

## Accepted Manuscript / Manuscrito Aceptado

Title Paper/Título del artículo:

### **Actividad antifúngica y efecto en la germinación del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* en semillas hortícolas**

### **Antifungal activity and germination effects of *Eucalyptus globulus* essential oil on horticultural seeds**

Authors/Autores: López-López, C. A., Castillo-Ortega, L.S., López-López, E.

ID: e2005

DOI: <https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2005>

Received/Fecha de recepción: June 23<sup>th</sup> 2025

Accepted /Fecha de aceptación: April 18<sup>th</sup> 2026

Available online/Fecha de publicación: April 30<sup>th</sup> 2026

Please cite this article as/Como citar este artículo: López-López, C. A., Castillo-Ortega, L.S., López-López, E. (2026). Antifungal activity and germination effects of *Eucalyptus globulus* essential oil on horticultural seeds. *Revista Bio Ciencias*, 13, e2005. <https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2005>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Este archivo PDF es un manuscrito no editado que ha sido aceptado para publicación. Esto es parte de un servicio de Revista Bio Ciencias para proveer a los autores de una versión rápida del manuscrito. Sin embargo, el manuscrito ingresará a proceso de edición y corrección de estilo antes de publicar la versión final. Por favor note que la versión actual puede contener errores de forma.

## Actividad antifúngica y efecto en la germinación del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* en semillas hortícolas

### Antifungal activity and germination effects of *Eucalyptus globulus* essential oil on horticultural seeds

#### Bioestimulación de eucalipto/*Eucalyptus* biostimulation

López-López, C. A.<sup>1</sup> , Castillo-Ortega, L.S.<sup>2</sup> , López-López, E.<sup>3\*</sup> 

<sup>1</sup>Adscripción: Universidad de Guanajuato Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra, Programa de Ingeniería en Biotecnología, Av. Mutualismo Esq. Prol. Río Lerma S/N, C.P. 38060, Celaya, Guanajuato, México.

<sup>2</sup>Adscripción: Centro Nacional de Referencia de Inocuidad y Bioseguridad Agroalimentaria (CNRIBA), Km. 37.5 carretera México-Pachuca, C.P. 55740, Tecámac, Edo. de México, México.

<sup>3</sup>Adscripción: Universidad Tecnológica de Mineral de la Reforma, Camino Providencia – La Calera 1000, Ex Hacienda Chavarría, C.P. 42186, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México.

**\*Corresponding Author:**

[Edgar López-López](mailto:e_lopez_87@hotmail.com), Universidad Tecnológica de Mineral de la Reforma, Camino Providencia – La Calera 1000, Ex Hacienda Chavarría, C.P. 42186, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México  
Teléfono: (771) 302 8740. E-mail: [e\\_lopez\\_87@hotmail.com](mailto:e_lopez_87@hotmail.com)

#### RESUMEN

Se evaluó el efecto del aceite esencial de eucalipto en la germinación de semillas hortícolas y su actividad antifúngica contra fitopatógenos de importancia agrícola. Se aplicaron concentraciones de 1.0 %, 2.5 %, 5.0 % y 10.0 % de aceite esencial, utilizando como controles agua destilada estéril y un bioestimulante comercial. Las concentraciones moderadas promovieron la germinación y el vigor de plántulas en especies seleccionadas, mientras que dosis elevadas mostraron efectos fitotóxicos. En la evaluación antifúngica, se observó una inhibición significativa del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum* y *Botrytis cinerea*, con una reducción dependiente de la concentración utilizada. El análisis estadístico confirmó diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0.05$ ), evidenciando el potencial del aceite esencial como bioestimulante y agente antifúngico. Los resultados sugieren que su aplicación podría integrarse en estrategias agroecológicas para el manejo de enfermedades en cultivos hortícolas, contribuyendo a la reducción del uso de agroquímicos sintéticos y fomentando una producción agrícola más sostenible.

#### PALABRAS CLAVE:

Bioestimulante, fitotoxicidad, fitopatógenos, germinación.

## ABSTRACT

The effect of eucalyptus essential oil on the germination of horticultural seeds and its antifungal activity against agriculturally important phytopathogens was evaluated. Essential oil concentrations of 1.0 %, 2.5 %, 5.0 %, and 10.0 % were applied, using sterile distilled water and a commercial biostimulant as controls. Moderate concentrations promoted seed germination and seedling vigor in selected species, whereas higher doses exhibited phytotoxic effects. In the antifungal evaluation, a significant inhibition of mycelial growth was observed in *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, and *Botrytis cinerea*, with a concentration-dependent reduction. Statistical analysis confirmed significant differences among treatments ( $p \leq 0.05$ ), demonstrating the potential of essential oil as a biostimulant and antifungal agent. These findings suggest that its application could be integrated into agroecological strategies for managing diseases in horticultural crops, contributing to reduced synthetic agrochemical use and promoting more sustainable agricultural production.

## KEY WORDS

Biostimulant, phytotoxicity, phytopathogens, germination.

## Introducción

La resistencia de los fitopatógenos a los fungicidas sintéticos, la degradación del suelo por el uso intensivo de agroquímicos y las restricciones regulatorias sobre productos fitosanitarios convencionales son en la actualidad, desafíos importantes a los que se enfrenta la producción agrícola (Yin *et al.*, 2023). Estos factores han impulsado la búsqueda de alternativas sostenibles para la protección de cultivos y la promoción del crecimiento vegetal. En este contexto, los bioestimulantes de origen natural pueden mejorar la germinación de semillas, favorecer el desarrollo radicular y fortalecer la resistencia de las plantas contra el estrés abiótico y biótico (Cardarelli *et al.*, 2022). Dentro de este enfoque, los aceites esenciales emergen como compuestos con propiedades bioactivas con potencial para ser empleados en estrategias agroecológicas. Además de su efecto antimicrobiano, presentan potencial para estimular la germinación y el vigor inicial de las plántulas (De Souza Alves *et al.*, 2023).

