilis* en 250 mL de caldo Luria-Bertani (LB) y se incubó en un agitador orbital a 150 rpm y 30 °C durante 36 horas. Posteriormente, la suspensión bacteriana se centrifugó a 10,000 rpm por 10 minutos a 4°C, y el sobrenadante resultante se filtró utilizando filtros de nylon de 0,22 µm.

Actividad antifúngica de *Euphorbia antisyphilitica*, *Helianthus annuus*, y *Thymus vulgaris* y filtrados de *Bacillus subtilis* sobre *Macrophomina phaseolina* en hojas de frijol

La efectividad biológica del extracto cetónico de *E. antisyphilitica*, y los extractos etanolicos de *H. annuus* y *T. vulgaris*, así como de los FBS, se determinó siguiendo la metodología descrita por Bañuelos-Balandrán y Mayek-Pérez (2010), con algunas modificaciones. Se utilizaron semillas de frijol variedad Pinto Saltillo, con 30 días de desarrollo, se recolectaron sus hojas completamente expandidas con un tamaño aproximado de 7 cm de longitud y 3 cm de ancho. Las hojas se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2% durante 2 min, y se enjuagaron con agua destilada estéril y se secaron en papel secante estéril, posteriormente se colocaron sobre papel filtro estéril en una caja Petri, manteniéndola húmeda. Los tratamientos utilizados fueron la CI_{90} de los extractos vegetales obtenida en el experimento envenenado y los FBS. Quedando distribuidos de la siguiente manera: T1: *E. antisyphilitica* (84.18%), T2: *H. annuus* (50.20%), T3: *T. vulgaris* (62.08%), T4: FBS (100%), T5: testigo químico (Tiabendazol, 1l/Ha), T6: testigo positivo, y T7: testigo negativo.

La inoculación de las hojas se realizó colocando dos discos de 0.5 cm de diámetro con micelio activo de *M. phaseolina* en el haz de cada hoja, en ambos extremos a partir de la nervadura central. La evaluación se realizó midiendo diariamente el área foliar necrosada en las hojas hasta que la hoja correspondiente al testigo positivo presentó necrosis completa. Los datos obtenidos se usaron para calcular la severidad del crecimiento a lo largo del tiempo utilizando el Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (AUDPC). La curva de severidad del crecimiento del hongo se determinó mediante la fórmula siguiente (Finney, 1977):

$$AUDPC = \sum_{i=1}^n \left(\frac{Y_i + Y_{i+1}}{2} \right) * t_{i+1} - t_i$$

Dónde: n= número de evaluaciones; y= porcentaje de follaje afectado; t= número de días evaluados

Análisis Estadístico

Se realizó un análisis Probit para determinar las Concentraciones Inhibitorias al 50 y 90% (CI₅₀₋₉₀) de los extractos. Para el estudio en hojas de frijol, se utilizó un diseño completamente al azar con 6 repeticiones por tratamiento. Tanto las CI₅₀ y CI₉₀ obtenidas, así como los datos obtenidos del bioensayo en hojas, se sometieron a un análisis de varianza y prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), usando el programa Statistical AnalysisSys, versión 9.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de fitoquímicos presentes en *Euphorbia antisyphilitica*, *Helianthus annuus*, y *Thymus vulgaris* mediante HPLC-MS

El análisis mediante HPLC-MS detecto diversos fitoquímicos (Tabla 2). El extracto de *E. antisyphilitica* presentó compuestos de las familias de los ácidos hidroxibenzoicos (ácido gálico 4-O-glucósido y ácido gálico 3-O-galato), ácidos hidroxicinámicos (ácido cafeico 4-O-glucósido) y metoxiflavonoles (patuletina 3-O-glucosil-(1->6)- [apioisil(1->2)]-glucósido). Por su parte, el extracto de *H. annuus* presentó compuestos de las familias de ácidos hidroxicinámicos (ácido q,3-dicafeoilquínico, ácido 1-cafeoilquínico y ácido 1,5-dicafeoilquínico), tirosoles (hidroxitirosol 4-O-glucósido, 3,4-DHPEA-EA), ácidos hidroxibenzoicos (ácido protocatequico 4-O-glucósido), flavonas (apigenina 7-O-glucósido), metoxiflavinas (5,6-dihidroxi-7,8,3,4-tetrametoxiflavona) y dihydrochalconas (floreтина). Finalmente, en el extracto de *T. vulgaris* se identificaron compuestos de las familias de los ácidos hidroxicinámicos (ácido cafeico 4-O-glucósido), metoxiflavonoles (isorhamnetina 3-O-glucósido 7-O-ramnósido), metoxiflavonas (diosmina) y terpenos fenólicos (rosmanol).

Los compuestos fenólicos son compuestos producidos en las plantas, los cuales desempeñan diversas funciones, tales como resistencia al estrés, estructura y soporte, atracción de polinizadores, y defensa contra fitopatógenos (Schöneberg *et al.*, 2018). En este sentido, la patuletina el cual se encontró en *E. antisyphilitica*, es un compuesto fenólico producido por las plantas, el cual tiene la capacidad de disrumpir las membranas celulares de hongos fitopatógenos (Ruiz-Quiroz, 2013). Por otro lado, se ha demostrado que el ácido cafeico, presente en *E. antisyphilitica* y *T. vulgaris*, posee actividad antifúngica al inhibir el desarrollo de diversas especies de hongos. Su mecanismo de acción implica el debilitamiento de la pared celular y la alteración del sistema de defensas antioxidantes (Ma y Ma, 2015), incluyendo *Candida albicans* (Joya *et al.*, 2017), además, este compuesto puede actuar como

precursor de otros bioactivos más complejos como las cumarinas, ligninas, taninos, flavonoides e isoflavonoides (Ávalos García y Pérez-Urria, 2009).

Otros compuestos como la diosmina y la apigenina 7-O-glucósido, clasificados como flavonoides, y el rosmanol, un terpeno fenólico, también presentan propiedades antifúngicas relevantes (Singh *et al.*, 2014; Gervasi *et al.*, 2023; Amer *et al.*, 2023). Los flavonoides actúan inhibiendo enzimas que los hongos necesitan para el metabolismo celular, lo cual afecta su desarrollo y resistencia. En el caso del rosmanol, su actividad antioxidante contribuye a aumentar el estrés oxidativo en los hongos, generando daños irreversibles en sus componentes internos. La acción conjunta de estos fitoquímicos, con distintos mecanismos de ataque celular, ofrece un enfoque multifacético y efectivo para combatir infecciones fúngicas. Por ejemplo, se ha demostrado que el propóleo inhibe el crecimiento de *C. albicans* mediante compuestos como ácido cafeico, flavonoides y ésteres fenólicos, que alteran el tubo germinativo y la pared celular, generando deformaciones en los sitios de gemación (Londoño *et al.*, 2008).

Cuadro 2. Compuestos fitoquímicos identificados en extractos de *Euphorbia antisyphilitica*, *Helianthus annuus* y *Thymus vulgaris* por HPLC-MS.

