



Evaluation of plant extract from the Chihuahuan Desert against *Fusarium oxysporum* in pepper

Evaluación de extractos vegetales del Desierto Chihuahuense contra *Fusarium oxysporum* en el cultivo de chile

Jesús Eduardo Ramírez-Méndez¹; Francisco Daniel Hernández-Castillo¹;
Diana Jasso de Rodríguez¹; Omar Jiménez-Pérez²; Rocío Crystabel López-González³;
Marco A. Tucuch-Pérez^{4*}

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Parasitología. Calzada Antonio Narro, núm. 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C. P. 25315, México.

²Universidad Tecnológica de Escuinapa. Camino al Guasimal, s/n, col. Centro, Escuinapa de Hidalgo, Sinaloa, C. P. 82400, México.

³Instituto Tecnológico de México, Instituto Tecnológico de Ciudad Valles. Ciudad Valles, San Luis Potosí, C. P. 79010, México.

⁴Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Botánica. Calzada Antonio Narro, núm. 1923, 14 Buenavista, Saltillo, Coahuila, C. P. 25315, México.

*Corresponding author: martp1216@gmail.com

Abstract

Wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* is one of the main diseases affecting pepper production. This study evaluated the antifungal activity of methanolic extracts from leaves of *Agave striata* and stems of *Fouquieria splendens* from the Chihuahuan Desert against *F. oxysporum* under *in vitro* and *in vivo* conditions in greenhouse-grown pepper crop. Fungal identification was conducted using taxonomic keys and molecular analysis. Antifungal activity was assessed through a microdilution approach using concentrations ranging from 3.9 to 2000 mg·L⁻¹, to determine the 50 and 90 % inhibitory concentrations. Additionally, cellular damage induced in *F. oxysporum* was examined, and the *in vivo* effectiveness of the extracts was evaluated. The *in vitro* results showed that *A. striata* and *F. splendens* inhibited 100 % of fungal growth at concentration of 1000 and 250 mg·L⁻¹, respectively. Both extracts induced vacuolization and cytoplasmic disorganization in the fungal structures. Under *in vivo* conditions, the extract of *F. splendens* completely controlled the disease, while *A. striata* reduced its severity. These findings confirm the potential of these extracts as biocontrol agents against *F. oxysporum* in pepper.

Keywords: phytochemicals, biocontrol, phytopathogens, antagonism.

Resumen

La marchitez causada por *Fusarium oxysporum* es una de las principales enfermedades que afectan la producción de chile. En este estudio se evaluó la actividad antifúngica de extractos metanólicos de hojas de *Agave striata* y tallos de *Fouquieria splendens* del Desierto Chihuahuense sobre *F. oxysporum* bajo condiciones *in vitro* e *in vivo* en el cultivo de chile en invernadero. La identificación del hongo se realizó mediante claves taxonómicas y análisis molecular. La actividad antifúngica de los extractos se determinó por la técnica de microdilución, con dosis de 3.9 a 2000 mg·L⁻¹, con el fin de establecer las concentraciones inhibitorias al 50 y 90 %. Asimismo, se analizó el daño celular inducido en *F. oxysporum* y se evaluó la efectividad antifúngica de los extractos en condiciones *in vivo*. Los resultados *in vitro* evidenciaron que *A. striata* y *F. splendens* inhibieron el 100 % del crecimiento del hongo a concentraciones de 1000 y 250 mg·L⁻¹, respectivamente. Ambos extractos indujeron vacuolización y desorganización citoplasmática en las estructuras del hongo. En condiciones *in vivo*, el extracto de *F. splendens* controló totalmente la enfermedad, mientras que *A. striata* redujo significativamente su severidad. Los resultados confirman el potencial de estos extractos como agentes de biocontrol sobre *F. oxysporum* en el cultivo de chile.

Palabras clave: fitoquímicos, biocontrol, fitopatógenos, antagonismo.

Please cite this article as follows (APA 7): Ramírez-Méndez, J. E., Hernández-Castillo, F. D., Jasso de Rodríguez, D., Jiménez-Pérez, O., López-González, R. C., & Tucuch-Pérez, M. A. (2025). Assessment of plant extract from the Chihuahuan Desert against *Fusarium oxysporum* in pepper. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 24, e2503. <https://doi.org/10.5154/r.rchsza.2025.04.03>



Revista Chapingo
Serie Zonas Áridas

Introduction

Pepper (*Capsicum annuum* L.) production is highly important worldwide due to its nutritional and economic value. In Mexico, production in 2023 reached 3 681 061.47 t, the state of Chihuahua (22.72 %), Sinaloa (22.08 %), Zacatecas (13.52 %), San Luis Potosí (9.47 %) and Sonora (5.37 %) stood out as the main producers (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2024). However, as with other crops, its production is affected by fungal diseases, such as wilt caused by *Fusarium oxysporum*, a soilborne phytopathogen capable of surviving for several years and infecting plants from the seedling stage onward (Ahmad et al., 2023).

Plants infected with *F. oxysporum* exhibit yellowing of the lower leaves, curling of the apical shoots, wilting, and ultimately death (Shaheen et al., 2021). Currently, the primary method of control against this phytopathogen is the use of synthetic chemical products. However, several studies have reported the negative environmental impact of these products, as well as the risk of developing resistant strains (Zheng et al., 2022). Consequently, the search for sustainable alternatives that complement or replace conventional methods has intensified. Among these alternatives, the use of plant extracts with antifungal properties stands out as a promising option for the sustainable management of crop diseases (Hussain et al., 2023).

In Mexico, certain plants from the Chihuahuan Desert are notable due to their medicinal, antimicrobial and antifungal properties (Mohamed et al., 2017), because they contain phenols, tannins, flavonoids, and alkaloids (Rodríguez-Guadarrama et al., 2018). In this context, *Agave striata* and *Fouquieria splendens* have been reported as sources of compounds with antibacterial and fungicidal activity (Ramírez-Méndez et al., 2024), suggesting their potential application as biocontrol agents against phytopathogenic fungi.

Based on the above, we hypothesized that extracts from *A. striata* and *F. splendens* could inhibit mycelial growth and induce structural alterations in *F. oxysporum*. Therefore, the objective of this study was to evaluate the antifungal activity of methanolic extracts from *A. striata* leaves and *F. splendens* stems from the Chihuahuan Desert against *F. oxysporum* under *in vitro* and *in vivo* conditions in greenhouse-grown pepper crops.

Materials and methods

Isolation and identification of *Fusarium oxysporum*

Root and stem sample from serrano pepper var. Platino with clear wilt symptoms were collected in the municipality of Escuinapa, Sinaloa, Mexico. The

Introducción

El cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.) es de gran relevancia a nivel mundial debido a su valor nutricional y económico. En México, la producción en 2023 alcanzó 3 681 061.47 t, donde destacaron los estados de Chihuahua (22.72 %), Sinaloa (22.08 %), Zacatecas (13.52 %), San Luis Potosí (9.47 %) y Sonora (5.37 %) como los principales productores (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2024). No obstante, al igual que otros cultivos, su producción se ve afectada por enfermedades fúngicas, como la marchitez causada por *Fusarium oxysporum*, un fitopatógeno del suelo capaz de sobrevivir durante varios años y de infectar a las plantas desde la etapa de plántula (Ahmad et al., 2023).