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos volátiles extraídos de plantas, ampliamente utilizados por su actividad antimicrobiana, insecticida, antioxidante y bioestimulante (Tagnaout *et al.*, 2023), su aplicación en la agricultura ha sido explorada en los últimos años como una alternativa para reducir la dependencia de agroquímicos convencionales, debido a su menor impacto ambiental y biodegradabilidad (Catani *et al.*, 2022). En particular, los aceites esenciales influyen positivamente en la germinación y el crecimiento inicial de cultivos hortícolas, dependiendo de su concentración y composición química (Mirmostafae *et al.*, 2020). Sin embargo, estos efectos varían entre especies vegetales y condiciones de aplicación, lo que justifica la necesidad de investigaciones específicas para determinar su eficacia en diferentes contextos agrícolas (Ben Rabeh *et al.*, 2025).

Dentro de las especies con alto potencial para la obtención de aceites esenciales, se encuentra el eucalipto (*Eucalyptus globulus*), un árbol que ha sido estudiado por su rápido crecimiento, adaptación a diversas condiciones climáticas y elevada producción de metabolitos secundarios con actividad biológica (Gullón *et al.*, 2020). Su aceite esencial contiene una alta concentración de monoterpenos, siendo el 1,8-cineol (eucaliptol) el compuesto mayoritario, el cual ha demostrado propiedades antimicrobianas, antifúngicas y bioestimulantes (Le *et al.*, 2025). Estas características han generado interés en su aplicación como una alternativa natural para el manejo integrado de cultivos, especialmente en la promoción del crecimiento vegetal y la reducción de enfermedades fúngicas en semillas y plántulas (Amri *et al.*, 2023). Estudios previos han evaluado la actividad del aceite esencial de *E. globulus* en el control de fitopatógenos y su efecto sobre la germinación de semillas. Autores como Lanza Peralta *et al.* (2021) demostraron que concentraciones del 50 % de este aceite, se inhiben significativamente el crecimiento de *Fusarium* spp. Por otro lado, Al-Qaralusi & Al-Mizraqchi (2023) observaron que extractos etanólicos de eucalipto presentaron una eficacia comparable a la de antifúngicos comerciales en la inhibición de *Candida albicans*, sugiriendo su potencial uso contra infecciones fúngicas. Aunado a lo anterior, Ben Rabeh *et al.* (2025) indicaron que ciertos compuestos presentes en el aceite esencial de eucalipto pueden tener un efecto estimulante en la germinación de semillas hortícolas, dependiendo de la especie y la concentración utilizada.

Dado el creciente interés en alternativas ecológicas para la producción agrícola, en el presente estudio, se evaluó el efecto del aceite esencial de *E. globulus* en la germinación de semillas hortícolas y su actividad antifúngica sobre patógenos de importancia agrícola. Se analizaron diferentes concentraciones del aceite para determinar su influencia en la tasa de germinación, el desarrollo radicular y la inhibición del crecimiento micelial de hongos fitopatógenos, con la finalidad de generar conocimiento que pueda contribuir a la implementación de estrategias agroecológicas en la producción de hortalizas.

## Material y Métodos

### Material vegetal

El material vegetal utilizado en este estudio consistió en hojas de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), recolectadas en mayo de 2024 en la región de Mineral de la Reforma, Hidalgo. Se seleccionaron hojas sanas y se sometieron a un proceso de limpieza para eliminar posibles impurezas antes de la extracción. Las semillas hortícolas empleadas fueron pimiento (*Capsicum annuum*), tomate (*Solanum lycopersicum*), calabacita (*Cucurbita pepo*), lechuga (*Lactuca sativa*) y cebolla (*Allium cepa*) proporcionadas por productores locales de la zona de la Barranca de Metztitlán, en el estado de Hidalgo, México, ubicada en las coordenadas aproximadas 20.5961° N, 98.8168° W, a una elevación de 1,300 msnm.

## Preparación y pretratamiento de las semillas

Las semillas fueron sometidas a un proceso de desinfección para asegurar condiciones óptimas de germinación y reducir el riesgo de contaminación. Para la desinfección, se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio al 1.0 % durante 5 min, seguidas de un enjuague con agua destilada estéril para eliminar cualquier residuo del desinfectante. Posteriormente, se sumergieron en etanol al 70 % durante 1 min y fueron enjuagadas nuevamente con agua destilada estéril. Las semillas se secaron a temperatura ambiente en condiciones de esterilidad. Después del proceso de desinfección, las semillas fueron prehidratadas mediante una inmersión en agua destilada estéril durante 2 h para estimular la germinación inicial y asegurar que todas las semillas comenzaran en condiciones de humedad similares. Como control, se incluyó un grupo testigo de semillas que solo recibió enjuague con agua destilada estéril, sin tratamiento con hipoclorito, etanol o prehidratación.

## Obtención de aceite esencial

Para la extracción de aceite esencial de eucalipto (EEO), se emplearon 1000 g de hojas frescas, siguiendo el método de destilación por arrastre de vapor utilizando un aparato tipo Clevenger y según el procesamiento descrito por Carezzano *et al.* (2017). Las hojas fueron sometidas a destilación durante un período de 3 h, manteniendo una temperatura constante adecuada para asegurar la extracción completa de los compuestos volátiles presentes y realizando cuatro repeticiones del procedimiento. El EEO obtenido fue almacenado en frascos de vidrio ámbar a 4 °C para evitar su degradación. El rendimiento del EEO se calculó con respecto a la proporción entre la masa de aceite obtenida y la masa de material vegetal procesado, expresado en mililitros de EEO por kilogramo de material seco.

## Determinación de la composición de los aceites esenciales

La caracterización de los compuestos presentes en los aceites esenciales de eucalipto se llevó a cabo mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) (Hazzit *et al.*, 2009; Burt, 2004). El análisis se realizó en un cromatógrafo de gases Agilent 7890A, equipado con una columna capilar HP-5MS (30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m). Las condiciones incluyeron una temperatura inicial del horno de 60 °C, con un incremento de 3 °C por minuto hasta alcanzar los 240 °C; se utilizó helio como gas portador a un flujo constante de 1 mL min<sup>-1</sup>. El volumen de inyección fue de 1  $\mu$ L en modo splitless. La espectrometría de masas se llevó a cabo en un espectrómetro Agilent 5975C, operando en modo de ionización por impacto electrónico a 70 eV y con un rango de escaneo de 40 a 400 m/z. Los compuestos se identificaron comparando sus espectros de masas con las bases de datos NIST y Wiley, y se verificaron mediante el cálculo de índices de retención de Kovats (Adams, 2007).