Species	Retention time	Mass	Phytochemical	Family
<i>Euphorbia antisyphilitica</i>	5.565	341.1	Ácido cafeico 4-O-glucósido	Ácidos hidroxicinámicos
	18.346	330.9	Ácido gálico 4-O-glucósido	Ácidos hidroxibenzoicos
	37.602	786.7	Patuletina 3-O-glucosil-(1->6)-[apioosil(1->2)]-glucósido	Metoxiflavonoles
	39.802	321	Ácido gálico 3-O-galato	Ácidos hidroxibenzoicos
<i>Helianthus annuus</i>	4.992	316.8	Hidroxitiroso 4-O-glucósido	Tirosoles
	5.535	376.8	3,4-DHPEA-EA	Tirosoles
	18.157	314.9	Ácido protocatequico 4-O-glucósido	Ácidos hidroxibenzoicos
	22.02	372.9	5,6-dihidroxi-7,8,3,4-tetrametoxiflavona	Metoxiflavinas
	34.1	420.9	Apigenina 7-O-glucósido	Flavonas
	34.754	514.8	Acido 1,3- dicafeoilquínico	Ácidos hidroxicinámicos
	35.35	352.8	Ácido 1-cafeoilquínico	Ácidos hidroxicinámicos
	35.36	514.8	Acido 1,5-dicafeoilquínico	Ácidos hidroxicinámicos
44.121	272.8	Floretina	Dihidrochalconas	
<i>Thymus vulgaris</i>	37.411	341	Ácido cafeico 4-O-glucósido	Ácidos hidroxicinámicos
	38.964	623	Isorhamnetina 3-O-glucósido 7-O-ramnósido	Metoxiflavonoles
	41.295	607	Diosmina	Metoxiflavonas
	44.886	345	Rosmanol	Terpenos fenólicos

Actividad antifúngica de extractos vegetales sobre *Macrophomina phaseolina* por el método del medio envenenado.

Los resultados obtenidos de la actividad antifúngica de los extractos vegetales muestran que los extractos de *H. annuus* y *T. vulgaris* inhibieron el crecimiento de *M. phaseolina* por completo desde el 20%, por su parte el extracto de *E. antisiphilitica* lo hizo desde el 80% (Figura 1). En relación con la CI_{50-90} , se observaron diferencias estadísticas entre los extractos de *H. annuus* y *T. vulgaris*, en relación con el de *E. antisiphilitica*, observándose una CI_{50} de 17.79 % en el caso de *T. vulgaris*, y de 19.38 % para *H. annuus*. Por su parte, las CI_{90} observadas fueron de 62.08 y 50.20 % para *T. vulgaris* y *H. annuus* respectivamente (Tabla 3).

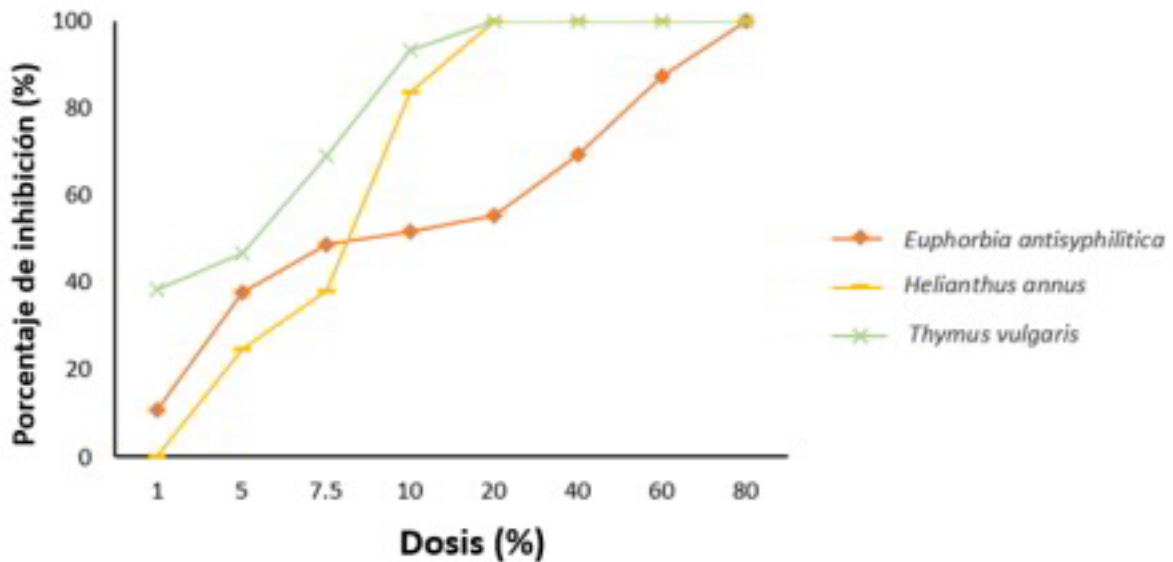


Figura 1. Porcentaje de inhibición de *Euphorbia antisiphilitica*, *Helianthus annuus* y *Thymus vulgaris* sobre *Macrophomina phaseolina* por el método de medio envenenado.

Cuadro 3. Concentración inhibitoria al 50 y 90 % de extractos de *Euphorbia antisyphilitica*, *Helianthus annuus*, y *Thymus vulgaris* sobre *Macrophomina phaseolina*.

Tratamientos	CI ₅₀	CI ₉₀
<i>Euphorbia antisyphilitica</i>	28.05 ^a	84.18 ^a
<i>Helianthus annuus</i>	19.38 ^b	50.20 ^b
<i>Thymus vulgaris</i>	17.78 ^b	62.08 ^b

*Valores con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey, p<0.05).

Algunos fitoquímicos identificados en especies como *E. antisyphilitica*, *H. annuus* y *T. vulgaris* han mostrado propiedades antifúngicas significativas, principalmente debido a su capacidad para interferir en la estructura y función celular de hongos patógenos. Actualmente, los extractos vegetales, se están considerando como una alternativa para el manejo de *M. phaseolina*, ya que diversos estudios han demostrado, la capacidad de estos para inhibir el desarrollo de este hongo fitopatógeno. Por ejemplo, Vogt et al. (2013) utilizando extracto de *Larrea divaricata* inhibió *M. phaseolina* con una CIM de 250 µg/mL.

En este sentido, se ha reportado que extractos de *Moringa oleífera*, *Morinda citrifolia*, *Eucalyptus*, *Ricinus communis*, *Melia azedarach* y *Azadirachta indica*, han presentado actividad antifúngica sobre *M. phaseolina*, inhibiendo el desarrollo hasta un 60 % deteniendo así, su crecimiento (Flores y Terán, 2014; Abreu et al., 2015). Por su parte, Gálvez-Mendoza et al., (2020), reportaron inhibiciones del 45 a 100 % sobre *M. phaseolina* utilizando extractos de *Azadirachta indica*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Reynoutria sachalinensis* y *Larrea tridentata*.

Sin embargo, actualmente existen informes sobre la inhibición de aceites ecenciales de *T. vulgaris* sobre *M phaseolina*. Khaledi et al. (2015) reportaron que el AE de *T.*

vulgaris mostró alta actividad antifúngica contra *M. phaseolina*, con una CIM de 1150 ppm. Las hifas expuestas presentaron alteraciones estructurales y se redujo la actividad de las enzimas celulasa y pectinasa, esenciales para la patogenicidad. Por su parte Moghaddam & Mehdizadeh, (2020) determinaron que el AE de *T. vulgaris* inhibió completamente el crecimiento de *M. phaseolina* a una concentración de 1600 $\mu\text{L/L}^{-1}$.

