

# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS CÓRDOBA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA SUSTENTABLE

**EFFECTIVIDAD *in vitro* DE FUNGICIDAS NATURALES EN EL CONTROL DE  
ENFERMEDADES POSTCOSECHA DE CHAYOTE**

EDGAR JESÚS GARCÍA RAMÍREZ

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

AMATLÁN DE LOS REYES, VERACRUZ, MÉXICO

2021

EFFECTIVIDAD *in vitro* DE FUNGICIDAS NATURALES EN EL CONTROL DE  
ENFERMEDADES POSTCOSECHA DE CHAYOTE

Edgar Jesús García Ramírez

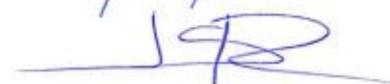
La presente tesis, titulada: **Efectividad *in vitro* de fungicidas naturales en el control de enfermedades postcosecha de chayote**, realizada por el alumno: **Edgar Jesús García Ramírez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN

INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA SUSTENTABLE

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA:   
DRA. ADRIANA CONTRERAS OLIVA.

ASESOR:   
DR. JOSAFHAT SALINAS RUIZ

ASESOR:   
DR. JERICÓ JABÍN BELLO BELLO

ASESORA:   
DRA. GABRIELA HERNÁNDEZ RAMÍREZ

Amatlán de los Reyes, Veracruz, México, Agosto 2021.

## **EFECTIVIDAD *in vitro* DE FUNGICIDAS NATURALES EN EL CONTROL DE ENFERMEDADES POSTCOSECHA DE CHAYOTE**

Edgar Jesús García Ramírez, MC.

Colegio de Postgraduados, 2021

Veracruz es el mayor productor de chayote a nivel nacional con un aporte del 85% de la producción total, sin embargo, se estima que el 20% se pierde debido a enfermedades causadas por microorganismos, tanto en campo como en postcosecha. El uso excesivo de agroquímicos ocasiona diferentes problemas como toxicidad, rechazo a las exportaciones y daño al medio ambiente. Debido a esto, se han buscado alternativas de manejo para el control de fitopatógenos con extractos vegetales. Para conocer los efectos antifúngicos del aceite esencial de canela, aceite de neem y extracto de frutos de zapote negro sobre los principales hongos causantes de enfermedades postcosecha en chayote, se trataron *in vitro*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Goetrichum* sp. y *Phytophthora capsici* aislados de frutos de chayote infectados. Los aceites de canela y neem se obtuvieron de manera comercial mientras que el extracto de zapote negro se obtuvo por extracción mecánica. Los resultados mostraron que el crecimiento de los cuatro patógenos podría reducirse completamente con el aceite esencial de canela a 300 ppm; el aceite de neem a 400 ppm mostró una reducción de 42.3% en el crecimiento de *F. solani* y 27.8% para *F. oxysporum*, y 53.3% para *Phytophthora capsici* y 20.9% para *Goetrichum* sp. a 350 ppm; mientras tanto, el extracto fresco de zapote negro a 400 ppm mostró una ligera inhibición (21.9-28.6%) en todos los hongos. Las enfermedades en frutos de chayote podrían prevenirse con los extractos vegetales evaluados ajustando sus concentraciones a valores óptimos.

**Palabras clave:** *Cinnamomum zeylanicum*, *Azadirachta indica*, *Diospyros digyna*, extractos vegetales, inhibición del crecimiento micelial.

***in vitro* EFFECTIVENESS OF NATURAL FUNGICIDES IN THE CONTROL OF POST-HARVEST DISEASES OF CHAYOTE**

Edgar Jesús García Ramírez, M. Sc.