Las plantas infectadas con *F. oxysporum* presentan amarillamiento de las hojas inferiores, enrollamiento de los brotes apicales, marchitez y, finalmente, la muerte (Shaheen et al., 2021). Actualmente, el principal método de control contra este fitopatógeno es el uso de productos de síntesis química. Sin embargo, diversos estudios han reportado los efectos negativos de estos productos sobre el ambiente, además del riesgo de generar cepas resistentes (Zheng et al., 2022). Por ello, se ha intensificado la búsqueda de alternativas sostenibles que complementen o sustituyan los métodos convencionales. Entre estas alternativas destaca el uso de extractos vegetales con propiedades antifúngicas como una opción prometedora para el manejo sostenible de enfermedades en los cultivos (Hussain et al., 2023).

En México, algunas plantas del Desierto Chihuahuense destacan por sus propiedades medicinales, antimicrobianas y antifúngicas (Mohamed et al., 2017), ya que contienen fenoles, taninos, flavonoides y alcaloides (Rodríguez-Guadarrama et al., 2018). En este sentido, *Agave striata* y *Fouquieria splendens* se han reportado como fuentes de compuestos con actividad antibacteriana y fungicida (Ramírez-Méndez et al., 2024), lo cual sugiere su posible aplicación como agentes de biocontrol frente a hongos fitopatógenos.

Con base en lo anterior, se planteó la hipótesis de que los extractos de *A. striata* y de *F. splendens* podrían inhibir el crecimiento micelial y causar alteraciones estructurales en *F. oxysporum*. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antifúngica de extractos metanólicos de hojas de *A. striata* y tallos de *F. splendens* del Desierto Chihuahuense sobre *F. oxysporum* bajo condiciones *in vitro* e *in vivo* en el cultivo de chile en invernadero.

Materiales y métodos

Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum*

La recolección de raíces y tallos de plantas de chile serrano var. Platino con síntomas evidentes de marchitez

random sampling included six plants from a 1 ha conventional production greenhouse containing 25 000 established plants. Samples were placed in plastic bags and transported in an ice-filled cooler to the *Laboratorio de Micología y Biotecnología del Departamento de Parasitología* (LMBDP) at the *Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro* (UAAAN), where they were immediately processed for fungal isolation using the hyphal tip technique.

The pure colony was morphologically characterized using the taxonomic keys of Leslie and Summerell (2006), and was identified as *Fusarium* sp. Subsequently, molecular identification was conducted at the *Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental* (LANBAMA) of the *Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica* (IPICYT). DNA extraction was performed using the CTAB method described by Huang et al. (2018). The ITS region, located between the 18S and 28S ribosomal subunits, was amplified by PCR using the primers ITS1 e ITS4 (White et al., 1990). The amplified products were sequenced using the chain-termination (Sanger) method, and the resulting sequences were compared with those available in the GenBank database to confirm the identity of the isolate.

Plant collection

Plants of *A. striata* and *F. splendens* were collected in the municipality of General Cepeda, Coahuila, Mexico (25° 20' 27.13" N and 101° 27' 52.07" W, at 1531 m a. s. l.) during August 2023, in the dry season. One physiologically mature adult specimen of each species was selected. The collection was carried out in the morning, based on selection criteria that included optimal vegetative development and the absence of damage or disease symptoms (Ghimire et al., 2019). The samples were transported to the LMBDP at the UAAAN for further processing.

Preparation of extracts

The extracts were prepared following the methodology of Jasso-de Rodríguez et al. (2015), with minor modifications. First, the leaves of *A. striata* and the stems of *F. splendens* were ground and sieved to obtain a powder with particle size between 0.5 to 1 mm. A total of 42 g of the powdered material was weighed, placed into 500 mL containers and mixed with 375 mL of 96 % methanol in each container. The containers were placed on a stirring hot plate (Cimarec, Thermo Scientific, USA) for 72 h at 60 °C. The methanol was then removed by rotary evaporation (IKA RV 10, Artisan®, USA) at 150 rpm and 70 °C. Finally, the methanolic fraction obtained was transferred to glass containers and dried in an oven (AR-130D, Arsa®, Mexico) for 72 h at 50 °C.

se realizó en el municipio de Escuinapa, Sinaloa, México. El muestreo aleatorio incluyó seis plantas provenientes de un invernadero de producción convencional de 1 ha con 25 000 plantas establecidas. Las muestras se colocaron en bolsas de plástico y se transportaron en una hielera con hielo hasta el Laboratorio de Micología y Biotecnología del Departamento de Parasitología (LMBDP) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), donde las muestras se procesaron de inmediato para el aislamiento del hongo mediante la técnica de punta de hifa.

La colonia pura obtenida se caracterizó morfológicamente con base en las claves taxonómicas de Leslie y Summerell (2006), identificándose como *Fusarium* sp. Posteriormente, la identificación molecular se realizó en el Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental (LANBAMA) del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT). La extracción del ADN se realizó por el método CTAB descrito por Huang et al. (2018). La región ITS, comprendida entre las subunidades ribosomales 18S y 28S, se amplificó mediante PCR con los cebadores ITS1 e ITS4 (White et al., 1990). Los productos amplificados se secuenciaron por el método de terminación de cadena (Sanger), y las secuencias obtenidas se compararon con las disponibles en la base de datos del GenBank para confirmar la identidad del aislado.

Recolecta de las plantas

Las plantas de *A. striata* y *F. splendens* se recolectaron en el municipio de General Cepeda, Coahuila, México (25° 20' 27.13" N y 101° 27' 52.07" O, a 1531 m s. n. m.) durante agosto de 2023, en la temporada de sequía. Se seleccionó un ejemplar adulto fisiológicamente maduro por cada especie. La recolecta se realizó durante la mañana, y se consideraron criterios de selección que incluyeron el desarrollo vegetativo óptimo y la ausencia de daños o síntomas de enfermedad (Ghimire et al., 2019). Las muestras se trasladaron al LMBDP de la UAAAN para su posterior procesamiento.

Preparación de los extractos

Los extractos se obtuvieron de acuerdo con la metodología de Jasso-de Rodríguez et al. (2015), con algunas modificaciones. Primero, se molieron y tamizaron las hojas de *A. striata* y los tallos de *F. splendens* para obtener un polvo con partículas de 0.5 a 1 mm. Se pesaron 42 g del material pulverizado, se colocaron en matraces de 500 mL y se agregaron 375 mL de metanol al 96 % en cada matraz. Los matraces se colocaron en una parrilla de agitación (Cimarec, Thermo Scientific, EUA) durante 72 h a 60 °C. Después, el metanol se eliminó mediante rotaevaporación (IKA RV 10, Artisan®, EUA) a 150 rpm y 70 °C. Finalmente, la fracción metanólica obtenida se vertió en recipientes de vidrio

Antifungal activity of the extracts against *Fusarium oxysporum*

Antifungal activity was evaluated using the microdilution technique described by Tucuch-Pérez et al. (2020). Polystyrene 96-well plates were prepared by adding 110 µL of Sabouraud liquid medium and 40 µL of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride to each well. The first column served as the negative control. Starting with the second column (positive control), 10 µL of a *F. oxysporum* spore suspension (1×10^6 conidia·mL⁻¹) was added to each well in addition to the previously described components. From the third column onward, each well received treatments with plant extracts at concentrations ranging from 3.9 to 2000 mg·mL⁻¹.