Actividad antagónica de *Bacillus subtilis* sobre *Macrophomina phaseolina* por el método de cultivo dual

La actividad antagónica de *B. subtilis* mostró inhibición del 51.7% del crecimiento micelial del hongo. El género *Bacillus* es capaz de producir compuestos de bajo peso molecular con actividades antibióticas, así como enzimas líticas, entre las que destacan las proteasas, quitinasas, celulasas y amilasas; enzimas capaces de degradar la pared celular de algunos microorganismos (Shoda, 2000; Compant *et al.*, 2005). En una investigación de Singh *et al.* (2008), se demostró que *B. subtilis* tuvo una inhibición del 74% contra *M. phaseolina*, en el ensayo de cultivo dual. Además, el filtrado de cultivo de *B. subtilis* detuvo completamente el crecimiento del hongo a una concentración del 60%, provocando vacuolación, compresión de hifas, hinchazón, ramificación anormal y lisis de micelios. Por su parte Hernández-Pérez *et al.* (2017) encontraron que *B. subtilis*, *P. fluorescens* y *B. cepacia* inhibieron el crecimiento de *M. phaseolina* hasta en un 78.30%, 71.42% y 70.27%, respectivamente.

Actividad antifúngica de extractos vegetales y filtrados de *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento de *Macrophomina phaseolina* en hojas de frijol.

Los resultados demostraron que tanto los extractos vegetales como los FBS inhibieron el desarrollo de *M. phaseolina* en las hojas de frijol. En este sentido, se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos a lo largo del tiempo en que duró el experimento. Al primer día se observaron diferencias estadísticas entre

todos tratamientos en relación al testigo positivo, siendo los tratamientos correspondientes a FBS, *T. vulgaris* y *H. annuus* los que presentaron mejor control del patógeno con área necrosada de 1.43, 1.43 y 0 % respectivamente, esta tendencia continuo durante todos los días en que duro el experimento, y finalmente en el quinto día se observó de nueva cuenta diferencia estadística entre los tratamientos en relación al testigo positivo, siendo los tratamientos correspondientes a FBS, *T. vulgaris* y *H. annuus* los que presentaron mejor control de la necrosis en hojas, con áreas necrosadas de 7.14, 12.57 y 13.86% respectivamente. La curva de severidad del crecimiento del hongo reflejó una mayor capacidad por parte de FBS, *T. vulgaris* y *H. annuus* para inhibir el desarrollo del patógeno (Figura 3).

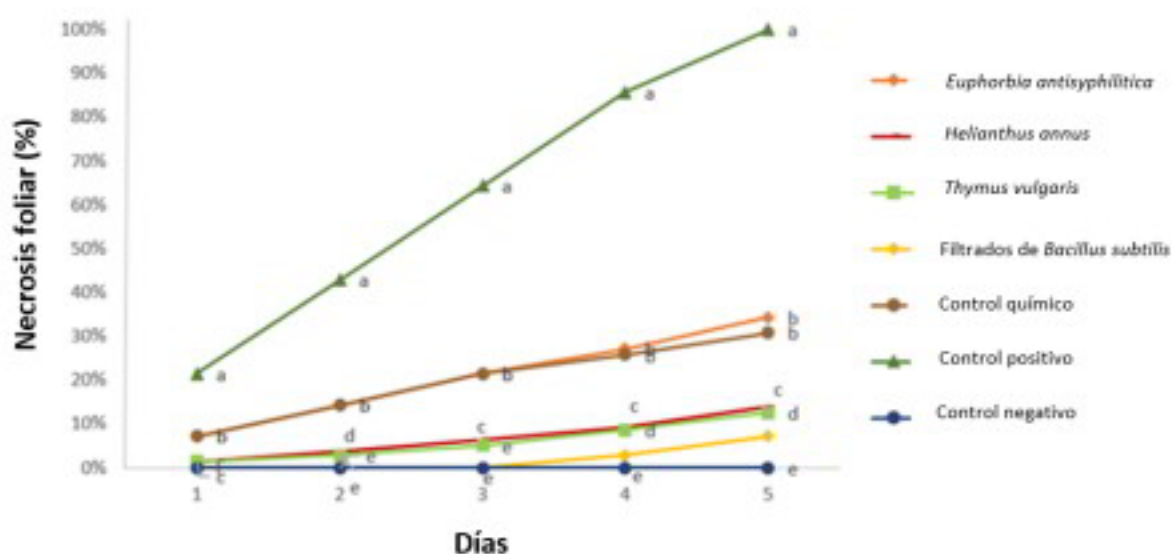


Figura 2. Área bajo la curva de progreso de la enfermedad de extractos de *Euphorbia antisiphilitica*, *Helianthus annuus*, *Thymus vulgaris* y filtrados de *Bacillus subtilis* sobre *Macrophomina phaseolina*.

La THD ofrece una alternativa para evaluar enfermedades fúngicas, permitiendo realizar un diagnóstico controlado en condiciones controladas de temperatura y humedad, que favorecen el desarrollo del fitopatógeno. Esta técnica también facilita diversas investigaciones, tanto para el control de las enfermedades como para

estudiar la susceptibilidad de diferentes cultivos. En una investigación realizada por Han *et al.* (2017) evaluaron la actividad antifúngica *in vivo* de fracciones purificadas de *Curcuma zedoaria* en plantas inoculadas con cinco hongos fitopatógenos (*Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans*, *Puccinia triticina* y *Blumeria graminis*).

Las plantas fueron expuestas mediante aspersión o aplicación directa del inóculo y luego incubadas en una cámara humidificada a temperaturas entre 20°C y 25°C durante 1 a 7 días, dependiendo del patógeno. Los extractos de n-hexano y cloruro de metileno fueron altamente efectivos (80-100%) contra la roya de la hoja del trigo, similar al fungicida flusilazole, mientras que su actividad contra el tizón de la vaina del arroz y el tizón tardío del tomate fue moderada y nula contra el moho gris del tomate y el mildiú polvoriento de la cebada. Además, se identificó una cetolactona sesquiterpénica con eficacia parcial (50-65%) contra tres enfermedades y sin efectos fitotóxicos en los cultivos evaluados.

Por su parte, Lee *et al.* (2022) realizaron un ensayo de patogenicidad en plantas de arroz inoculadas con una suspensión de esporas de *Magnaporthe oryzae*. Después de 24 horas en condiciones de humedad, las plantas fueron incubadas a 25°C durante 7 días. El extracto de butanol de *Actinostemma lobatum* suprimió eficazmente los síntomas de la enfermedad en las hojas de arroz. A concentraciones altas (300 µg/ml y 150 µg/ml), su actividad fue comparable al fungicida benomilo, sin causar efectos negativos significativos en las plantas.