Colegio de Postgraduados, 2021

Veracruz is the largest chayote producer nationwide with a contribution of 85% of total production, however, it is estimated that 20% is lost due to diseases caused by microorganisms, both in the field and in post-harvest. The excessive use of agrochemicals causes different problems such as toxicity, rejection of exports and damage to the environment. Due to this, management alternatives have been sought for the control of phytopathogens with plant extracts. To know the antifungal effects of cinnamon essential oil, neem oil and black Zapote fruit extract on the main fungi that cause postharvest diseases in chayote, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Goetrichum* sp. and *Phytophthora capsici* isolated from infected chayote fruits. The cinnamon and neem oils were obtained commercially while the black Zapote extract was obtained by mechanical extraction. The results show that the growth of the four pathogens could be completely reduced with the essential oil of cinnamon at 300 ppm; neem oil at 400 ppm showed a reduction of 42.3% in the growth of *F. solani* and 27.8% for *F. oxysporum*, and 53.3% for *Phytophthora capsici* and 20.9% for *Goetrichum* sp. at 350 ppm; meanwhile, the fresh extract of Zapote at 400 ppm showed a slight inhibition (21.9-28.6%) in all the fungi. Diseases in chayote fruits could be prevented with the evaluated plant extracts, adjusting their concentrations to optimal values.

**Keywords:** *Cinnamomum zeylanicum*, *Azadirachta indica*, *Diospyros digyna*, plant extracts, inhibition of mycelial growth.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por apoyar el desarrollo científico en México, y permitirme realizar mis estudios de posgrado.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba. A la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento 2 (LGAC-2): Innovación y Desarrollo de Procesos Agroalimentarios para el bienestar social del programa de Posgrado de la Maestría en Ciencias en Innovación Agroalimentaria Sustentable

A la Dra. Adriana Contreras Oliva, por su apoyo, confianza y paciencia. Además, de su tiempo y consejos brindados en este periodo.

Al Dr. Josafhat Salinas Ruiz, al Dr. Jericó J. Bello Bello y a la Dra. Gabriela Hernández Ramírez.

Al laboratorio de Lácteos y especialmente a la QFB. Laura Bautista Hernández por el apoyo y por facilitarme las herramientas necesarias para este experimento.

Al laboratorio de Biotecnología ANDREB S.A. DE C.V. y al Ing. Jorge Jiménez Zilli por la disponibilidad en facilitarnos las instalaciones de su laboratorio, equipo, materiales y sobre todo por compartir sus conocimientos y experiencias para la realización de este trabajo.

Al señor Luis García, productor de la MAP-Zona Centro, por la confianza de permitirnos hacer muestreos y proporcionar las muestras de chayote.

A mis amigos y compañeros del posgrado por su ayuda en todo momento.

## DEDICATORIA

A mis padres, quien en todo momento me apoyaron en esta etapa tan importante de mi vida, por creer en mí a pesar de todo.

A las personas integrantes de mi Consejo Particular por el esfuerzo, la dedicación, el tiempo y el apoyo que me han brindado, y sobre todo por la oportunidad brindada para esta experiencia y por la paciencia que me tuvieron a lo largo de esta trayectoria.

También a todas aquellas personas que formaron parte de esta trayectoria que de alguna manera me han acompañado hasta hoy, aun en la distancia.

Edgar Jesús García Ramírez

## CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.1	Origen del chayote .....	1
1.1.2	Importancia económica .....	1
1.1.3	Morfología .....	2
1.1.4	Taxonomía .....	3
1.1.5	Agentes causales de enfermedades postcosecha.....	3
1.1.6	Deterioro postcosecha .....	4
1.1.6.1	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .....	4
1.1.6.2	<i>Colletotrichum orbiculare</i> .....	5
1.1.6.3	<i>Phytophthora capsici</i> .....	5
1.1.6.4	<i>Fusarium</i> spp.....	5
1.1.6.5	<i>Geotrichum</i> sp. ....	6
1.2	Extractos vegetales y aceites esenciales.....	6
1.2.1	Propiedades antifúngicas.....	7
1.2.2	Métodos de extracción .....	8
1.2.3	Aceite de neem ( <i>Azadirachta indica</i> ) .....	9
1.2.4	Aceite esencial de canela ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ) .....	10
1.2.5	Extractos de zapote ( <i>Diospyros digyna</i> ).....	11
2	JUSTIFICACIÓN.....	13
3	HIPÓTESIS .....	14
4	OBJETIVOS.....	14
4.1	General .....	14
4.2	Objetivos específicos.....	14
5	MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
5.1	Muestreo de chayote.....	15
5.2	Identificación de cepas fúngicas causantes de enfermedades en postcosecha .....	15
5.3	Aislamiento de hongos.....	16
5.3.1	Purificación .....	16
5.3.2	Caracterización morfológica .....	16
5.3.3	Preservación.....	17