The microplates were incubated at 28 ± 2 °C for 72 h. Subsequently, absorbance was measured at 490 using a spectrophotometer (Go 51119200, Thermo Scientific Multiskan, USA). The experiment was conducted under a completely randomized design with three replicates (one microplate per replicate). The percentage of inhibition was calculated using the formula proposed by Moreno-Limón et al. (2011):

$$\text{Percentage of inhibition} = \left(\frac{A - B}{C} \right) \times 100$$

where *A* is the absorbance of the treatment, *B* is the absorbance of the negative control, and *C* is the absorbance of the positive control.

Effect of extracts on the cellular structures of *Fusarium oxysporum*

The effects of *A. striata* and *F. splendens* extracts on the cellular structures of *F. oxysporum* were evaluated following the methodology of Khalili et al. (2023), with minor modifications. A suspension of 50 µL *F. oxysporum* (1×10^6 conidia·mL⁻¹) was mixed with a 1:1 (v/v) solution of Sabouraud medium and the extract, using the previously determined 90 % inhibitory concentrations (IC₉₀) of *A. striata* (310.91 mg·L⁻¹) and *F. splendens* (233.89 mg·L⁻¹), these concentrations were previously determined through *in vitro* to ensure an effective antifungal effect and to evaluate the cellular changes induced in the pathogen. A negative control without extract addition was included. Cultures were incubated at 25 ± 2 °C and 150 rpm for 7 days. Morphological changes were examined using light microscopy at 40× and 100×. Each treatment was performed in triplicate.

In vivo evaluation of the biological effectiveness of the extracts

The *in vivo* assay was conducted in a greenhouse at the Department of Parasitology at UAAAN (25° 21' 08.01" N and 101° 01' 38.00" W), in Saltillo, Coahuila, Mexico, during the spring-summer cycle of 2023. During the

y se secó en una estufa (AR-130D, Arsa®, México) a 50 °C durante 72 h.

Actividad antifúngica de los extractos sobre *Fusarium oxysporum*

La actividad antifúngica se evaluó mediante la técnica de microdilución descrita por Tucuch-Pérez et al. (2020). Se utilizaron placas de poliestireno de 96 pozos, en las que se adicionaron 110 µL de medio líquido Sabouraud y 40 µL de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio. La primera columna correspondió al testigo negativo y, a partir de la segunda columna (testigo positivo), además de lo anterior se incorporaron 10 µL de una suspensión de esporas de *F. oxysporum* (1×10^6 conidios·mL⁻¹). Después de la tercera columna, se aplicaron los tratamientos con extractos vegetales en concentraciones de 3.9 a 2000 mg·mL⁻¹.

Las microplacas se incubaron a 28 ± 2 °C durante 72 h y, posteriormente, se midió la absorbancia a 490 nm en un espectrofotómetro (Go 51119200, Thermo Scientific Multiskan, EUA). El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar con tres repeticiones (una microplaca por repetición). El porcentaje de inhibición se calculó con la fórmula propuesta por Moreno-Limón et al. (2011):

$$\text{Porcentaje de inhibición} = \left(\frac{A - B}{C} \right) \times 100$$

donde *A* es la absorbancia del tratamiento, *B* es la absorbancia del testigo negativo y *C* es la absorbancia del testigo positivo.

Efecto de los extractos sobre las estructuras celulares de *Fusarium oxysporum*

El efecto de los extractos de *A. striata* y *F. splendens* sobre las estructuras celulares de *F. oxysporum* se evaluó según la metodología de Khalili et al. (2023), con algunas modificaciones. Se mezclaron 50 µL de una suspensión de *F. oxysporum* (1×10^6 conidios·mL⁻¹) con una solución 1:1 (v/v) de medio Sabouraud y extracto, con las concentraciones inhibitorias al 90 % (CI₉₀) de *A. striata* (310.91 mg·L⁻¹) y *F. splendens* (233.89 mg·L⁻¹) obtenidas previamente mediante bioensayos *in vitro* para asegurar un efecto antifúngico eficaz y evaluar los cambios celulares inducidos en el patógeno. Se incluyó un control negativo sin la adición de extractos. Los cultivos se incubaron a 25 ± 2 °C y 150 rpm por 7 días. Los cambios morfológicos se analizaron mediante microscopía óptica (40× y 100×). Cada tratamiento se realizó por triplicado.

Evaluación *in vivo* de la efectividad biológica de los extractos

El ensayo *in vivo* se llevó a cabo en un invernadero del Departamento de Parasitología de la UAAAN (25° 21' 08.01" N y 101° 01' 38.00" O), en Saltillo, Coahuila,

bioassay, the average room temperature was $23 \pm 5^\circ\text{C}$ and the relative humidity was $60 \pm 7\%$, both recorded using a digital thermos-hygrometer (model 445815, Extech, USA).

Transplanting and inoculation

Seeds of serrano pepper, variety Tampiqueño 74 were used. Germination was carried out in Styrofoam trays with peat moss as the substrate. Two weeks later, the seedlings were transplanted into 2-L pots containing a substrate composed of 45 % pasteurized soil, 45 % peat moss and 10 % perlite. Inoculation was performed following the methodology of Silva-Lima et al. (2019), with minor modifications. The apical roots were cut transversely and submerged in a *F. oxysporum* suspension (1×10^6 conidia·mL⁻¹) for 5 min; later, the seedlings were transplanted into plastic bags. Plants were maintained at $60 \pm 7\%$ relative humidity, fertilized with Steiner solution for solanaceous crops and irrigated with tap water.

Treatment application

The treatments were arranged in a completely randomized block design with four replicates. The treatments were as follows: T1) positive control inoculated with *F. oxysporum* without treatment, T2) negative control, neither inoculated nor treated, T3) *A. striata* leaf extract (310.91 mg·L⁻¹) and T4) *F. splendens* stem extract (233.89 mg·L⁻¹). Extracts were applied based on the previously determined IC₉₀ from *in vitro* bioassays, using both drench and foliar applications every seven days for six weeks.

Variables studied

The variables evaluated included disease incidence and severity, as well as plant morphometric parameters, such as fresh and dry biomass of shoots and roots, plant height, root length, stem diameter, and relative chlorophyll index (measured with SPAD meter), in addition to fruit weight, number, and size. Disease incidence was calculated as the percentage of plants showing visible wilt symptoms relative to the total number of plants evaluated, using the following formula:

$$\text{Incidence} = \frac{\text{Number of infected plants}}{\text{Total plants}} \times 100$$

Severity, defined as the degree or intensity of damage caused by the disease in each plant, was assessed according to the scale of Velarde-Félix et al. (2018), with some modification: 0 = plant without symptoms 1=mild necrosis in the xylem without foliar symptoms, 2 = slight leaf yellowing and xylem necrosis extending to the cotyledons, 3 = stunted plant with

México, durante el ciclo primavera-verano de 2023. En el bioensayo, la temperatura ambiental promedio fue de $23 \pm 5^\circ\text{C}$ y la humedad relativa de $60 \pm 7\%$, ambas registradas con un termohigrómetro digital (modelo 445815, Extech, EUA).

Trasplante e inoculación

Se utilizaron semillas de chile serrano variedad Tampiqueño 74. La germinación se realizó en charolas de unisel con turba (*peat moss*) como sustrato. A las dos semanas, las plántulas se trasplantaron a macetas de 2 L que contenían un sustrato compuesto por 45 % de suelo pasteurizado, 45 % de *peat moss* y 10 % de perlita. La inoculación se realizó según la metodología de Silva-Lima et al. (2019), con algunas modificaciones. Las raíces apicales se cortaron transversalmente y se sumergieron en una suspensión de *F. oxysporum* (1×10^6 conidios·mL⁻¹) por 5 min; posteriormente, se trasplantaron a bolsas de plástico. Las plantas se mantuvieron a $60 \pm 7\%$ de humedad relativa, se fertilizaron con una solución de Steiner para solanáceas y se regaron con agua corriente.