CONCLUSIONES

Las plantas, a través de su metabolismo, sintetizan una amplia variedad de compuestos fitoquímicos con actividad antifúngica, los cuales pueden ser extraídos y utilizados en forma de extractos vegetales. En este estudio, la caracterización fitoquímica de los extractos permitió identificar diversos compuestos activos en *E. antisiphilitica*, *H. annuus* y *T. vulgaris*, tales como ácido cafeico, diosmina, apigenina y patuletina, los cuales poseen propiedades antifúngicas. Estos compuestos probablemente contribuyeron a la actividad antifúngica observada, siendo los extractos de *H. annuus* y *T. vulgaris* los más efectivos al inhibir el crecimiento de *M. phaseolina* a partir de concentraciones del 20%. En el ensayo con la THD, se verificó que estos mismos extractos, junto con los FBS, mostraron una alta eficacia en la reducción del daño causado por *M. phaseolina* en las hojas de frijol. Estos resultados refuerzan el uso de extractos vegetales y filtrados celulares de microorganismos antagonistas como opciones sostenibles para el control de *M. phaseolina*. Sin embargo, es necesario continuar con investigaciones adicionales para optimizar las formulaciones y evaluarlas en condiciones de invernadero y campo.

REFERENCIAS

Aamer Helmy A., Al-Askar Abdulaziz A., Gaber, Mahmoud A., El-Tanbouly Rania, Abdelkhalek Ahmed, Behiry, Said, Elsharkawy, Mohsen M., Kowalczewski, Przemysław Łukasz and El-Messeiry Sarah. (2023). Extraction, phytochemical characterization, and antifungal activity of *Salvia rosmarinus* extract. *Open Chemistry*, 21(1), 20230124. <https://doi.org/10.1515/chem-2023-0124>

Abdelmoteleb, A., Troncoso-Rojas, R., Gonzalez-Soto, T., & González-Mendoza, D. (2017). Antifungal activity of autochthonous *Bacillus subtilis* isolated from *Prosopis juliflora* against phytopathogenic fungi. *Mycobiology*, 45(4), 385-391. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2017.45.4.385>

Abdelmagid, A., & Kim, Y. M. (2024). First Report of Charcoal Rot Caused by *Macrophomina phaseolina* on Dry Bean (*Phaseolus vulgaris*) in Western Canada. *Plant Disease*, 108(2), 531. <https://doi.org/10.1094/pdis-10-23-2017-pdn>

Abdul-Hassan, H. A. (2020, August). The efficiency of some plant extracts on the fungus *Macrophomina phaseolina*, the causes agent of seed rot and the Okra seedlings death. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 553, No. 1, p. 012046). IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/553/1/012046>

Abreu, R. Á., Antunez, M. A., & Nicao, M. E. L. (2015). Efectividad biológica *in vitro* de extractos naturales de plantas en el control del hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *Revista Científica Agroecosistemas*, 3(1).

Aksit, H., Bayar, Y., Simsek, S., & Ulutas, Y. (2022). Chemical Composition and Antifungal Activities of the Essential Oils of *Thymus* Species (*Thymus pectinatus*, *Thymus convolutus*, *Thymus vulgaris*) Against Plant Pathogens. *Journal of Essential*

Oil-Bearing Plants, 25(1), 200–207.
<https://doi.org/10.1080/0972060X.2022.2043189>

Ahmad, I., & Khan, M. (2024). Bioefficacy of Indigenous Isolates of Biocontrol Fungi and Bacteria against *Macrophomina phaseolina* Causing Root Rot Disease in Green Gram. *Microbiology Research Journal International*.
<https://doi.org/10.9734/mrji/2024/v34i61447>

Ascacio-Valdés, J., Burboa, E., Aguilera-Carbo, A. F., Aparicio, M., Pérez-Schmidt, R., Rodríguez, R., & Aguilar, C. N. (2013). Antifungal ellagitannin isolated from *Euphorbia antisyphilitica* Zucc. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(1), 41-46. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60021-0](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60021-0)

Ascacio, V. J. A., Aguilera, C. A. F., Buenrostro, J. J., Prado, B. A., Rodríguez, H. R. and Aguilar, C. N. 2016. The complete biodegradation pathway of ellagitannins by *Aspergillus niger* in solid-state fermentation. *Journal of Basic Microbiology* 56(4), 329-336. <https://doi.org/10.1002/jobm.201500557>

Ávalos García, A. y Pérez Urria E. C. 2009. Metabolismo secundario de plantas. [Metabolismo vegetal secundario]. *Reduca (Biología). Ser. Fisiol. Vegetal*, 2, 119-145. <https://hdl.handle.net/20.500.14352/50406>

Aytenfsu, M., & Terefe, H. (2023). A review of *Pseudocercospora griseola* in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Africa. *Cab Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 2023. <https://doi.org/10.1079/cabireviews.2023.0016>

Badar-UI Ain, H. . (2022). Pre-History and History of legumes to 1900: Pre-History and History of legumes to 1900. *DIET FACTOR (Journal of Nutritional and Food Sciences)*, 3(1), 03–04. <https://doi.org/10.54393/df.v3i1.35>

Bojórquez-Armenta, Y. de J., Mora-Romero, G. A., López-Meyer, M., Maldonado-Mendoza, I. E., Castro-Martínez, C., Romero-Urías, C. de los Á., Cordero-Ramírez, J. D., & Martínez-Álvarez, J. C. (2021). Evaluation of *Bacillus* spp. isolates as potential biocontrol agents against charcoal rot caused by *Macrophomina phaseolina* on common bean. *Journal of General Plant Pathology*, 87(6), 1–10. <https://doi.org/10.1007/S10327-021-01019-4>.

Barreto Amaro Juan (2001). *Influencia en las poblaciones de nemátods de un producto orgánico nematostático en el cultivo de frijol ejotero (Phaseolus vulgaris) bajo condiciones de campo, en la región de Arteaga, Coahuila*. Buena Vista, Saltillo, Coahuila, México. <http://www.repositorio.uaaan.mx:8080/>

Camacho Camacho Martin (2024). *Evalución del comportamiento agronómico en genotipos de frijol (Phaseolus vulgaris L.) para produccion de semilla*. Buena Vista, Saltillo, Coahuila, México. <http://www.repositorio.uaaan.mx:8080/>

Choudhary, A., Musheer, N., & Saeed, S. (2023). Management of *Macrophomina phaseolina* using nanoparticles. In *Macrophomina Phaseolina*. Ecobiology, Pathology and Management (pp. 323-332). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-15443-0.00014-0>

Cid-Gallegos, M. S. ., Gómez y Gómez, Y. de las M. ., Corzo-Ríos, L. J. C.-R., Sanchez-Chino, X. M. ., Moguel-Concha, D. ., Borges-Martínez, E. ., & Jiménez-Martínez, C. (2023). Potencial nutricional y bioactivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en la salud humana. *Investigación Y Desarrollo En Ciencia Y Tecnología De Alimentos*, 8(1), 309–318. <https://doi.org/10.29105/idcyta.v8i1.42>

Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., y Barka, E. A. 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology*. 71: 4951-4959. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005>

Dhanabalan, S., Muthusamy, K., Iruthayasamy, J., Kumaresan, P. V., Ravikumar, C., Kandasamy, R., Natesan, S., & Periyannan, S. (2024). Unleashing *Bacillus* species as versatile antagonists: Harnessing the biocontrol potentials of the plant growth-promoting rhizobacteria to combat *Macrophomina phaseolina* infection in *Gloriosa superba*. *Microbiology Research*. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127678>

FAOSTAT. (2024). Producción de frijol por país. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Recuperado de <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>

Flores, Y. y Teran, C. 2014. Evaluación *in vitro* de cuatro extractos acuosos vegetales sobre el crecimiento micelial de *Macrophomina phaseolina*. Congreso venezolano de Fitopatología. Venezuela.