## Evaluación del potencial de estimulación de germinación de las semillas

Se prepararon diluciones del EEO en concentraciones 1.0 %, 2.5 %, 5.0 %, y 10.0 %, utilizando Tween 20 como agente dispersante para asegurar la homogeneidad de cada mezcla. Cada tratamiento consistió en aplicar una cantidad específica de la solución sobre el papel de filtro (espesor 50 g m<sup>-2</sup>) en placas de Petri de 9 cm de diámetro, previamente esterilizadas. Como control positivo se utilizó Gibberelina A3 (GA<sub>3</sub>; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA); como control negativo se empleó agua destilada estéril, con el objetivo de descartar cualquier efecto atribuido exclusivamente a la humedad del sustrato y establecer una base de comparación frente a los tratamientos con aceite esencial, siendo este tipo de control es ampliamente utilizado en bioensayos de germinación (Sahal *et al.*, 2020). Se colocaron entre 10 y 25 semillas por caja Petri, dependiendo del tamaño de la especie, asegurando una separación de 2 cm entre cada semilla para garantizar una exposición homogénea al tratamiento. Cada concentración y los testigos fueron replicados en cuatro repeticiones, asegurando que cada repetición contenía un número específico de semillas (Tabla 1). La evaluación del potencial de estimulación en la germinación de las semillas se realizó en cámaras de germinación con temperatura constante de 25 °C, con ciclo de luz de 12 h.

**Tabla 1. Tratamientos y controles empleados en la evaluación del potencial de estimulación de la germinación de semillas hortícolas.**

Tratamiento	Control/ Concentración	Número de réplicas	Semillas por réplica	Condiciones
Control (-)	Agua destilada estéril	4	10–25	25 °C, 12 h luz
Control (+)	GA <sub>3</sub> (Sigma-Aldrich)	4	10–25	25 °C, 12 h luz
T1	EEO 1.0%	4	10–25	25 °C, 12 h luz
T2	EEO 2.5%	4	10–25	25 °C, 12 h luz
T3	EEO 5.0%	4	10–25	25 °C, 12 h luz
T4	EEO 10.0%	4	10–25	25 °C, 12 h luz

Fuente: Elaboración propia.

Se evaluaron variables clave para determinar el efecto estimulador de las soluciones de EEO en la germinación y vigor de las plántulas. La tasa de germinación se calculó como el porcentaje de semillas germinadas en cada tratamiento en comparación con el total sembrado. El tiempo promedio de germinación fue registrado desde el inicio del experimento hasta la aparición de cada plántula. Además, se midió la longitud de las plántulas, especialmente el crecimiento de la radícula, como una medida del vigor inicial de cada tratamiento en comparación con los testigos. Finalmente, el índice de vigor germinativo se calculó a partir de los datos recolectados, considerando tanto el tiempo de germinación como la cantidad total de semillas germinadas.

La observación continuó hasta que el 90 % de las semillas de cada especie alcanzaran la germinación. En caso de que alguna especie no lograra este porcentaje, se fijó un límite de observación de 21 días, considerando los tiempos de germinación característicos de cada una.

### **Evaluación del efecto inhibitor del EEO sobre patógenos**

Se emplearon los hongos *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum* y *Botrytis cinerea*, los cuales fueron donados por el Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo. Los hongos fueron cultivados en medio de papa dextrosa agar (PDA; Difco™, BD Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA). Cada hongo se incubó a 25 °C en oscuridad continua para favorecer el crecimiento micelial. Las placas fueron selladas para mantener la humedad interna y evitar desecación. La incubación de *F. oxysporum*, *R. solani* y *B. cinerea* se extendió durante siete días, mientras que *P. ultimum*, fue incubado durante cinco días.

La concentración inhibitoria mínima (MIC) se calculó mediante la Ecuación 1 estándar adaptada (Achimón *et al.*, 2021):

$$\% \text{ MIC} = \frac{C-T}{C} \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde C corresponde al crecimiento del control y T al crecimiento del tratamiento.

### **Análisis estadístico de los datos**

Los datos obtenidos en el experimento fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, para determinar si existían diferencias significativas entre los tratamientos con EEO y los controles. Cuando se encontraron diferencias significativas, se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey para identificar cuáles tratamientos presentaban efectos diferenciados, empleando un nivel de significancia de  $p \leq 0.05$ . El análisis estadístico se realizó utilizando un software estadístico IBM SPSS Statistics (V.25). Con el objetivo de explorar la relación conjunta entre las distintas concentraciones de EEO, los controles y las variables evaluadas, se llevó a cabo un análisis de componentes principales (PCA), mediante el programa PAST (V.4.03).

## **Resultados y Discusión**

### **Rendimiento de EEO e identificación de componentes**

El rendimiento de EEO fue del 2 % en relación al peso seco de las hojas, lo cual corresponde a 20 mL de EEO por kilogramo de hojas procesadas. Este valor es consistente con lo reportado por Adesina *et al.*, (2025), quienes reportan rendimientos

de entre 1.4 % y 2.0 % mediante destilación por arrastre de vapor. La extracción realizada con hojas recolectadas en la Barranca de Metztitlán, una región de altitud media a alta, podría haber contribuido a una mayor concentración de compuestos volátiles en el aceite, reflejando condiciones de crecimiento particulares que favorecen el rendimiento de aceite en este rango (Ben Rabeh *et al.*, 2025). Este resultado respalda la efectividad de la metodología empleada y su adecuación para obtener aceites esenciales de calidad y en cantidades óptimas para su uso en bioensayos agrícolas.