Aplicación de los tratamientos

Los tratamientos se establecieron bajo un diseño de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones. Los tratamientos fueron: T1) control positivo inoculado con *F. oxysporum* sin tratamiento, T2) control negativo sin inoculación ni tratamiento, T3) extracto de hojas de *A. striata* (310.91 mg·L⁻¹) y T4) extracto de tallos de *F. splendens* (233.89 mg·L⁻¹). Los extractos se aplicaron con base en la CI₉₀ obtenida en los bioensayos *in vitro*, mediante aplicaciones tipo *drench* y foliares cada siete días durante seis semanas.

Variables evaluadas

Las variables evaluadas fueron la incidencia, la severidad y los parámetros morfométricos de las plantas, incluidos el peso fresco y seco de la biomasa aérea y radicular, la altura, la longitud de la raíz, el diámetro del tallo, el índice relativo de clorofila (medido con un SPAD), así como el peso, el número y el tamaño de los frutos. La incidencia se calculó como el porcentaje de plantas con síntomas visibles de marchitez respecto al total evaluado mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia} = \frac{\text{Número de plantas enfermas}}{\text{Total de plantas}} \times 100$$

La severidad, referida al grado o intensidad del daño causado por la enfermedad en cada planta, se evaluó de acuerdo con la escala de Velarde-Félix et al. (2018), con algunas modificaciones: 0 = planta sin síntomas, 1 = necrosis leve en xilema sin síntomas foliares, 2 = amarillamiento leve de hojas y necrosis del

severe yellowing and necrosis above the cotyledons, 4 = dead plant.

Statistical analysis

The 50 and 90 % inhibitory concentrations (IC_{50} and IC_{90}) in the *in vitro* assays were determined by probit analysis. For the *in vivo* assays, data were subjected to ANOVA and mean comparisons using Tukey's test ($\alpha = 0.05$). All analyses were performed using SAS software, version 9.0 (SAS Institute, 2000).

Results and discussion

Isolation and identification of *Fusarium oxysporum*

F. oxysporum was isolated and identified based on its distinctive characteristics, including the presence of macroconidia, microconidia, and chlamydospores (Leslie and Summerell, 2006). Molecular identification confirmed its identity as *F. oxysporum*, showing 100 % coverage and similarity with GenBank accession numbers MT530269.1 and MT530243.1. The obtained sequence was deposited in GenBank under accession number PQ571194.

Antifungal effectiveness of the extracts against *Fusarium oxysporum*

The methanolic extracts from *A. striata* leaves and *F. splendens* stems showed significant antifungal activity against *F. oxysporum*, completely inhibiting mycelial growth at concentrations of 1000 and 250 $mg \cdot L^{-1}$, respectively (Figure 1). The IC_{50} and IC_{90} values were 81.83 and 310.91 $mg \cdot L^{-1}$ for *A. striata*, and 71.97 and 233.89 $mg \cdot L^{-1}$ for *F. splendens* (Table 1).

No specific studies have been reported on the antifungal activity of *A. striata* and *F. splendens* against *F. oxysporum*. However, extracts from other species of the genus *Agave* have demonstrated the ability to inhibit *Fusarium* spp. (Almazán-Morales et al., 2022; Silva et al., 2022). Additionally, other plants from the Chihuahuan Desert, such as *Larrea tridentata*, have shown antifungal activity against *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, with 63.2 % inhibition at a concentration of 1000 $mg \cdot L^{-1}$ (Lira-Saldivar et al., 2006). Ruiz-Bustos et al. (2009) reported 42 % inhibition against *F. verticillioides* using 500 $\mu g \cdot mL^{-1}$ of methanolic extracts from *Jatropha cuneata*.

Jasso-de Rodríguez et al. (2007) reported 100 % inhibition of *F. oxysporum* using leaf extracts of *Flourensia cernua*, *F. retinophylla* and *F. microphylla* at concentrations of 1500 $\mu L \cdot L^{-1}$. Peñuelas-Rubio et al. (2017) documented complete inhibition of mycelial growth in *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* when applying 1000 $mg \cdot L^{-1}$ of L.

xilema hasta los cotiledones, 3 = planta atrofiada con amarillamiento severo y necrosis por encima de los cotiledones, 4 = planta muerta.

Análisis estadístico

Las concentraciones inhibitorias al 50 y 90 % (CI_{50} y CI_{90}) en los ensayos *in vitro* se determinaron mediante un análisis probit. En los ensayos *in vivo*, los datos se sometieron a análisis de varianza y comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$). Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico SAS ver. 9.0 (SAS Institute, 2000).

Resultados y discusión

Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum*

El hongo *F. oxysporum* se aisló y se identificó mediante sus características distintivas, como la presencia de macroconidios, microconidios y clamidosporas (Leslie y Summerell, 2006). La identificación molecular confirmó su correspondencia con *F. oxysporum*, al mostrar un 100 % de cobertura y similitud con los números de acceso MT530269.1 y MT530243.1 del GenBank. La secuencia obtenida se depositó en el GenBank con el número de acceso PQ571194.

Efectividad antifúngica de los extractos sobre *Fusarium oxysporum*

Los extractos metanólicos de hojas de *A. striata* y tallos de *F. splendens* mostraron actividad antifúngica significativa contra *F. oxysporum*, al inhibir el 100 % del crecimiento micelial a concentraciones de 1000 y 250 $mg \cdot L^{-1}$, respectivamente (Figura 1). Por otro lado, las CI_{50} y CI_{90} fueron de 81.83 y 310.91 $mg \cdot L^{-1}$ para *A. striata*, y de 71.97 y 233.89 $mg \cdot L^{-1}$ para *F. splendens* (Cuadro 1).

No se han reportado estudios específicos sobre la actividad antifúngica de *A. striata* y *F. splendens* sobre *F. oxysporum*. No obstante, extractos de otras especies del género *Agave* han demostrado su capacidad para inhibir *Fusarium* spp. (Almazán-Morales et al., 2022; Silva et al., 2022). Además, otras plantas del Desierto Chihuahuense, como *Larrea tridentata*, han mostrado actividad antifúngica contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, con una inhibición de 63.2 % al aplicar 1000 $mg \cdot L^{-1}$ (Lira-Saldivar et al., 2006). De forma similar, Ruiz-Bustos et al. (2009) registraron una inhibición de 42 % contra *F. verticillioides* al utilizar 500 $\mu g \cdot mL^{-1}$ de extractos metanólicos de *Jatropha cuneata*.