Finney, R. E. S., G. (1977). The effect of nitrogen fertilization on the expression of slowmildewing resistance in knox wheat. *phytopathology*. 67- 1056 pp. https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1977Articles/Phyto67n08_1051.pdf?origin=publication_detail&origin=publication_detail

Gálvez-Mendoza G., Ayvar-Serna S., Díaz-Nájera J. F., y Mena-Ballena, A. 2020. Control orgánico y químico *in vitro* de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. causante de la pudrición carbonosa en Jamaica. *FORO DE ESTUDIOS SOBRE GUERRERO*, 7(1), 56-60.

Gervasi, T., Patanè, GT, Calderaro, A., Mandalari, G., Barreca, D. (2023). Diosmina: avances en recursos, vía de biosíntesis, biodisponibilidad, bioactividad y farmacología. En: Xiao, J. (eds) *Handbook of Dietary Flavonoids*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-94753-8_7-1

González García, V., Lorenzo Nicao, M. E., Castellanos González, L., & Jiménez Carbonel, R. (2016). Evaluación de la efectividad biológica de *Cryptolaemus Montrouzieri* Mulsant en áreas afectadas por *Maconellicoccus Hirsutus* (Green) en Cienfuegos. *Revista científica Agroecosistemas* [seriada en línea], 4 (2), 23-29. Recuperado de [http:// aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/index](http://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/index)

Gupta, R. N., Kumhar, K. C., & Srivastava, J. N. (2023). *Macrophomina phaseolina*: An Agriculturally Destructive Soil Microbe (pp. 203–218). Bentham science publishers. <https://doi.org/10.2174/9789815050264123020015>

Gupta, R. N., Kumhar, K. C., & Srivastava, J. N. (2023). *Macrophomina phaseolina*: An Agriculturally Destructive Soil Microbe (pp. 203–218). Bentham Science Publishers. <https://doi.org/10.2174/9789815050264123020015>

Gupta, S. K., & Singh, G. (2020). Major Fungal French Bean Diseases: Epidemiology and Management (pp. 141–174). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6275-4_7

Guzmán-Soria, E., de la Garza Carranza, M. T., García Salazar, J. A., Rebollar Rebollar, S., & Hernández Martínez, J. (2019). Análisis económico del mercado de frijol grano en México. *Agronomía Mesoamericana*, 30(1), 131–146. <https://doi.org/10.15517/AM.V30I1.33760>

Han J. W., Shim, S. H., Jang, K. S., Choi, Y. H., Le Dang, Q., Kim, H., & Choi, G. J. (2017). *In vivo* assessment of plant extracts for control of plant diseases: A sesquiterpene ketolactone isolated from *Curcuma zedoaria* suppresses wheat leaf rust. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 0(0), 1–6. <https://doi.org/10.1080/03601234.2017.1397448>

Helmy, K., & Abu-Hussien, S. H. (2024). Root Rot Management in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Through Integrated Biocontrol Strategies using Metabolites

from *Trichoderma harzianum*, *Serratia marcescens*, and Vermicompost Tea. *Microbial Ecology*, 87(1). <https://doi.org/10.1007/s00248-024-02400-4>

Hernández Pérez, D., Díaz Castellanos, M., Quiñones Ramos, R., Santos Bermúdez, R., Portal González, N., & Herrera Isla, L. 2017. Empleo de rizobacterias para la protección de plantas de frijol frente al tizón ceniciento (*Macrophomina phaseolina*). *Centro Agrícola*, 44(1), 5-12. <http://scielo.sld.cu/pdf/cag/v44n1/cag01117.pdf>

Joshi, K., Gothwal, R., & Joshi, N. (2023). Biomangement of *Macrophomina phaseolina* causing charcoal rot of plants. In *Macrophomina phaseolina*. Ecobiology, Pathology and Management (pp. 335-344). Academic Press. Elsevier eBooks. <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-15443-0.00007-3>

Joya, Milagros, Gil, Marielsa y Bastidas-Pacheco, Gilberto. (2017). Actividad fungistática y fungicida de extractos etanólicos de propóleos sobre el crecimiento *in vitro* de cepas del género *Candida*. *Revista Tecnología en Marcha*, 30 (3), 3-11. <http://dx.doi.org/10.18845/tm.v30i3.3268>

Khaire, P., Hingole, D. G., Holkar, S. K., Ghante, P. H., & Mane, S. (2023). Management of *Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goid. Causing Leaf Blight Disease in Mung Bean in Maharashtra State. *Environment and Ecology*, 41(2B), 1141–1148. <https://doi.org/10.60151/envec/htue5755>

Khaire, P. B., Hingole, D. G., & Padvi, S. A. (2018). Efficacy of different phytoextracts against *Macrophomina phaseolina*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(3), 1124-1126. https://www.researchgate.net/profile/Pravin-Khaire/publication/333193810_Efficacy_of_different_phytoextracts_against_Macrohomina_phaseolina/links/5ce04c3a92851c4eabace516/Efficacy-of-different-phytoextracts-against-Macrophomina-phaseolina.pdf

Khaledi, N., Taheri, P., & Tarighi, S. (2015). Antifungal activity of various essential oils against *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina* as major bean pathogens. *Journal of applied microbiology*, 118(3), 704-717. <https://doi.org/10.1111/jam.12730>

Khan, IH, y Javaid, A. (2023). *Macrophomina phaseolina* causing various diseases in different crops (pp. 21–31). Elsevier eBooks. <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-15443-0.00004-8>

Kumar, S., & Sandhu, S. S. (2024). Exploring the Genetic Diversity of *Macrophomina phaseolina* isolates in Soybean Crops: A Study from Madhya Pradesh. *Indian Scientific Journal of Research in Engineering and Management*, 08(09), 1–6. <https://doi.org/10.55041/ijsrem37545>

Lakhran, L. and Ahir, R.R. (2020). *In-vivo* evaluation of different fungicides, plant extracts, bio-control agents and organics amendments for management of dry root rot of chickpea caused by *Macrophomina phaseolina*. *Legume Research*, 43(1): 140-145. <https://research.ebsco.com/c/ro57rg/viewer/pdf/6zwaxs44ij>

Lawson, S. K., Sharp, L. G., Powers, C. N., McFeeters, R. L., Satyal, P., & Setzer, W. N. 2019. Essential oil compositions and antifungal activity of sunflower (*Helianthus*) species growing in north Alabama. *Applied Sciences*, 9(15), 3179. <https://doi.org/10.3390/app9153179>

Leyva-Mir, S. G., Velázquez-Martínez, G. C., Tlapal-Bolaños, B., Tovar-Pedraza, J. M., Rosas-Saito, G. H., & Alvarado-Gómez, O. G. (2015). Caracterización morfológica y molecular de aislados de *Macrophomina phaseolina* asociados a caña de azúcar en México. *Revista argentina de microbiología*, 47(2), 143-147.