En cuanto a los componentes identificados, el análisis del EEO obtenido (Tabla 2), mostró que el 1,8-cineol (eucaliptol) fue el componente mayoritario, representando aproximadamente 65.0 % del total del aceite, lo cual coincide con lo reportado por Le *et al.*, (2025) reportando una proporción de entre el 60 y 80 % de este. Otros compuestos relevantes identificados fueron el  $\alpha$ -pineno (9.0 %), el limoneno (7.0 %) y el globulol (4.0 %), junto con otros terpenoides en menores proporciones. Estos compuestos han sido asociados en la literatura con propiedades antimicrobianas y bioestimulantes (Amri *et al.*, 2023).

**Tabla 2. Composición química del EEO obtenida por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).**

Compuesto	Porcentaje (%)
1,8-Cineol (Eucaliptol)	65.0 $\pm$ 2.5
$\alpha$ -Pineno	9.0 $\pm$ 1.2
Limoneno	7.0 $\pm$ 0.8
Globulol	4.0 $\pm$ 0.6
$\beta$ -Pineno	3.0 $\pm$ 0.5
$\alpha$ -Terpineol	2.0 $\pm$ 0.4
Terpinen-4-ol	2.0 $\pm$ 0.3
$\gamma$ -Terpineno	1.5 $\pm$ 0.2
Aromadendreno	1.0 $\pm$ 0.2
P-Cimeno	1.0 $\pm$ 0.1
Viridiflorol	0.8 $\pm$ 0.1
Spathulenol	0.7 $\pm$ 0.1
Ledol	0.6 $\pm$ 0.1

Fuente: Elaboración propia.

### Estimulación de la germinación de semillas

Los tratamientos con EEO mostraron efectos significativos en la germinación y vigor inicial de semillas evaluadas (Tabla 3). Las concentraciones de 2.5 % y 5.0 %

estimularon notablemente la germinación de pimiento, tomate y lechuga, con tasas de germinación superiores al 85 % y un aumento en el índice de vigor comparado con los controles. Las plántulas de estas especies tratadas con las concentraciones óptimas, es decir, aquellas que maximizaron la germinación y el vigor sin evidenciar fitotoxicidad frente a los controles, también exhibieron una mayor longitud de radícula y tiempos de germinación reducidos. En contraste, las concentraciones altas de 10 % redujeron la germinación y vigor en especies como calabacita y cebolla, evidenciando un efecto fitotóxico. Los controles positivos, tratados con un estimulante comercial, arrojaron resultados favorables, aunque fueron superados por las concentraciones moderadas de EEO en algunas especies.

**Tabla 3. Efecto del EEO en la germinación y vigor inicial de plántulas de diferentes especies hortícolas.**

Especie	Tratamiento	Tasa de germinación (%)	Tiempo prom. germinación (días)	Longitud de plántula (cm)	Índice de vigor germinativo
Pimiento	Control (-)	65 ± 3.8 <sup>c</sup>	8.8 ± 0.5 <sup>b</sup>	2.2 ± 0.3 <sup>b</sup>	60 ± 3.9 <sup>c</sup>
	Control (+)	83 ± 2.5 <sup>a</sup>	7.2 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.8 ± 0.3 <sup>a</sup>	78 ± 3.0 <sup>a</sup>
	1.0%	76 ± 3.4 <sup>ab</sup>	8.0 ± 0.4 <sup>ab</sup>	2.5 ± 0.4 <sup>ab</sup>	71 ± 3.6 <sup>ab</sup>
	2.5%	90 ± 2.6 <sup>a</sup>	6.9 ± 0.2 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.3 <sup>a</sup>	85 ± 2.9 <sup>a</sup>
	5.0%	89 ± 2.7 <sup>a</sup>	7.1 ± 0.4 <sup>a</sup>	3.0 ± 0.2 <sup>a</sup>	83 ± 2.8 <sup>a</sup>
	10.0%	57 ± 4.2 <sup>d</sup>	9.4 ± 0.7 <sup>c</sup>	1.9 ± 0.3 <sup>c</sup>	55 ± 4.7 <sup>d</sup>
Tomate	Control (-)	63 ± 3.6 <sup>c</sup>	8.7 ± 0.5 <sup>b</sup>	2.1 ± 0.2 <sup>c</sup>	58 ± 4.1 <sup>c</sup>
	Control (+)	82 ± 2.8 <sup>a</sup>	7.0 ± 0.4 <sup>a</sup>	2.9 ± 0.3 <sup>a</sup>	76 ± 2.9 <sup>a</sup>
	1.0%	74 ± 3.7 <sup>bc</sup>	8.3 ± 0.5 <sup>ab</sup>	2.4 ± 0.3 <sup>b</sup>	69 ± 3.8 <sup>b</sup>
	2.5%	88 ± 2.8 <sup>a</sup>	6.8 ± 0.3 <sup>a</sup>	3.2 ± 0.3 <sup>a</sup>	82 ± 2.7 <sup>a</sup>
	5.0%	86 ± 2.6 <sup>a</sup>	7.1 ± 0.5 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	80 ± 3.1 <sup>a</sup>
	10.0%	56 ± 4.5 <sup>d</sup>	9.2 ± 0.8 <sup>c</sup>	1.8 ± 0.4 <sup>d</sup>	52 ± 5.1 <sup>d</sup>
Calabacita	Control (-)	66 ± 3.9 <sup>b</sup>	8.6 ± 0.7 <sup>b</sup>	2.3 ± 0.3 <sup>b</sup>	62 ± 3.8 <sup>b</sup>
	Control (+)	85 ± 2.6 <sup>a</sup>	7.3 ± 0.5 <sup>a</sup>	2.7 ± 0.4 <sup>a</sup>	77 ± 3.2 <sup>a</sup>
	1.0%	78 ± 3.3 <sup>ab</sup>	8.1 ± 0.4 <sup>b</sup>	2.6 ± 0.3 <sup>ab</sup>	72 ± 3.7 <sup>ab</sup>
	2.5%	91 ± 2.4 <sup>a</sup>	6.7 ± 0.4 <sup>a</sup>	3.0 ± 0.2 <sup>a</sup>	84 ± 2.5 <sup>a</sup>
	5.0%	87 ± 2.7 <sup>a</sup>	7.0 ± 0.3 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.3 <sup>a</sup>	82 ± 2.9 <sup>a</sup>
	10.0%	58 ± 4.1 <sup>c</sup>	9.1 ± 0.9 <sup>c</sup>	1.9 ± 0.5 <sup>c</sup>	57 ± 4.5 <sup>c</sup>
Lechuga	Control (-)	67 ± 4.0 <sup>c</sup>	8.9 ± 0.5 <sup>c</sup>	2.2 ± 0.4 <sup>c</sup>	61 ± 4.2 <sup>c</sup>
	Control (+)	81 ± 3.0 <sup>a</sup>	7.4 ± 0.4 <sup>a</sup>	2.8 ± 0.4 <sup>b</sup>	75 ± 3.4 <sup>a</sup>
	1.0%	73 ± 3.5 <sup>b</sup>	8.2 ± 0.6 <sup>b</sup>	2.6 ± 0.3 <sup>b</sup>	68 ± 3.7 <sup>b</sup>
	2.5%	89 ± 2.5 <sup>a</sup>	6.8 ± 0.3 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.3 <sup>a</sup>	83 ± 2.6 <sup>a</sup>
	5.0%	85 ± 2.8 <sup>a</sup>	7.2 ± 0.4 <sup>a</sup>	3.0 ± 0.3 <sup>a</sup>	81 ± 2.8 <sup>a</sup>
	10.0%	60 ± 4.6 <sup>d</sup>	9.3 ± 0.7 <sup>d</sup>	1.7 ± 0.4 <sup>d</sup>	57 ± 4.9 <sup>d</sup>