Por su parte, Jasso-de Rodríguez et al. (2007) reportaron inhibiciones del 100 % en *F. oxysporum* con extractos de hojas de *Flourensia cernua*, *F. retinophylla* y *F. microphylla* a concentraciones de 1500 $\mu L \cdot L^{-1}$. Peñuelas-Rubio et

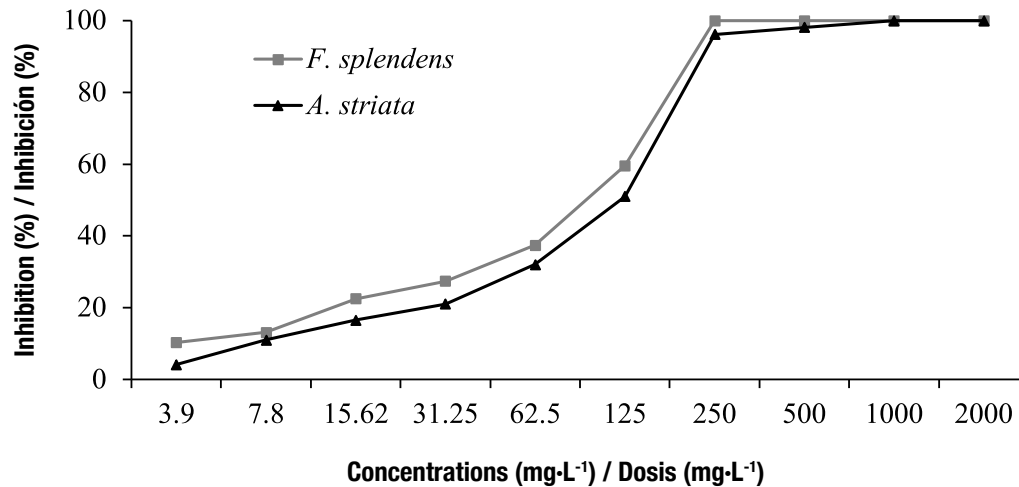


Figure 1. Inhibitory effect of different concentrations of methanolic extracts from *Agave striata* and *Fouquieria splendens* on *Fusarium oxysporum* growth, assessed by microdilution.

Figura 1. Efecto inhibitorio de diferentes concentraciones de extractos metanólicos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum*, determinado por el método de microdilución.

Table 1. Inhibitory concentrations at 50 and 90 % (IC₅₀ and IC₉₀, respectively) of *Agave striata* and *Fouquieria splendens* against *Fusarium oxysporum* in vitro.

Cuadro 1. Concentraciones inhibitorias al 50 y 90 % (CI₅₀ y CI₉₀, respectivamente) de los extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* sobre *Fusarium oxysporum* en condiciones in vitro.

Extracts / Extractos	IC ₅₀ (mg·L ⁻¹) / CI ₅₀ (mg·L ⁻¹)	IC ₉₀ (mg·L ⁻¹) / CI ₉₀ (mg·L ⁻¹)
<i>Agave striata</i>	81.83 a	310.91 a
<i>Fouquieria splendens</i>	71.97 a	233.89 b

Values followed by the same letter in each column are not significantly different (Tukey, $p > 0.05$).

Valores seguidos de letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $p > 0.05$).

tridentata extracts. Tucuch-Pérez et al. (2020) observed that extracts from *Lippia graveolens*, *Carya illinoensis* and *A. lechuguilla* inhibited *F. oxysporum* growth by 40 and 100 %. In that study, root extracts of *A. lechuguilla* achieved total inhibition starting from 250 mg·L⁻¹, a value comparable to that obtained with *F. splendens* in the present study, but lower than that observed for *A. striata*.

Cellular structural changes in *Fusarium oxysporum* caused by the extracts

Both extracts caused morphological alterations in the cellular structures of *F. oxysporum*, evidenced by cytoplasmic vacuolization and structural disorganization in conidia and mycelium (Figure 2). In the negative control, hyphae and conidia maintained their integrity and germinated normally. These effects were observed at the CI₉₀ of each extract (310.91 mg·L⁻¹ for *A. striata* and 233.89 mg·L⁻¹ for *F. splendens*).

The observed antifungal activity may be associated with the presence of compounds with known antifungal

al. (2017) evidenciaron la inhibición completa del crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* al aplicar 1000 mg·L⁻¹ de extractos de *L. tridentata*. Tucuch-Pérez et al. (2020) observaron que los extractos de *Lippia graveolens*, *Carya illinoensis* y *A. lechuguilla* inhiben entre el 40 y 100 % el crecimiento de *F. oxysporum*. En dicho estudio, los extractos de raíces de *A. lechuguilla* alcanzaron una inhibición total a partir de 250 mg·L⁻¹, valor comparable al obtenido con *F. splendens* en el presente trabajo, pero inferior al observado para *A. striata*.

Efecto de los extractos sobre las estructuras celulares de *Fusarium oxysporum*

Ambos extractos generaron alteraciones morfológicas sobre las estructuras celulares de *F. oxysporum*, evidenciadas por vacuolización citoplasmática y desorganización estructural en conidios y micelio (Figura 2). En el control absoluto, las hifas y conidios conservaron su integridad y germinaron normalmente. Estos efectos se observaron con las CI₉₀ de cada extracto (310.91 mg·L⁻¹ para *A. striata* y 233.89 mg·L⁻¹ para *F. splendens*).



Figure 2. Effect of the methanolic extracts on the mycelium and conidia of *Fusarium oxysporum*: A and B) negative control; C and E) *Fouquieria splendens*; D and F) *Agave striata*. Images obtained with 40× and 100× objectives. Scale bars: A, B, C, D = 50 µm; E and F = 20 µm.

Figura 2. Efecto de los extractos metanólicos sobre el micelio y los conidios de *Fusarium oxysporum*: A y B) control absoluto; C y E) *Fouquieria splendens*; D y F) *Agave striata*. Imágenes obtenidas con objetivos de 40× y 100×. Barras de escala: A, B, C, D = 50 µm; E y F = 20 µm.

properties previously identified in both extracts, such as quercetin in *A. striata* and *F. splendens*, pinocembrin in *A. striata* and kaempferol in *F. splendens* (Ramírez-Méndez et al., 2024). Phenolic compounds have also been shown to induce structural alterations in fungal cells, including collapse and contraction (Hong-Sheng et al., 2014). Similarly, Khalili et al. (2023) and Mohamed et al. (2017) reported that extracts of *Pulicaria incisa* and *P. crista*, which are rich in polyphenolic compounds, caused cytoplasmic vacuolization, autophagosome formation, and damage to essential cellular organelles in *F. oxysporum* and *F. solani*.

These findings are consistent with the results obtained in this study, where extracts of *A. striata* and *F. splendens* also caused structural damage in *F. oxysporum*. This suggests a common antifungal mechanism of action based on the induction of cellular damage, which reinforces evidence supporting the effectiveness of the bioactive compounds present in both species for the control of phytopathogenic fungi.

In vivo biological activity of the extracts against *Fusarium oxysporum*

The results for disease incidence and severity in pepper plants inoculated with *F. oxysporum* are presented in Table 2. The positive control showed 100 % incidence and the highest severity (2.78). In contrast, plants treated with the *A. striata* exhibited 33 % incidence and a severity of 0.77, while those treated with *F. splendens* and the negative control showed no disease symptoms, with no statistical differences between these two treatments.

La actividad antifúngica observada podría estar asociada con la presencia de compuestos con propiedades antifúngicas previamente identificados en ambos extractos, como la quercetina en *A. striata* y *F. splendens*, la pinocembrina en *A. striata* y el kaempferol en *F. splendens* (Ramírez-Méndez et al., 2024). Asimismo, se ha documentado que los compuestos fenólicos inducen alteraciones estructurales en las células fúngicas, incluyendo colapso y contracción celular (Hong-Sheng et al., 2014). De igual manera, Khalili et al. (2023) y Mohamed et al. (2017) reportaron que los extractos de *Pulicaria incisa* y *P. crista*, ricos en compuestos polifenólicos, provocaron vacuolización citoplasmática, formación de autofagosomas y daños en orgánulos celulares esenciales en *F. oxysporum* y *F. solani*.