Lee, S. H., Oh, Y. T., Lee, D. Y., Cho, E., Hwang, B. S., & Jeon, J. (2022). Large-scale screening of the plant extracts for antifungal activity against the plant pathogenic fungi. *The plant pathology journal*, 38(6), 685. doi: [10.5423/PPJ.NT.07.2022.0098](https://doi.org/10.5423/PPJ.NT.07.2022.0098)

Leyva-Mir, Santos G, Velázquez-Martínez, Guadalupe C, Tlapal-Bolaños, Bertha, Tovar-Pedraza, Juan M, Rosas-Saito, Greta H, & Alvarado-Gómez, Omar G. (2015). Caracterización morfológica y molecular de aislados de *Macrophomina phaseolina* asociados a caña de azúcar en México. *Revista argentina de microbiología*, 47(2), 143-147. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2015.03.003>

Londoño-Orozco, A., Penieres-Carrillo, J. G., García-Tovar, C. G., Carrillo-Miranda, L., Quintero-Mora, M. L., García-Vásquez, S. E., Mendoza-Saavedra, M. A. y Cruz-Sánchez, T. A. (2008). Estudio de la actividad antifúngica de un extracto de propóleo de la abeja *Apis mellifera* proveniente del Estado de México. *Tecnología en Marcha*, 21(1), 49-55. https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/1338

Ma, J.-N.; Ma, C.-M. (2015). Antifungal inhibitory activities of caffeic and quinic acid derivatives. In *Coffee in Health and Disease Prevention*; Preedy, V.R., Ed.; Elsevier Inc.; Academic Press: London, UK; pp. 635–641. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00071-1>

Lopez Matías Fericely (2014). *Consumo de frijol (Phaseolus vulgaris) En el municipio de Bella Vista, Chiapas*. Buena Vista, Saltillo, Coahuila, México . [K 39946 López Matías, Fericely.pdf](#)

Mayek-Pérez, N., López-Salinas, E., Cumpián-Gutiérrez, J., & Acosta-Gallegos, J. A. 2009. Herencia de la Resistencia de Campo a *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. en Líneas Endogámicas Recombinantes de Frijol Común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista mexicana de fitopatología*, 27(1), 1-10. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092009000100001&lng=es&tlng=es.

Mayek-Pérez N, Hernandez-Delgado S. 2010. Charcoal rot or ashy stem blight. Bean Improvement Cooperative Research Techniques. Michigan State University, 14p.

Meena, P. N., Roy, A. K., Satpathy, S., & Mitra, S. (2021). Efficacy of strobilurin, triazole and propylene bis-dithiocarbamate fungicides against *Macrophomina phaseolina* (Tassi) goid of jute. *Indian Phytopathology*, 74(1), 45–51. <https://doi.org/10.1007/S42360-021-00318-2>.

Méndez L. W., de Chaves M. G., Fonseca M. C., Mendes R., Raaijmakers J. M.. and Tsai SM. 2019. Resistance breeding of common bean shapes the physiology of the rhizosphere microbiome. *Frontiers in Microbiology* 10: 2252. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02252>

Mendoza, Y., & Laurentin, H. (2012). Efecto de extractos etanólicos de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) sobre *Macrophomina phaseolina*. *Revista Unellez de Ciencia y Tecnología*, 30, 51-60.

Moghaddam, M., & Mehdizadeh, L. (2020). Chemical composition and antifungal activity of essential oil of *Thymus vulgaris* grown in Iran against some plant pathogenic fungi. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(5), 1072-1083. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2020.1843547>

Myers, J. R., & Kmiecik, K. (2017). *Common Bean: Economic Importance and Relevance to Biological Science Research* (pp. 1–20). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-63526-2_1

Nascimento, P., de Paz, C., Pereira, J. E., Peixoto, A. R., & Santos, A. F. de J. (2025). Detection of enzymatic compounds and antagonism of bacteria species on the development of *Macrophomina phaseolina*. *Bioagro-*, 37(1), 53–66. <https://doi.org/10.51372/bioagro371.5>

Olivas Herrera Sergio (1999). *Siembra de Maíz (Zea mayz L.) Aspros 910 y Frijol (Phaseolus vulgaris L.) Pinto Americano en forma intercalada, utilizando herramientas convencional y agua reciclada*. Buena Vista, Saltillo, Coahuila, México. <http://www.repositorio.uaaan.mx:8080/>

Pérez-Veyna, O., Hernández-Morales, J. L., & Castillo-Romero, M. (2008). *Historia, naturaleza y cualidades alimentarias del fríjol*. *Revista Investigación Científica*, Vol. 4, No. 3, Nueva época, septiembre–diciembre 2008, ISSN 1870–8196 <http://ricaxcan.uaz.edu.mx/jspui/bitstream/20.500.11845/268/1/Perez%20Oscar.%20Historia.pdf>

Prieto-Cornejo, M. R., Matus-Gardea, J. A., Gavi-Reyes, F., Omaña-Silvestre, J. M., Brambila-Paz, J. de J., Sánchez-Escudero, J., & Martínez-Damián, M. Á. (2019). Evolución de la superficie cultivada de frijol e impacto económico de la sequía sobre su rendimiento bajo condiciones de temporal en México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 42(2), 173–182. <https://doi.org/10.35196/RFM.2019.2.173>

Rabago-Zavala, K., Valenzuela-Escoboza, F. A., Mora-Romero, G. A., Lizárraga-Sánchez, G. J., & Tovar-Pedraza, J. M. (2023). First Report of *Ceratobasidium* sp. (AG-A and AG-G) Causing Root Rot and Stem Canker of Common Bean in Mexico. *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-22-1317-PDN>

Ramírez-Méndez JE, Hernández-Castillo FD, Gallegos-Morales G, Jasso-Cantú D, ArredondoValdés R y Tucuch-Pérez MA. 2024. Efectividad biológica de extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* sobre *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani* *in vitro*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 42(4): 40. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2024-23>

Ribera, A.E, & Zuñiga, G. (2012). Induced plant secondary metabolites for phytopathogenic fungi control: a review. *Journal of soil science and plant*

nutrition, 12(4), 893-911. Epub 21 de enero de 2012. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162012005000040>

Rios-Velasco, C. R.; Cisneros, J. M. C.; Reyes, D. I. B.; Cisneros, M. F. R.; Paz, J. J. O.; Marina, M. Á. S. y Prieto, V. M. G. 2016. Identification and antagonistic activity *in vitro* of *Bacillus* spp. and *Trichoderma* spp. isolates against common phytopathogenic fungi. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 34:84-99. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1507-1>

Ruiz Quiroz, J. R. 2013. Actividad antifúngica *in vitro* y concentración mínima inhibitoria mediante microdilución de ocho plantas medicinales. [tesis de Maestría en línea]. Lima-Perú; Universidad Mayor de San Marcos; Facultad de Farmacia y Bioquímica Unidad de Postgrado. https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/880034/actividad-antifungica-in-vitro-y-concentracion-minima-inhibitor_a1moqNw.pdf

SIAP. 2025. [Acciones y Programas](#). Producción mensual agrícola del cultivo del frijol. https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola/

Singh, N., Pandey, P., Dubey, R. C., & Maheshwari, D. K. (2008). Biological control of root rot fungus *Macrophomina phaseolina* and growth enhancement of *Pinus roxburghii* (Sarg.) by rhizosphere competent *Bacillus subtilis* BN1. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 1669-1679. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9680-z>