5.3.4	Extractos vegetales .....	17
5.3.5	Evaluación <i>in vitro</i> de la acción antifúngica de los diferentes extractos vegetales sobre hongos postcosecha .....	17
5.4	Diseño experimental y Análisis estadístico.....	19
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	20
6.1	Aislamiento e identificación de hongos .....	20
6.1.1	<i>Colletotrichum</i> spp.....	21
6.1.2	<i>Fusarium</i> spp.....	24
6.1.3	<i>Phytophthora capsici</i> .....	26
6.1.4	<i>Geotrichum</i> sp. ....	27
6.1.5	<i>Didimella bryoniae</i> .....	28
6.1.6	<i>Cladosporium</i> sp. ....	29
6.1.7	<i>Chaetomium globosum</i> .....	30
6.2	Preservación de hongos.....	31
6.3	Efectividad <i>in vitro</i> de extractos vegetales en el control de hongos postcosecha de chayote .....	33
7	CONCLUSIONES.....	43
8	BIBLIOGRAFÍA.....	44
9	Anexos.....	57

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1.	Producción de chayote por estado en 2019.....	2
Tabla 2.	Taxonomía del chayote ( <i>Sechium edule</i> ).....	3
Tabla 3.	Extractos vegetales probados para el control <i>in vitro</i> de hongos postcosecha de .....chayote.....	18
Tabla 4.	Enfermedades postcosecha en frutos de chayote.....	21
Tabla 5.	Tratamientos aplicados para la preservación de hongos causantes de enfermedades postcosecha de chayote.....	32
Tabla 6.	Efecto del aceite de neem y de extracto de zapote en el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de especies fúngicas aisladas de chayote, después de 7 días de incubación a 27 °C.....	34

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de chayotal en la localidad de Coxcontla, municipio de Huatusco, Veracruz, México. ....	15
Figura 2. Frutos de chayote infectados por <i>Colletotrichum</i> sp. con presencia de ampollas (C-R7 y C-R8), pudriciones (C-R9 y C-R20) y áreas redondas, hundidas y húmedas con reblandecimiento del tejido (C-R12 y C-R15). ....	22
Figura 3. Colonias de <i>Colletotrichum</i> spp. de chayote incubadas en medio de cultivo PDA. ....	23
Figura 4. Observación microscópica (40X) de <i>Colletotrichum</i> spp. aislado de chayote: conidios unicelulares de formas rectangulares a cilíndricas (C-R7, C-R9, C-R20, C-R12), conidios bicelulares con aparente septa intermedia (C-R8) y artroconidias rectangulares a ..... (C-R15). ....	24
Figura 5. Frutos de chayote infectados por <i>Fusarium</i> spp. con presencia de micelio blanco y pudrición (C-R3 y C-R17), pudrición leve por herida (C-R5) y pudrición (C-R13 y C-R19). ....	25
Figura 6. Colonias de <i>Fusarium</i> spp. de chayote incubadas en medio de cultivo PDA: <i>F. oxysporum</i> (C-R3 y C-R5) y <i>F. solani</i> (C-R17, C-R13 y C-R19). ....	25
Figura 7. Observación microscópica (40X) de <i>F. oxysporum</i> (C-R3: macroconidios, C-R5: micro y macroconidias septados) y <i>F. solani</i> (C-R17: monifialides con cadena, C-R13: micelio septado y microconidias y macroconidios con 3 a 5 septos, y C-R19: esporodoquia). ....	26
Figura 8. Formación de anillos en la zona de la lesión causada por <i>P. capsici</i> en los chayotes. ..	26
Figura 9. Colonias de <i>P. capsici</i> de chayote incubadas en medio de cultivo PDA: A) crecimiento característico de flor, B) observación microscópica (40X) del desarrollo de esporangios sobre simpodio simple, C) crecimiento en forma de estrella, y D) observación microscópica (40X) del esporangio elipsoide papilado. ....	27
Figura 10. Frutos de chayote con pudrición ácida o amarga causada por <i>Geotrichum</i> sp. ....	28
Figura 11. Colonias de <i>Geotrichum</i> sp. de chayote incubadas en medio de cultivo PDA (A y C) y estructuras de reproducción vistas en microscopio óptico (40X) (B y D). ....	28
Figura 12. <i>D. bryoniae</i> . A) Fruto de chayote con pudrición seca y micelio blanco, B) colonia con abundante micelio color negro en medio de cultivo PDA, y C) observación microscópica de micelio (40X). ....	29