Especie	Tratamiento	Tasa de germinación (%)	Tiempo prom. germinación (días)	Longitud de plántula (cm)	Índice de vigor germinativo
Cebolla	Control (-)	62 ± 4.2 <sup>c</sup>	8.8 ± 0.6 <sup>b</sup>	2.0 ± 0.4 <sup>b</sup>	59 ± 4.3 <sup>c</sup>
	Control (+)	79 ± 3.4 <sup>b</sup>	7.3 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.9 ± 0.3 <sup>a</sup>	73 ± 3.5 <sup>b</sup>
	1.0%	72 ± 3.8 <sup>bc</sup>	8.5 ± 0.5 <sup>ab</sup>	2.3 ± 0.3 <sup>bc</sup>	66 ± 3.9 <sup>bc</sup>
	2.5%	87 ± 2.7 <sup>a</sup>	6.9 ± 0.4 <sup>a</sup>	3.2 ± 0.2 <sup>a</sup>	81 ± 2.8 <sup>a</sup>
	5.0%	84 ± 3.0 <sup>a</sup>	7.1 ± 0.3 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.3 <sup>a</sup>	78 ± 3.3 <sup>a</sup>
	10.0%	55 ± 5.0 <sup>d</sup>	9.5 ± 0.8 <sup>c</sup>	1.6 ± 0.5 <sup>d</sup>	51 ± 5.3 <sup>d</sup>

Los valores con letras diferentes dentro de la misma columna y especie indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) según la prueba de Tukey. Las letras indican los grupos de medias que son significativamente diferentes entre sí. Fuente: Elaboración propia.

Estos resultados confirman que el EEO tiene efectos significativos en la germinación y vigor inicial de las semillas hortícolas evaluadas, lo cual es coherente con investigaciones previas que destacan la actividad bioestimulante del 1,8-cineol en concentraciones moderadas. Amri *et al.* (2023) observaron que el 1,8-cineol es el principal componente en varios aceites esenciales de especies de eucalipto y contribuye a sus propiedades antimicrobianas y bioestimulantes, lo cual podría explicar el aumento en la tasa de germinación y vigor registrado en especies como pimiento, tomate y lechuga en este estudio. En contraste, Goodger *et al.* (2020) reportan que los terpenoides como el  $\alpha$ -pineno y el limoneno presentes en eucalipto, pueden interactuar con procesos hormonales de las plantas, promoviendo un crecimiento inicial vigoroso en concentraciones moderadas, lo que explicaría su superioridad en comparación con estimulantes comerciales en algunas especies.

### Inhibición de patógenos fúngicos

Los resultados de la concentración inhibitoria mínima (MIC) indican que el EEO presentó una actividad antifúngica significativa (Tabla 4), especialmente en las concentraciones de 2.5 % y 5 %, mostrando los efectos inhibitorios más fuertes. *F. oxysporum* y *R. solani* fueron los patógenos más sensibles, con MIC de 2.0 % y 2.3 %, respectivamente, en la dosis de 2.5 %, mientras que *P. ultimum* y *B. cinerea* también respondieron favorablemente con MIC de 1.2 % y 1.8 % en la misma concentración. Los controles positivos, tratados con propiconazol, también mostraron inhibición, pero fueron superados en eficacia por las concentraciones de 2.5 % y 5 % del EEO.

**Tabla 4. Inhibición de patógenos fúngicos por EEO, Concentración Inhibitoria Mínima (MIC) según dosis.**

Patógeno fúngico	Control (-)	Control (+)	Concentraciones de EEO			
			1.0%	2.5%	5.0%	10.0%
<i>F. oxysporum</i>	0.0 ± 0.0 <sup>d</sup>	1.3 ± 0.3 <sup>b</sup>	1.5 ± 0.2 <sup>ab</sup>	2.0 ± 0.3 <sup>a</sup>	1.9 ± 0.3 <sup>a</sup>	1.8 ± 0.4 <sup>ab</sup>
<i>R. solani</i>	0.0 ± 0.0 <sup>d</sup>	1.4 ± 0.3 <sup>b</sup>	2.0 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.4 <sup>a</sup>	2.4 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.1 ± 0.4 <sup>ab</sup>
<i>P. ultimum</i>	0.0 ± 0.0 <sup>d</sup>	1.2 ± 0.3 <sup>b</sup>	1.5 ± 0.3 <sup>ab</sup>	1.8 ± 0.3 <sup>a</sup>	1.9 ± 0.4 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.3 <sup>ab</sup>
<i>B. cinerea</i>	0.0 ± 0.0 <sup>d</sup>	1.1 ± 0.2 <sup>b</sup>	1.0 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.2 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.3 ± 0.3 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.3 <sup>a</sup>

Los valores con letras diferentes dentro de la misma columna y especie indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) según la prueba de Tukey. Las letras indican los grupos de medias que son significativamente diferentes entre sí. Fuente: Elaboración propia.