Singh, S., Prashad, H., & Gautam, H. (2023). Management of *Macrophomina phaseolina* by cultural practices. In *Macrophomina phaseolina*. *Ecobiology, Pathology and Management* (pp. 241-250). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15443-0.00013-9>

Schöneberg, T., Kibler, K., Sulyok, M., Musa, T., Bucheli, D., Mascher, F., ... Voegelé, R. 2018. Can plant phenolic compounds reduce *Fusarium* growth and mycotoxin production in cereals ?. *Food Additives and Contaminants - Part A*. 1–16. <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1538570>

Shoda, M. (2000). Bacterial control of plant diseases. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 89(6), 515-521. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(00\)80049-3](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(00)80049-3)

Silva-Sarzi, J., Graciolli-Savian, L. G, Cruz Couto, L. F. da S., Tabaldi-Almeri, L., Pereira da Silva, J. C., & Brião-Muniz, M. F. (2024). Biocontrole de *Macrophomina phaseolina* e Indução de Resistência em Feijoeiro com Uso de *Trichoderma* spp. *Ensaios e Ciência*, 28(3), 304–310. <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2024v28n3p304-310>

Singh, G., Kumar, P., & Joshi, S. C. (2014). Treatment of dermatophytosis by a new antifungal agent 'apigenin'. *Mycoses*, 57(8), 497-506. <https://doi.org/10.1111/myc.12188>

Thakur, R. K., Gupta, A. K., & Jandaik, S. (2022). Bio-control by using Antagonistic (Filamentous Fungi and VAM) and Bacteria against *Macrophomina phaseolina*. *International Journal of Plant and Environment*, 8(02), 106–110. <https://doi.org/10.18811/ijpen.v8i02.02>

Tsegaye, Y., Chala, A., & Rezene, Y. (2024). Destructive fungal disease survey of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rust (*Uromyces appendiculatus*) in Southern Ethiopia. *Dental Science Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-72576-9>

Ulloa, J. A., Ulloa, P. R., Ramírez Ramírez, J. C., & Ulloa Rangel, B. E. (2011). El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. *Revista Fuente*. <http://192.100.162.123:8080/handle/123456789/582>

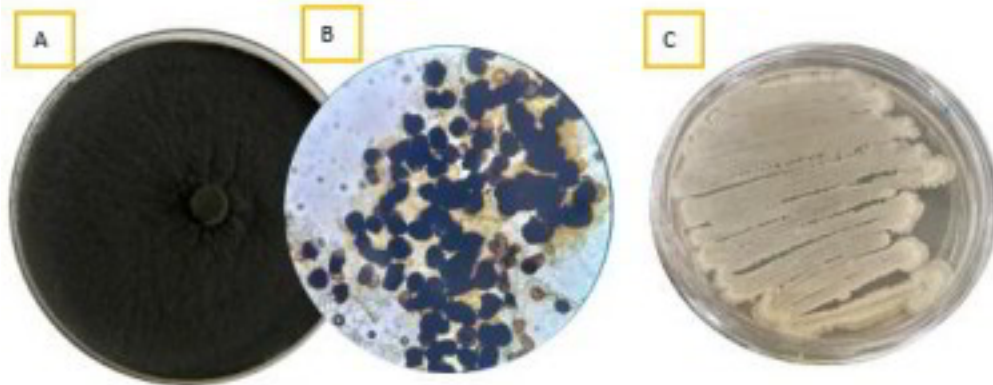
Usmael A, Dejene M, Ayena G (2023) Assessment of Root Rot Pathogens of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and Reaction of Genotypes to the Pathogens in West Hararghe Zone, Ethiopia. Open J Plant Sci 8(1): 037-055. DOI: <https://dx.doi.org/10.17352/ojps.000056>

Vázquez, R. A., Viteri, D. M., & Linares-Ramírez, A. M. (2024). Response of Common and Tepary Bean Genotypes to Three *Macrophomina phaseolina* Isolates Inoculated at Different Growth Stages. *Hortscience*, 59(12), 1718–1722. <https://doi.org/10.21273/hortsci18222-24>

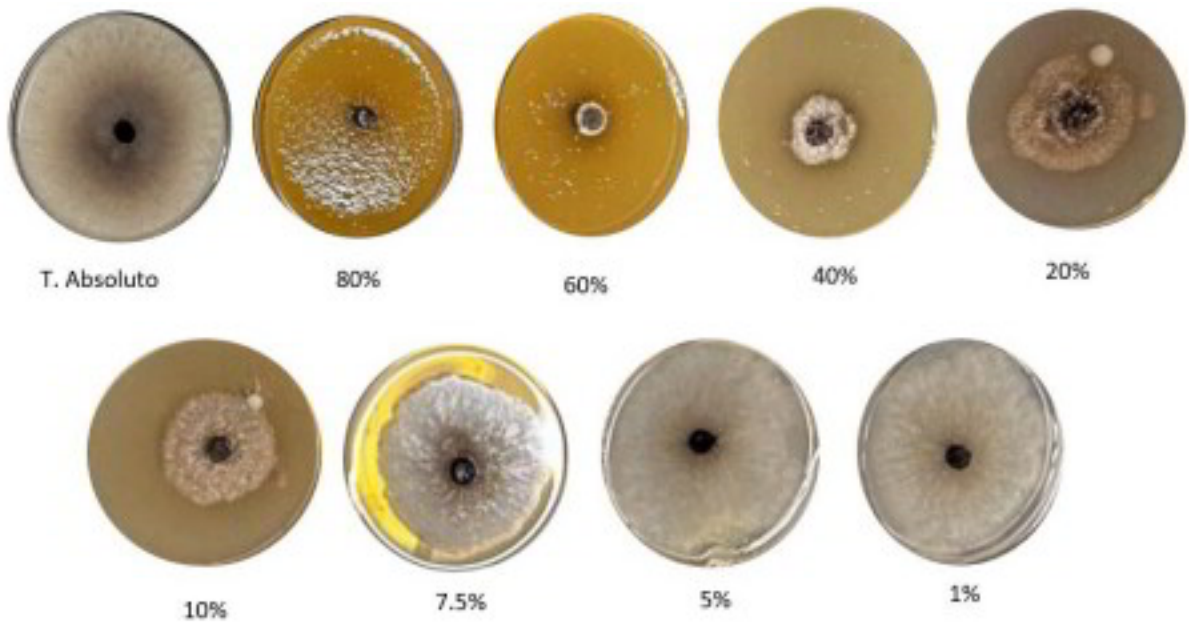
Viejobueno, J., Rodríguez-Berbel, N., Miranda, L., de los Santos, B., & Camacho, M. (2021). Potential Bacterial Antagonists for the Control of Charcoal Rot (*Macrophomina phaseolina*) in Strawberry. *Horticulturae*, 7(11), 457. <https://doi.org/10.3390/HORTICULTURAE7110457>

Vogt, V., D. Cifuentes, C. Tonn, L. Sabini and S. Rosas. 2013. Antifungal activity in vitro and in vivo of extracts and lignans isolated from *Larrea divaricata* Cav. against phytopathogenic fungus. *Ind. Crop Prod.* 42:583-586. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.009>