Figura 13 A) Fruto dañado por *Cladosporium* sp. (C-R2), B) crecimiento del hongo en medio de cultivo PDA y C) vista en microscopio óptico (40X)..... 30

Figura 14. A) Fruto de chayote con lesiones provocadas por *C. globosum*, B) cultivo del hongo en caja Petri y C) observación microscópica (100X) de antroconidias ovales a circulares. . 30

Figura 15. Actividad antifúngica de aceite de neem y extracto de zapote, expresada en porcentaje de inhibición del crecimiento de los hongos en comparación con un testigo absoluto. Medias con las mismas letras no presentan diferencia significativa con la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). ..... 34

Figura 16. Crecimiento micelial de hongos tratados con aceite de neem (N300, N350 y N400) y extracto de zapote (Z300, Z350 y Z400) a 300, 350 y 400 ppm y un testigo absoluto.....36

#### LISTA DE ECUACIONES

Ecuación 1. Porcentaje (%) de inhibición..... 18

## INTRODUCCIÓN

### 1.1.1 Origen del chayote

El chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) es una especie originaria de México, la cual fue domesticada por los aztecas y mayas en la época precolombina. El término “chayote” deriva de dos vocablos náhuatl, “huitz” y “ayotl”, que significan “calabaza con espinas”, y que al castellanizarlos derivó en “chayotl” y “chayotli”, hasta el actual chayote. La variedad *virens levis* (verde liso) es un cultivo comercial cuyo fruto se consume principalmente como verdura (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2010; Olguín-Hernández *et al.*, 2013; García-Varela *et al.*, 2017).

### 1.1.2 Importancia económica

México es el segundo lugar en el mundo como productor y exportador de chayote verde liso, después de Costa Rica (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2010). Otros países productores son Guatemala, Brasil, Puerto Rico, Argelia, India, Nueva Zelanda y Australia, sin embargo, la mayor parte de su producción es para autoconsumo (Avendaño-Arrazate *et al.*, 2010).

Según datos reportados por el SIAP (2021) en México se produjeron 195,191.52 toneladas de chayote en 2019, siendo el estado de Veracruz el mayor productor a nivel nacional (85%), seguido por los estados de Michoacán y Jalisco (Tabla 1). Los principales municipios productores de chayote en Veracruz son Coscomatepec (27%), Ixtaczoquitlán (22%) y Actopan (19%). En el aspecto social, el chayote representa una importante fuente de empleo; en el Estado de Veracruz se produce lo equivalente a 30 mil empleos fijos por año, aproximadamente (Avendaño-Arrazate *et al.*, 2010).

Tabla 1. Producción de chayote por estado en 2019.

Entidad	Superficie(ha)		Producción (ton)	Rendimiento (ton/ha)	PMR (\$/ton)	Valor Producción (miles de Pesos)
	Sembrada	Cosechada				
Chiapas	13.80	11.00	44.00	4.00	3,999.16	175.96
Guanajuato	17.00	14.00	197.63	14.12	4,611.02	911.28
Jalisco	157.00	157.00	5,230.00	33.31	5,288.65	27,659.62
México	52.00	52.00	1,014.00	19.50	3,384.07	3,431.45
Michoacán	267.10	267.10	20,810.90	77.91	2,500.56	52,038.91
Puebla	42.26	42.26	153.96	3.64	3,602.40	554.62
San Luis Potosí	71.00	71.00	1,120.38	15.78	4,274.61	4,789.19
Tabasco	11.00	11.00	99.67	9.06	3,658.31	364.62
Veracruz	2,337.75	2,337.75	166,457.94	71.20	4,213.48	701,367.81
Yucatán	3.64	3.64	63.04	17.32	4,777.27	301.16
<b>TOTAL</b>	<b>2,972.55</b>	<b>2,966.75</b>	<b>195,191.52</b>	<b>65.79</b>	<b>4,055.48</b>	<b>791,594.62</b>

Fuente: SIAP (2021).