Dichos hallazgos coinciden con los resultados obtenidos en este estudio, donde los extractos de *A. striata* y *F. splendens* también provocaron daños estructurales en *F. oxysporum*. Esto sugiere un mecanismo común de acción antifúngica basado en la inducción de daño celular, lo cual fortalece la evidencia sobre la eficacia de los compuestos bioactivos presentes en ambas especies evaluadas para el control de hongos fitopatógenos.

Actividad biológica in vivo de los extractos contra *Fusarium oxysporum*

Los resultados de la incidencia y severidad de la marchitez en plantas de chile inoculadas con *F. oxysporum* se presentan en el Cuadro 2. El control positivo mostró una incidencia del 100 % y la mayor severidad (2.78). En contraste, las plantas tratadas con el extracto de *A. striata* presentaron una incidencia del

Table 2. Incidence and severity of serrano pepper plants inoculated with *Fusarium oxysporum* and treated with extracts of *Agave striata* and *Fouquieria splendens*.

Cuadro 2. Incidencia y severidad de plantas de chile serrano inoculadas con *Fusarium oxysporum* y tratadas con extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens*.

Treatments / Tratamientos	Severity / Severidad	Incidence / Incidencia
	Scale / Escala	Infected plants (%) / Plantas enfermas (%)
Positive control / Control positivo	2.78 ± 0.39 a	100 a
Negative control / Control negativo	0.00 ± 0.00 c	0 b
<i>Agave striata</i> extract / Extracto de <i>Agave striata</i>	0.77 ± 0.24 b	33.33 ab
<i>Fouquieria splendens</i> extract / Extracto de <i>Fouquieria splendens</i>	0.00 ± 0.00 c	0 b

Mean ± standard deviation. Values followed by the same letter in each column are not significantly different (Tukey, $p > 0.05$).

Media ± desviación estándar. Valores seguidos de letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $p > 0.05$).

Regarding the morphometric parameters (Table 3), the *F. splendens* extract induced the highest relative chlorophyll index in the foliage (40.27 ± 0.9 SPAD units), followed by the negative control (38.47 ± 1.21 SPAD units), with no significant differences ($p > 0.05$). Additionally, the foliage of plants treated with *F. splendens* had a fresh weight of 4.38 ± 0.23 g and a dry weight of 1.26 ± 0.06 g, placing them in an intermediate range compared to both controls. Meanwhile, *A. striata* showed values for most parameters, with a stem length of 28.50 ± 3.56 cm and a foliage fresh weight of 3.46 ± 0.87 g.

Regarding fruit production (Table 4), the negative control had the best results, with an average of 2.33 ± 0.13 fruits per plant, a total weight of 6.70 ± 2.05 g and a size of 5.83 ± 0.57 cm. These values were statistically similar to those obtained with the *F. splendens* treatment, which produced an average of 1.33 ± 0.58 fruits per plant, weighing 5.23 ± 1.41 g, with a length of 4.78 ± 1.58 cm. In contrast, *A. striata* and the positive control did not produce fruit, suggesting a possible phytotoxic effect of the extract on fruiting. Although there are no previous reports of negative effects of plant extracts on the reproductive phase of chili, it has been documented that certain secondary metabolites can affect seed germination and seedling growth (Céspedes et al., 2006), which could potentially extend to later phenological stages.

Several studies have demonstrated the effectiveness of plant extracts in controlling *F. oxysporum* under greenhouse conditions. Bowers and Locke (2000) reported reductions of up to 99.9 % in pathogen populations and achieved 80 to 100 % healthy plants under greenhouse conditions by applying 10 % extracts of pepper/mustard, cassia, and clove. Similarly, Tucuch-Pérez et al. (2021) evaluated plant extracts of *A. lechuguilla* ($250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) and *L. graveolens* ($125 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) for the control of *F. oxysporum* in tomato and observed reductions in disease incidence and severity, in addition

33 % y severidad de 0.77, mientras que las tratadas con *F. splendens* y el control negativo no mostraron síntomas de enfermedad, sin diferencias estadísticas entre ambos tratamientos.

En cuanto a los parámetros morfométricos (Cuadro 3), el extracto de *F. splendens* indujo el mayor índice relativo de clorofila en el follaje (40.27 ± 0.9 unidades SPAD), seguido del control negativo (38.47 ± 1.21 unidades SPAD), sin diferencias significativas ($p > 0.05$). Asimismo, el follaje de las plantas tratadas con *F. splendens* presentó un peso fresco de 4.38 ± 0.23 g y un peso seco de 1.26 ± 0.06 g, ubicándose en un rango medio con respecto a ambos controles. Por su parte, *A. striata* mostró valores similares en la mayoría de los parámetros, con una longitud de tallo de 28.50 ± 3.56 cm y peso fresco de follaje de 3.46 ± 0.87 g.

Respecto a la producción de frutos (Cuadro 4), el control negativo presentó los mejores resultados, con un promedio de 2.33 ± 0.13 frutos por planta, peso total de 6.70 ± 2.05 g y tamaño de 5.83 ± 0.57 cm. Estos valores fueron estadísticamente similares a los obtenidos con el tratamiento de *F. splendens*, el cual produjo en promedio 1.33 ± 0.58 frutos con un peso de 5.23 ± 1.41 g y longitud de 4.78 ± 1.58 cm. En contraste, *A. striata* y el control positivo no produjeron frutos, lo que sugiere un posible efecto fitotóxico del extracto sobre la fructificación. Aunque no existen reportes previos sobre efectos negativos de extractos vegetales en la fase reproductiva del chile, se ha documentado que ciertos metabolitos secundarios pueden afectar la germinación y el crecimiento de plántulas (Céspedes et al., 2006), lo cual se podría extenderse a etapas fenológicas posteriores.

Diversos estudios han demostrado la efectividad de extractos vegetales en el control de *F. oxysporum* bajo condiciones de invernadero. Bowers y Locke (2000) reportaron reducciones de hasta 99.9 % en la población del patógeno y obtuvieron entre 80 y 100 % de plantas

Table 3. Morphometric parameters of serrano pepper plants inoculated with *Fusarium oxysporum* and treated with *Agave striata* and *Fouquieria splendens* under greenhouse conditions.

Cuadro 3. Parámetros morfométricos en plantas de chile serrano inoculadas con *Fusarium oxysporum* y tratadas con extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* bajo condiciones de invernadero.