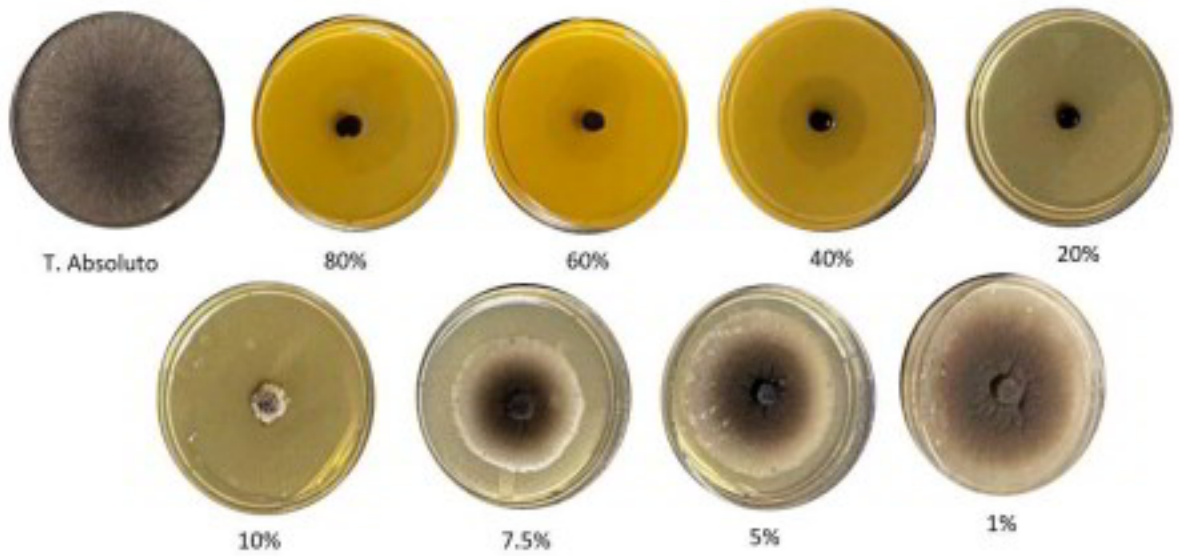
ANEXOS



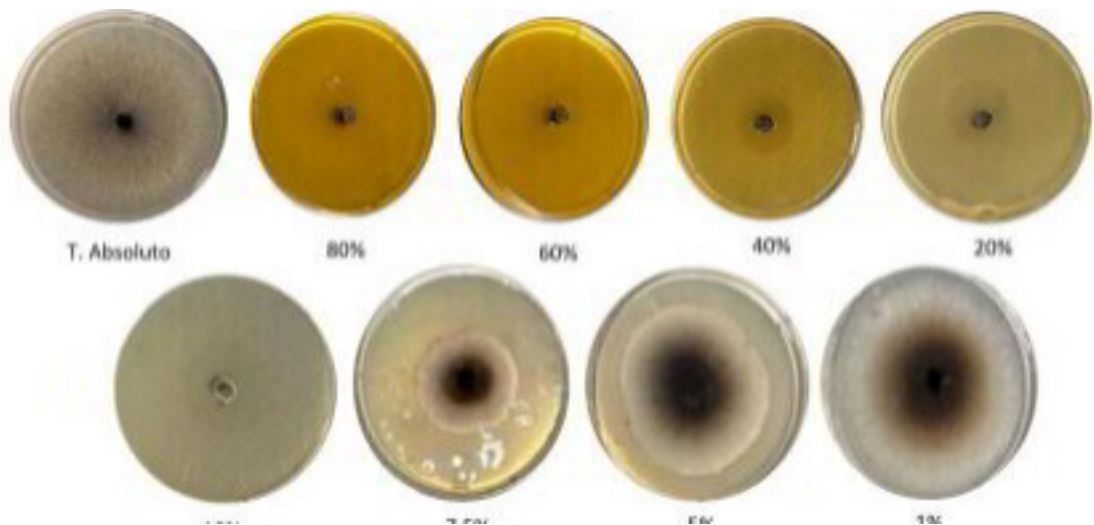
Anexo 1. Crecimiento de *Macrophomina phaseolina* MPF1 en PDA (A) y formación de esclerocios (B), así como crecimiento de *Bacillus subtilis* BAN2 (C).



Anexo 2. Actividad antifúngica de *Euphorbia antisiphilitica* sobre el crecimiento micelial de *Macrophomina phaseolina* por el método de medio envenenado.



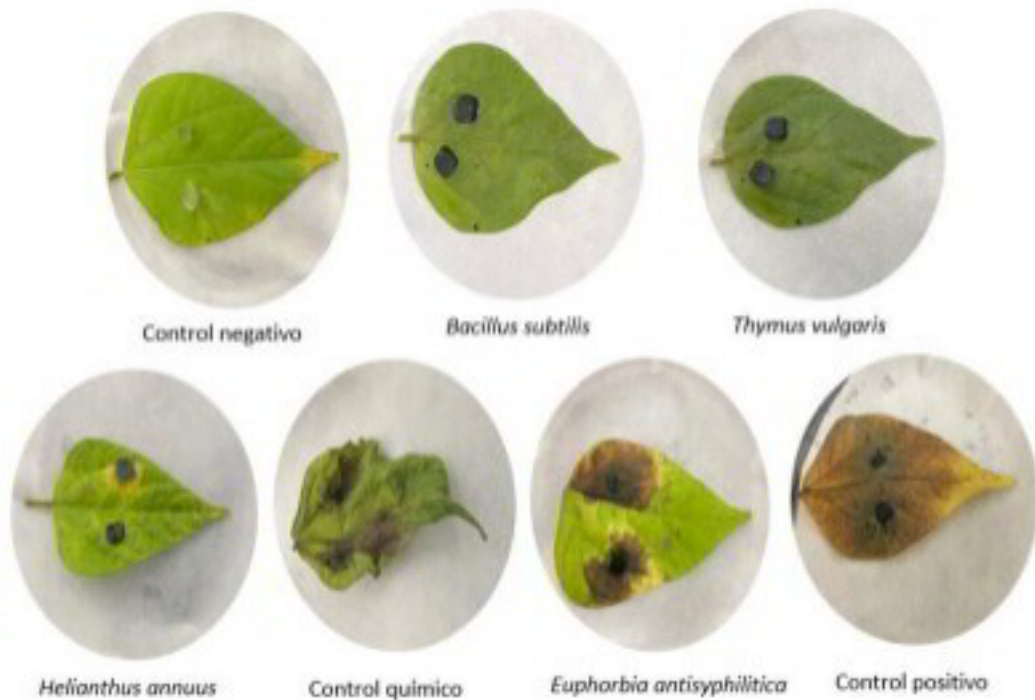
Anexo 3. Actividad antifúngica de *Helianthus annuus* sobre el crecimiento micelial de *Macrophomina phaseolina* por el método de medio envenenado.



Anexo 4. Actividad antifúngica de *Thymus vulgaris* sobre el crecimiento micelial de *Macrophomina phaseolina* por el método de medio envenenado.



Anexo 5. Actividad antifúngica de *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento micelial de *Macrophomina phaseolina* por la técnica de cultivo dual.



Anexo 6. Actividad antifúngica de extractos vegetales de *Euphorbia antisyphilitica*, *Helianthus annuus*, *Thymus vulgaris* y filtrados de *Bacillus subtilis* sobre el desarrollo de *Macrophomina phaseolina* en hojas de frijol por la Técnica de Hoja Desprendida