### 1.1.3 Morfología

El chayote es una especie de la familia de las cucurbitáceas, cuya estructura presenta tallos redondos, ramificados y con una extensión de hasta 15 metros. El fruto presenta características botánicas de forma muy variable, desde redonda a periforme, de 10 a 20 centímetros de largo, con epidermis de blanco a verde claro, lisa a corrugada, con o sin espinas. Interiormente, el pericarpio es de color verde claro y encierra una sola semilla ubicada en el centro del fruto (Olguín-Hernández *et al.*, 2013).

La variedad *virens levis* posee un fruto verde claro y piriforme, con longitud de 9.30 a 18.30 cm, ancho de 6.0 a 11.40 cm, y grosor de 5.40 a 9.60 cm; con cinco costillas ligeramente marcadas y hendidura basal poco profunda. El pedúnculo es verde claro con muy baja pubescencia y el

mesocarpio es de un color verde claro con un sabor neutro y una fibra moderadamente adherida al mesocarpio (Avendaño-Arrazate *et al.*, 2010).

#### 1.1.4 Taxonomía

En la Tabla 2 se muestra la taxonomía del chayote (*Sechium edule*) según Avendaño-Arrazate *et al.* (2010).

Tabla 2. Taxonomía del chayote (*Sechium edule*).

<b>Reino</b>	Vegetal
<b>Subreino</b>	Embryophyta
<b>División</b>	Anthophyta
<b>Clase</b>	Dicotyledonea
<b>Orden</b>	Cucurbitales
<b>Familia</b>	Cucurbitáceas
<b>Subfamilia</b>	Sicyoideae
<b>Género</b>	<i>Sechium</i>

Fuente: Avendaño-Arrazate *et al.* (2010).

#### 1.1.5 Agentes causales de enfermedades postcosecha

Los hongos son los responsables de la mayoría de las alteraciones en frutas y hortalizas, tal como en el caso del chayote. Estos suelen ser de la clase Ascomycetos y hongos imperfectos. Por otro lado, los Fycomicetos comunes son el género *Rhizopus* y los géneros *Phytophthora* y *Phythium* (Agrios, 2008). Los hongos se propagan mediante una espóra, la cual germina, crece y coloniza el tejido del fruto que está expuesto. Estos hongos germinan con ayuda del jugo del fruto liberado por las heridas. Otro tipo de hongos forman una estructura especializada llamada apresorios, la cual ayuda al hongo a penetrar la cutícula y la epidermis; estas infecciones suelen desarrollarse cuando el fruto está casi maduro (Agrios, 2005; Knogge, 1996).

### **1.1.6 Deterioro postcosecha**

La maduración y senescencia de los frutos es un proceso natural que induce el ablandamiento del tejido vegetal y la pérdida de sustancias antimicrobianas naturales, quedando vulnerable a los organismos patógenos y reduciendo la aceptación por parte del consumidor. En el caso del chayote, también influye en su deterioro su alto contenido de humedad en estado fresco y una alta transpiración, generalmente potenciada por el uso de bolsas plásticas, lo cual puede provocar marchitamiento y reducción de su vida de anaquel.

Adicionalmente, el fruto de chayote es susceptible a daños causados por roce, compresión e impacto, además de quemaduras por frío durante el transporte, esto debido a que posee una epidermis delgada. Estas situaciones facilitan el ataque de hongos durante la postcosecha, generando rechazos durante la comercialización. Debido a lo anterior, es esencial un buen manejo del producto para disminuir las pérdidas postcosecha (Arévalo-Galarza *et al.*, 2011; Romero-Velazquez *et al.*, 2015).

Las principales enfermedades que se generan en el fruto de chayote durante la postcosecha son: vejiga o ampolla (*Colletotrichum gloeosporioides*), antracnosis (*C. orbiculare*), moho blanco (*Phytophthora capsici*), moho púrpura-rojizo (*Fusarium spp.*) y pudrición ácida (*Geotrichum sp.*) (Arévalo Galarza *et al.*, 2011).

#### **1.1.6.1 *Colletotrichum gloeosporioides***

Este hongo, ataca a los frutos de chayote en el campo, provocando antracnosis, pero se desarrolla durante la poscosecha, ocasionando la “pudrición del pedicelo” durante el almacenamiento. Esta pudrición es uno de los causantes principales del deterioro de la calidad, limitando la exportación de los frutos y provocando pérdidas importantes. Este hongo también ataca cultivos como

aguacate, mango, pimiento, papaya y cítricos, tanto en precosecha como en postcosecha (Arévalo-Galarza *et al.*, 2011; Valverde *et al.*, 1989).