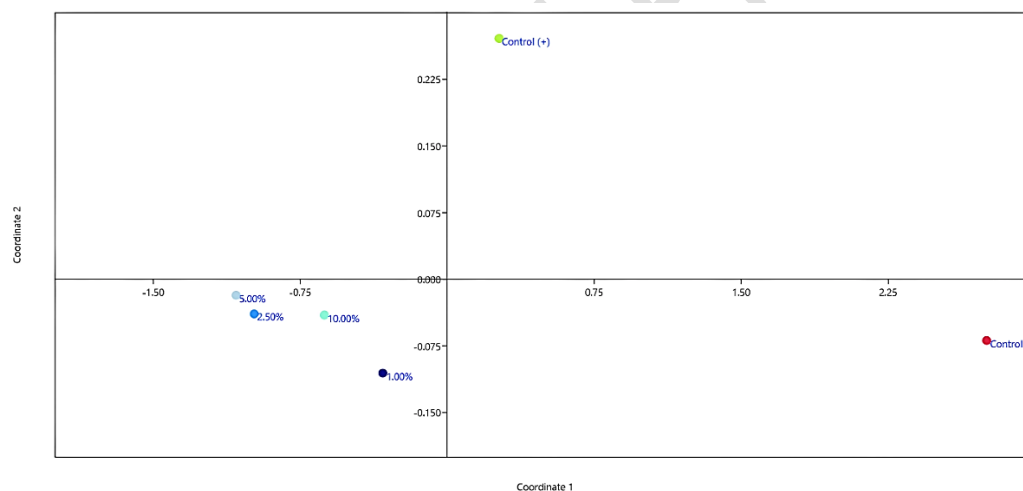
Los resultados indican que el EEO presenta una actividad inhibitoria significativa contra patógenos evaluados, especialmente en concentraciones de 2.5 % y 5 %. Esta actividad puede estar relacionada con la acción de componentes como el 1,8-cineol, el  $\alpha$ -pineno y el limoneno, pues Zeng *et al.* (2024), mencionan que este último es un monoterpeno con propiedades antimicrobianas, capaz de afectar la integridad de la membrana celular de los hongos, lo que podría explicar la inhibición observada en *F. oxysporum* y *R. solani* en este estudio. Asimismo, Bomfim de Barros *et al.* (2023) demuestran que el  $\alpha$ -pineno posee actividad antifúngica, posiblemente al interferir en el metabolismo celular de los hongos, un efecto que podría relacionarse con la inhibición observada en *B. cinerea* y *P. ultimum*. Además, Zapata *et al.* (2022) sugieren que el limoneno, en combinación con otros terpenoides, puede potenciar la eficacia antifúngica al actuar sinérgicamente con el 1,8-cineol, lo cual respalda los efectos significativos observados en este estudio en las concentraciones moderadas.

### Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales (PCA) permitió evaluar la relación entre los tratamientos con EEO y sus efectos en la germinación de semillas y la inhibición del crecimiento micelial de fitopatógenos. La Figura 1 muestra la distribución de los tratamientos y los controles en el espacio bidimensional generado por las dos primeras componentes principales, donde se observa una clara diferenciación entre los tratamientos y los controles. Los tratamientos con EEO se agrupan en el cuadrante inferior izquierdo, lo que sugiere que comparten un comportamiento similar en las variables analizadas. En particular, las concentraciones más altas (10.00 % y 5.00 %) se encuentran más próximas entre sí, seguidas por el tratamiento con 2.50 %, mientras que la concentración más baja (1.00 %) muestra una ligera separación, indicando que su efecto es menos pronunciado en comparación con las concentraciones mayores. Por otro lado, el control negativo se encuentra significativamente alejado de los tratamientos, lo que confirma que las semillas sin tratamiento presentan características distintas en cuanto a germinación y vigor inicial, posiblemente debido a la ausencia de los compuestos bioactivos del EEO. En

contraste, el control positivo se posiciona en el cuadrante superior izquierdo, lo que sugiere que su efecto también difiere del generado por el EEO, aunque sigue una tendencia diferente a la del control negativo. Esto indica que los tratamientos con EEO provocan cambios en las variables estudiadas, generando un efecto intermedio entre ambos controles.

El PCA evidencia un porcentaje considerable de la variabilidad observada en los datos. La primera componente principal (PC1) demuestra el 48.7 % de la variabilidad total, mientras que la segunda componente (PC2) el 27.5 %, acumulando en conjunto un 76.2 % de la variabilidad (Tabla 5). Este valor acumulado indica que ambas componentes capturan la mayor parte de la información contenida en las variables evaluadas. Las cargas de las variables (Tabla 6) mostraron que la PC1 estuvo asociada principalmente con la tasa de germinación, la longitud de plántula y el índice de vigor germinativo, mientras que la PC2 se relacionó con la inhibición micelial de *F. oxysporum* y *R. solani*. Esto sugiere que los tratamientos con EEO ejercieron un efecto dual, influyendo tanto en la germinación de semillas como en la inhibición de fitopatógenos.



**Figura 1. Análisis de componentes principales (PCA) de los tratamientos de EEO basados en variables de germinación e inhibición fúngica.** Fuente: Elaboración propia.