Treatments/ Tratamientos	ST (cm)/ LT (cm)	RL (cm)/ LR (cm)	SD (mm)/ DT (mm)	FFW (g)/ PFF (g)	DFW (g)/ PSF (g)	FRW (g)/ PFR (g)	DRW (g)/ PSR (g)	C (índice SPAD)/ C (índice SPAD)
Positive control/ Control positivo	17.07 ± 1.12 b	17.12 ± 2.3 c	3.17 ± 0.28 b	1.59 ± 0.21 c	0.36 ± 0.05 e	0.59 ± 0.09 f	0.17 ± 0.03 e	29.23 ± 2.01 c
Negative control/ Control negativo	32.67 ± 2.12 a	33.93 ± 2.8 a	4.75 ± 0.32 a	5.22 ± 0.48 a	1.91 ± 0.17 a	4.98 ± 0.52 a	0.87 ± 0.07 a	38.47 ± 3.20 ab
<i>Agave striata</i> extract/ Extracto de <i>Agave striata</i>	28.50 ± 2.45 a	23.80 ± 2.1 b	3.84 ± 0.3 ab	3.46 ± 0.37 b	0.75 ± 0.09 b	1.64 ± 0.21 e	0.44 ± 0.06 cd	37.50 ± 2.85 ab
<i>Fouquieria splendens</i> extract/ Extracto de <i>Fouquieria splendens</i>	30.80 ± 2.76 a	27.17 ± 2.6 b	4.49 ± 0.34 a	4.38 ± 0.4 ab	1.26 ± 0.13 b	3.54 ± 0.33 b	0.64 ± 0.05 b	40.27 ± 3.10 a

SL: stem length; RL: root length; SD: stem diameter; FFW: fresh foliage weight; DFW: dry foliage weight; FRW: fresh root weight; DRW: dry root weight; C: leaf chlorophyll content. Mean ± standard deviation. Values followed by the same letter in each column are not significantly different (Tukey, $p > 0.05$).
LT: longitud de tallo; LR: longitud de raíz; DT: diámetro de tallo; PFF: peso fresco del follaje; PSF: peso seco del follaje; PFR: peso fresco del sistema radicular; PSR: peso seco del sistema radicular; C: clorofila en follaje. Media ± desviación estándar. Valores seguidos de letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $p > 0.05$).

Table 4. Fruit parameters of serrano pepper plants inoculated with *Fusarium oxysporum* and treated with *Agave striata* and *Fouquieria splendens* under greenhouse conditions.

Cuadro 4. Parámetros de frutos en plantas de chile serrano inoculadas con *Fusarium oxysporum* y tratadas con extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* bajo condiciones de invernadero.

Treatments/ Tratamientos	Number of fruits/ Número de frutos	Fruit weight (g)/ Peso de frutos (g)	Fruit size (cm)/ Tamaño de frutos (cm)
Positive control/ Control positivo	0.00 ± 0.0 b	0.00 ± 0.0 b	0.00 ± 0.0 b
Negative control/ Control negativo	2.33 ± 0.58 a	6.70 ± 0.73 a	5.83 ± 0.54 a
<i>Agave striata</i> extract/ Extracto de <i>Agave striata</i>	0.00 ± 0.0 b	0.00 ± 0.0 b	0.00 ± 0.0 b
<i>Fouquieria splendens</i> extract/ Extracto de <i>Fouquieria splendens</i>	1.33 ± 0.47 ab	5.23 ± 0.66 a	4.78 ± 0.49 ab

Mean ± standard deviation. Values followed by the same letter in each column are not significantly different (Tukey, $p > 0.05$).
Media ± desviación estándar. Valores seguidos de letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $p > 0.05$).

to promoting the morphometric development of the plants. These findings are consistent with those of the present study, where the *F. splendens* extract showed antifungal efficacy and positive effect on plant growth.

Conclusions

The extracts of *A. striata* and *F. splendens* showed high antifungal effectiveness against *F. oxysporum* under *in vitro* conditions, supporting the proposed hypothesis regarding their efficacy. Microscopic analysis revealed that both extracts induce cytoplasmic vacuolization and structural disorganization in the pathogen’s mycelium and conidia. Under greenhouse conditions, the *F. splendens* extract provided complete protection, maintaining 100 % of the serrano pepper plants

sanas bajo condiciones de invernadero al aplicar extractos de pimienta/mostaza, casia y clavo al 10 %. De igual manera, Tucuch-Pérez et al. (2021) evaluaron extractos vegetales de *A. lechuguilla* (250 mg·L⁻¹) y *L. graveolens* (125 mg·L⁻¹) para el control de *F. oxysporum* en tomate y observaron reducciones en la incidencia y severidad de la enfermedad, además de favorecer el desarrollo morfométrico de las plantas. Estos hallazgos coinciden con los del presente estudio, donde el extracto de *F. splendens* presentó eficacia antifúngica y efectos positivos en el desarrollo de las plantas.

Conclusiones

Los extractos de *A. striata* y *F. splendens* mostraron una alta efectividad antifúngica contra *F. oxysporum*

symptom-free, while *A. striata* significantly decreased disease severity. Morphometric parameters indicated greater plant development in those treated with *F. splendens*. However, a decline in fruit production was observed in plants treated with *A. striata*, suggesting a possible phytotoxic effect. Therefore, further analysis is needed to assess its safety and determine optimal dosages that would allow sustainable application for the management of *F. oxysporum* in serrano pepper.

End of English version

References / Referencias

- Ahmad, N., Abbas, A., Shamsullah, S., Jabran, M., & Ali, M. A. (2023). *Fusarium* wilt disease of chili: pathogen, its mechanism of infection, eradication, and impacts. *Phytopathogenom Disease Control*, 2(2), 95-110. <https://doi.org/10.22194/Pdc/2.1024>
- Almazán-Morales, A., Moreno-Godínez, M. E., Hernández-Castro, E., Vázquez-Villamar, M., Mora-Aguilera, J. A., Cabrera-Huerta, E., & Álvarez-Fitz, P. (2022). Phytochemical profile and *in vitro* activity of *Agave angustifolia* and *A. cupreata* extracts against phytopathogenic fungi. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 40(2), 169-187. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2202-6>
- Bowers, J. H., & Locke, J. C. (2000). Effect of botanical extracts on the population density of *Fusarium oxysporum* in soil and control of *Fusarium* wilt in the greenhouse. *Plant Disease*, 84(3), 300-305. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.3.300>
- Céspedes, C. L., Marín, J. C., Domínguez, M., Ávila, J. G., & Serrato, B. (2006). Plant growth inhibitory activities by secondary metabolites isolated from Latin American flora. *Advances in Phytomedicine*, 2, 373-410. [https://doi.org/10.1016/S1572-557X\(05\)02021-0](https://doi.org/10.1016/S1572-557X(05)02021-0)
- Ghimire, B. K., Seo, J. W., Kim, S. H., Ghimire, B., Lee, J. G., Yu, C. Y., & Chung, I. M. (2021). Influence of harvest time on phenolic and mineral profiles and their association with antioxidant and cytotoxic effects of *Atractylodes japonica* Koidz. *Agronomy*, 11(7), 1327. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071327>
- Hong-Sheng, W., Xiao-Dong, Z., Xue, S., Ya-Dong, L., Ming-Yan, W., Xiao-Xia, S., Da-Lu, G., Wei-Zhong, W., & Chuan-Wan, W. (2014). *In vitro* responses of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* to phenolic acids in decaying watermelon tissues. *Phytochemistry Letters*, 8, 171-178. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2013.08.013>
- Huang, X., Duan, N., Xu, H., Xie, T. N., Xue, Y. R., & Liu, C. H. (2018). CTAB-PEG DNA extraction from fungi with high contents of polysaccharides. *Molecular Biology*, 52(4), 621-628. <https://doi.org/10.1134/S0026893318040088>
- Hussain, S., Aslam, M. N., Mehmood, B., Zafat, L., Shafiqe, S., Qureshi, F. F., Khan, Y. S., Ayub, M., & Mushtaq, S. (2023). Antimycotic properties of potentials botanical crude extracts and bio-control agent against *Fusarium* wilt of chili caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 2(3), 213-221. <https://doi.org/10.55627/agrivet.002.03.0368>
- Jasso-de Rodríguez, D., Hernández-Castillo, F. D., Angulo-Sánchez, J. L., Rodríguez-García, R., Villarreal-Quintanilla, J. A., & Lira-

en condiciones *in vitro*, lo cual confirma la hipótesis planteada sobre su eficacia. El análisis microscópico reveló que ambos extractos inducen vacuolización citoplasmática y desorganización estructural en el micelio y los conidios del patógeno. En condiciones de invernadero, el extracto de *F. splendens* proporcionó una protección completa, al mantener el 100 % de las plantas de chile serrano libres de síntomas, mientras que *A. striata* redujo significativamente la severidad de la enfermedad. Los parámetros morfométricos evidenciaron un mayor desarrollo vegetal en las plantas tratadas con *F. splendens*. No obstante, se observó una disminución en la cantidad de frutos en las plantas tratadas con *A. striata*, lo que sugiere un posible efecto fitotóxico. Por ello, es necesario profundizar en la evaluación de su seguridad y en la determinación de dosis óptimas que permitan su aplicación sostenible en el manejo de *F. oxysporum* en chile serrano.