Estudios previos han demostrado que aceites esenciales pueden modular la germinación de semillas y la viabilidad de patógenos fúngicos dependiendo de su composición química y concentración (Sahal *et al.*, 2020). En el caso de *E. globulus*, su alto contenido de monoterpenos como 1,8-cineol y  $\alpha$ -pineno ha sido relacionado con actividad antifúngica y efectos alelopáticos sobre diversas especies vegetales (Toazza *et al.*, 2021). La segregación del control negativo respecto a los tratamientos sugiere que el EEO ejerce un efecto significativo en la germinación y en la inhibición de fitopatógenos, lo cual es consistente con los hallazgos de Soudani *et al.* (2022), quienes reportan que aceites esenciales ricos en compuestos volátiles pueden inhibir el desarrollo de hongos y mejorar la respuesta de plántulas en diferentes cultivos agrícolas.

**Tabla 5. Valores propios, porcentaje de varianza explicada y varianza acumulada por las primeras tres componentes principales del análisis PCA.**

Componente principal	Valor propio (Eigenvalue)	Varianza explicada (%)	Varianza acumulada (%)
PC1	3.41	48.7	48.7
PC2	1.93	27.5	76.2
PC3	0.89	12.7	88.9
PC4	0.52	7.4	96.3
PC5	0.25	3.7	100.0

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 6. Cargas de las variables evaluadas en las dos primeras componentes principales del análisis PCA.**

Variable evaluada	PC1	PC2
Tasa de germinación (%)	0.89	0.21
Tiempo promedio de germinación (d)	-0.77	0.14
Longitud de plántula (cm)	0.85	0.28
Índice de vigor germinativo	0.91	0.19
Inhibición <i>F. oxysporum</i> (%)	0.32	0.87
Inhibición <i>R. solani</i> (%)	0.28	0.82
Inhibición <i>P. ultimum</i> (%)	0.41	0.74
Inhibición <i>B. cinerea</i> (%)	0.38	0.79

Fuente: Elaboración propia.

## Conclusiones

El EEO demostró efectos duales como bioestimulante y agente antifúngico en cultivos hortícolas. Se observó que concentraciones moderadas de 2.5 % y 5.0 % promovieron la germinación y vigor de las plántulas, mientras que dosis más elevadas presentaron efectos fitotóxicos. Asimismo, su actividad antifúngica mostró una inhibición significativa del crecimiento micelial de *F. oxysporum*, *R. solani*, *P. ultimum* y *B. cinerea*, con una reducción dependiente de la concentración utilizada. El análisis de componentes principales confirmó que las concentraciones más altas del EEO se agrupan de manera diferenciada del control negativo, lo que respalda su influencia en las variables evaluadas. Estos hallazgos sugieren que el EEO podría integrarse en estrategias agroecológicas para el manejo de cultivos hortícolas, reduciendo el uso de agroquímicos sintéticos y contribuyendo a una producción agrícola más sostenible.

## Contribución de los autores

Conceptualización del trabajo (LSCO, ELL); desarrollo de la metodología (CALL, LSCO, ELL); manejo de software (CALL, LSCO, ELL); validación experimental (CALL, LSCO, ELL); análisis de resultados (CALL, LSCO, ELL); Manejo de datos, (LSCO, ELL); escritura y preparación del manuscrito (CALL, LSCO, ELL); redacción, revisión y edición (CALL, LSCO, ELL); administrador de proyectos (CALL, LSCO, ELL); adquisición de fondos (CALL, ELL). Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo.

## Agradecimientos

Proyecto apoyado por el Gobierno del Estado de Hidalgo a través del Consejo de Ciencia, Tecnología e Innovación de Hidalgo (CITNOVA).

## Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

## Referencias

- Achimón, F., Brito, V. D., Pizzolitto, R. P., Sanchez, A. R., Gómez, E. A., & Zygadlo, J. A. (2021). Chemical composition and antifungal properties of commercial essential oils against the maize phytopathogenic fungus *Fusarium verticillioides*. *Revista Argentina de Microbiología*, 53(4), 292-303. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.12.001>
- Adams, R. P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry (4th ed.). *Allured Publishing Corporation*. [https://diabloanalytical.com/ms/essential-oil-components-by-gcms/essential\\_oil\\_components\\_ebook.pdf](https://diabloanalytical.com/ms/essential-oil-components-by-gcms/essential_oil_components_ebook.pdf)
- Adesina, A. A., Dona, D. U., Wheto, B. M., & Lamina, B. R. (2025). Modelling of the Effect of Pretreatment Methods, and Time on the Yield of Eucalyptus Essential Oil Using Response Surface Methodology. *European Journal of Applied Science, Engineering and Technology*, 3(2), 287-294. <https://doi.org/10.47191/etj/v10i03.07>
- AL-Qaralusi, D. M., & Al-Mizraqchi, A. S. (2023). Investigating the impact of non-nutritive sweeteners on the antifungal potential of alcoholic and aqueous Eucalyptus extracts against salivary *candida albicans* (An *in-vitro* study). *Journal of Baghdad College of Dentistry*, 35(3), 1-9. <https://doi.org/10.26477/jbcd.v35i3.3446>
- Amri, I., Khammassi, M., Ayed, B., Khedhri, S., Mansour, M., Kochti, O., Pieracci, Y., Flamini, G., Mabrouk, Y., Gargouri, S., Hanana, M., & Hamrouni, L. (2023). Essential Oils and Biological Activities of *Eucalyptus falcata*, *E. sideroxylon* and *E. citriodora* Growing in Tunisia. *Plants*, 12(4), 816. <https://doi.org/10.3390/plants12040816>
- Ben Rabeh, S., Zouaoui, E., Chemlali, I., Yahia, K. B., Essghaier, B., Fauconnier, M. L., & Ezzedine, S. (2025). Quantitative and Qualitative Variations in Eucalyptus Essential Oils Depending on Species and the Cultivation Location. *Natural Product Communications*, 20(4), 1-17. <https://doi.org/10.1177/1934578X251338759>
- Bomfim de Barros, D., de Oliveira e Lima, L., Alves da Silva, L., Cavalcante Fonseca, M., Ferreira, R. C., Diniz Neto, H. & da Silva, M. V. (2023).  $\alpha$ -Pinene: docking study, cytotoxicity, mechanism

- of action, and anti-biofilm effect against *Candida albicans*. *Antibiotics*, 12(3), 480. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030480>
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Cardarelli, M., Woo, S. L., Roupael, Y., & Colla, G. (2022). Seed treatments with microorganisms can have a biostimulant effect by influencing germination and seedling growth of crops. *Plants*, 11(3), 259. <https://doi.org/10.3390/plants11030259>
- Carezzano, M. E., Sotelo, J. P., Primo, E., Reinoso, E. B., Paletti Rovey, M. F., Demo, M. S., & Oliva, M. D. L. M. (2017). Inhibitory effect of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* essential oils on virulence factors of phytopathogenic *Pseudomonas syringae* strains. *Plant Biology*, 19(4), 599-607. <https://doi.org/10.1111/plb.12572>
- Catani, L., Grassi, E., di Montanara, A. C., Guidi, L., Sandulli, R., Manachini, B., & Semprucci, F. (2022). Essential oils and their applications in agriculture and agricultural products: A literature analysis through VOSviewer. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 45(1), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102502>
- De Souza Alves, M., De Medeiros, E., Da Silva Barbosa Pereira, C., Moreira, Y., Da Silva Cappato, J., De Paulo Osorio, R., Riger, C., Santos, L., Mesquita, R., Pontes, E., & Souza, M. (2023). Lemongrass essential oil: Scientific bases for an agroecological approach to seed protection. *Industrial Crops and Products*, 199(1), 116760. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116760>
- Goodger, J. Q., Sargent, D., Humphries, J., & Woodrow, I. E. (2021). Monoterpene synthases responsible for the terpene profile of anther glands in *Eucalyptus polybractea* RT Baker (Myrtaceae). *Tree Physiology*, 41(5), 849-864. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpaa161>
- Gullón, P., Gullón, B., Astray, G., Munekata, P. E., Pateiro, M., & Lorenzo, J. M. (2020). Value-added compound recovery from invasive forest for biofunctional applications: Eucalyptus species as a case study. *Molecules*, 25(18), 4227. <https://doi.org/10.3390/molecules25184227>
- Hazzit, M., Baaliouamer, A., Veríssimo, A. R., Faleiro, M. L., & Miguel, M. G. (2009). Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food chemistry*, 116(3), 714-721. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.018>
- Lanza, V., Apaza, S., Huanca, E. U., & Aguilar Ancocota, R. (2021). Efecto inhibitorio *in vitro* del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.) y cáscara de naranja (*Citrus sinensis* Linn. Osbeck.) sobre *Fusarium* spp. en Puno. *Dominio de las Ciencias*, 7(1), 268-284. <http://doi.org/10.5281/zenodo.19862365>
- Le, T. X., Nguyen, M. N., Le, T. M., & Pham, M. C. V. (2025) Enriching 1, 8-Cineole Content in *Eucalyptus camaldulensis* D. Raw Essential Oil: An Investigation on Optimizing Vacuum Fractional Distillation Process. *Indonesian Journal of Chemistry*, 25(2), 432-443. <https://doi.org/10.22146/ijc.99211>
- Mirmostafae, S., Azizi, M., & Fujii, Y. (2020). Study of allelopathic interaction of essential oils from medicinal and aromatic plants on seed germination and seedling growth of lettuce. *Agronomy*, 10(2), 163. <https://doi.org/10.3390/agronomy10020163>
- Sahal, G., Woerdenbag, H. J., Hinrichs, W. L., Visser, A., Tepper, P. G., Quax, W. J., & Bilkay, I. S. (2020). Antifungal and biofilm inhibitory effect of *Cymbopogon citratus* (lemongrass) essential oil on biofilm forming by *Candida tropicalis* isolates; an *in vitro* study. *Journal of ethnopharmacology*, 246(1), 112188. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112188>
- Soudani, S., Poza-Carrión, C., De la Cruz Gómez, N., González-Coloma, A., Andrés, M. F., & Berrocal-Lobo, M. (2022). Essential oils prime epigenetic and metabolomic changes in tomato defense against *Fusarium oxysporum*. *Frontiers in Plant Science*, 13(1), 1-18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.804104>
- Tagnaout, I., Zerkani, H., Bencheikh, N., Amalich, S., Bouhrim, M., Mothana, R. A., & Zair, T. (2023). Chemical composition, antioxidants, antibacterial, and insecticidal activities of *Origanum elongatum* (Bonnet) Emberger & Maire aerial part essential oil from Morocco. *Antibiotics*, 12(1), 174. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12010174>
- Toazza, C. E. B., Marques, C., Amaral, W. D., & Masson, M. L. (2021). Comparative study of *Elyonurus muticus* and *Cymbopogon* essential oils: potential as food preservative and surface

- coating of strawberries. *Journal of Essential Oil Research*, 33(4), 359-368.  
<https://doi.org/10.1080/10412905.2021.1895336>
- Yin, Y., Miao, J., Shao, W., Liu, X., Zhao, Y., & Ma, Z. (2023). Fungicide resistance: Progress in understanding mechanism, monitoring and management. *Phytopathology*, 113(4), 707-718.  
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-22-0370-KD>
- Zapata, C., Loaiza, M., Martínez, M. C., Stashenko, E. E., & Mesa, A. C. (2022). *In vitro* activity of essential oils distilled from colombian plants against *Candida auris* and other *Candida* species with different antifungal susceptibility profiles. *Molecules*, 27(20), 6837.  
<https://doi.org/10.3390/molecules27206837>
- Zeng, C., Tandhanskul, A., Krungkaew, S., Likhanapaiboon, T., Kasayapanan, W., Chaisayan, W. & Tawai, A. (2024). The Impact of D-limonene on Cell Membrane Barrier of *Pichia kluyveri* Y-11519 from Sichuan Pickles. *Applied Science and Engineering Progress*, 17(3), 7407-7407.  
<https://doi.org/10.14416/j.asep.2024.06.014>

ARTÍCULO EN PRENSA