Fin de la versión en español

- Saldivar, R. H. (2007). Antifungal activity *in vitro* of *Flourensia* spp. extracts on *Alternaria* sp., *Rhizoctonia solani*, and *Fusarium oxysporum*. *Industrial Crops and Products*, 25(2), 111-116. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.08.007>
- Jasso-de Rodríguez, D., Trejo-González, F. A., Rodríguez-García, R., Díaz-Jiménez, M. L. V., Sáenz-Galindo, A., Hernández-Castillo, F. D., Villarreal-Quintanilla, J. A., & Peña-Ramos, F. M. (2015). Antifungal activity *in vitro* of *Rhus muelleri* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Industrial Crops and Products*, 75, 150-158. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.048>
- Khalil, A. M., Saleh, A. M., Abo El-Souad, S. M., & Mohamed, M. S. (2023). Plants from a semi-arid environment as a source of phytochemicals against *Fusarium* crown and foot rot in zucchini. *AMB Express*, 13(6), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s13568-023-01515-0>
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing. https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=Yu3cBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR3&ots=3M261GRIXv&sig=rV5rJNPkokevdsGguqqXmP0USYU&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Lira-Saldivar, R. H., Hernández-Suárez, M., & Hernández-Castillo, F. D. (2006). Activity of *Larrea tridentata* (DC) Coville L. extracts and chitosan against fungi that affect horticultural crops. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 12(2), 211-216. <https://www.redalyc.org/pdf/609/60912212.pdf>
- Mohamed, M. S., Saleh, A. M., Abdel-Farid, I. B., & El-Naggar, S. A. (2017). Growth, hydrolases and ultrastructure of *Fusarium oxysporum* as affected by phenolic rich extracts from several xerophytic plants. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 141, 57-64. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.11.007>
- Moreno-Limón, S., González-Solís, L. N., Salcedo-Martínez, S. M., Cárdenas-Ávila, M. L., & 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. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682011000200012
- Peñuelas-Rubio, O., Arellano-Gil, M., Verdugo-Fuentes, A. A., Chaparro-Encinas, L. A., Hernández-Rodríguez, S. E., Martínez-Carrillo, J. L., & Vargas-Arispuro, I. D. C. (2017). *Larrea tridentata* extracts as an ecological strategy against *Fusarium oxysporum* *radicis-lycopersici* in tomato plants under greenhouse conditions. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(3), 360-376. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1703-3>
- Ramírez-Méndez, J. E., Hernández-Castillo, F. D., Gallegos-Morales, G., Jasso-Cantú, D., Arredondo-Valdés, R., & Tucuch-Pérez, M. A. (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>
- Rodríguez-Guadarrama, A. H., Guevara-González, R. G., de Jesús, R. G. S., & Feregrino-Pérez, A. A. (2018). Antifungal activity of Mexican endemic plants on agricultural phytopathogens: a review. *XIV International Engineering Congress (CONIIN)*, 1-11. <https://doi.org/10.1109/CONIIN.2018.8489793>
- Ruiz-Bustos, E., Velazquez, C., Garibay-Escobar, A., García, Z., Plascencia-Jatomea, M., Cortez-Rocha, M. O., Hernández-Martínez, J., & Robles-Zepeda, R. E. (2009). Antibacterial and antifungal activities of some Mexican medicinal plants. *Journal of Medicinal Food*, 12(6), 1398-1402. <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0205>
- SAS Institute (2000). *SAS/STAT® version 9.0 user's guide* [software]. SAS Institute Inc.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2024). *Cierre de la producción agrícola*. SIAP. https://nube.agricultura.gob.mx/cierre_agricola/
- Shaheen, N., Khan, U. M., Azhar, M. T., Tan, D. K., Atif, R. M., Israr, M., Yang, S. H., Gyuhwa, C. & Rana, I. A. (2021). Genetics and genomics of *Fusarium* wilt of chilies: A review. *Agronomy*, 11(11), 2162. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112162>
- Silva, A. R., Kettner, M. G., Lima, M. L., Oliveira, L. G., Araujo, E. R., & Costa, A. F. (2022). Controle alternativo de *Fusarium oxysporum* com a utilização de extratos vegetais. *Pesquisa Agropecuária Pernambucana*, 27(1), 1-6. <https://doi.org/10.12661/pap.2021.007>
- Silva-Lima, L. K., de Jesús, O. N., Soares, T. L., Santos-de Oliveira, S. A., Haddad, F., & Girardi, E. A. (2019). Water deficit increases the susceptibility of yellow passion fruit seedlings to *Fusarium* wilt in controlled conditions. *Scientia Horticulturae*, 243, 609-621. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.09.017>
- Tucuch-Pérez, M. A., Arredondo-Valdés, R. & Hernández-Castillo, F. D. (2020). Antifungal activity of phytochemical compounds of extracts from Mexican semi-desert plants against *Fusarium oxysporum* from tomato by microdilution in plate method. *Nova Scientia*, 12(25), 1-19. <https://doi.org/10.21640/ns.v12i25.2345>
- Tucuch-Pérez, M. A., Bojórquez-Vega, J. J., Arredondo-Valdés, R., Hernández-Castillo, F. D., & Anguiano-Cabello, J. C. (2021). Actividad biológica de extractos vegetales del semidesierto mexicano para manejo de *Fusarium oxysporum* de tomate. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 8(2), e2745. <https://doi.org/10.19136/era.a8n2.2745>
- Velarde-Félix, S., Garzón-Tiznado, J. A., Hernández-Verdugo, S., López-Orona, C. A., & Retes-Manjarrez, J. E. (2018). Aparición de *Fusarium oxysporum* causante de marchitez en pimiento en México. *Revista Canadiense de Patología Vegetal*, 40(2), 238-247. <https://doi.org/10.1080/07060661.2017.1420693>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. In: M. A. Innis, D. H. Gelfand, J.J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (pp. 315-322). Academic Press Inc. <https://books.google.es/books?id=Z5jwZ2rbVe8C&pg=PA315>
- Zheng, Z., Liu, H., Shi, Y., Liu, Z., Teng, H., Deng, S., Wei, L., Wang, Y., & Zhang, F. (2022). Comparative transcriptome analysis reveals the resistance regulation mechanism and fungicidal activity of the fungicide phenamacril in *Fusarium oxysporum*. *Scientific Reports*, 12(1), 11081. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15188-5>