#### **1.1.6.2 *Colletotrichum orbiculare***

El *C. orbiculare* se identifica como manchas circulares oscuras en el fruto de chayote. Conforme se van extendiendo, estas manchas se tornan hundidas, con un centro blanco, con acérvulos color rosa y oscuros; además, se presenta humedad y ablandamiento en el área del tejido afectado. Estos síntomas se observan de manera parecida en otras cucurbitáceas como el melón y el pepino (Arévalo-Galarza *et al.*, 2011; Zitter *et al.*, 1996).

#### **1.1.6.3 *Phytophthora capsici***

El género *Phytophthora* genera pérdidas económicas importantes en todo el mundo como agente de enfermedades del suelo, ya que su control se dificulta debido a que manifiesta ciclos sexuales y asexuales, aunado a su capacidad de atacar las raíces, tallos, hojas y frutos de una gran cantidad de hortalizas (Lamour *et al.*, 2012; Ploetz *et al.*, 2002). El causante del moho blanco en chayote es el *Phytophthora capsici*, el cual requiere de una alta humedad relativa (80-100%) para su desarrollo. Los síntomas que causa en el fruto de chayote son unas manchas acuosas en la superficie del pericarpio y la apariencia blanquecina producida por el micelio blanco, el cual también puede desarrollarse al interior del fruto (Nuez *et al.*, 1996).

#### **1.1.6.4 *Fusarium spp.***

La contaminación por *Fusarium* se produce en el campo previo a la cosecha o durante la misma y se desarrolla durante el almacenamiento (Agrios, 2008). Se han identificado dos hongos del género

*Fusarium* que dañan la parte basal y media de frutos comerciales de chayote: *Fusarium oxysporum* y *F. solani*. Los síntomas que se presentan en los frutos de chayote asociado a *Fusarium oxysporum* son un micelio blanco en la parte basal y media del fruto, y alrededor del mismo el tejido se torna blando y amarillo. Por otro lado, *Fusarium solani* genera un micelio blanco específicamente en la epidermis de en medio del fruto, progresando a podredumbre blanda y de color amarillo en la parte basal y media del fruto (Romero-Velazquez *et al.*, 2015).

#### **1.1.6.5 *Geotrichum* sp.**

Los frutos de chayotes maduros y sobremaduros empacados en bolsas o paquetes de plástico son los más afectados por pudriciones ácidas ya que estos empaques mantienen la humedad relativa elevada, necesaria para el desarrollo de *Geotrichum* sp. También el agua libre presente entre los frutos y el suelo expuestos durante algunas horas propicia el desarrollo de estos hongos (Arévalo-Galarza *et al.*, 2011). La infección avanza rápidamente desde el interior del fruto hasta abarcarlo por completo, estas áreas se vuelven húmedas y se producen grietas en las que se forma un micelio de color crema (Agrios, 2002).

## **1.2 Extractos vegetales y aceites esenciales**

A causa de la incidencia de pudriciones en productos hortofrutícolas que limitan su comercialización se considera importante la aplicación de fungicidas que ayuden a extender la vida útil de estos productos. Los fungicidas sintéticos deben ser evaluados mediante diferentes estudios que demuestren su eficacia antes de ser autorizados por la entidad competente, esto ha conducido a la búsqueda de alternativas de manejo, debido al bajo control que se tiene en el uso de productos agroquímicos sintéticos, las aplicaciones constantes de dichos agroquímicos puede ocasionar diferentes problemas entre ellos la toxicidad en humanos, la detención de exportaciones por

residuos en el productos, daño al medio ambiente y por efectos perjudiciales a organismos benéficos, por otro lado, hoy en día los consumidores exigen alimentos libres de químicos por lo que se ha evaluado la efectividad de diversos productos de origen natural contra los principales hongos causales de enfermedades postcosecha de frutas y hortalizas.

### **1.2.1 Propiedades antifúngicas**

Diversos estudios alrededor del mundo reportan la existencia de metabolitos secundarios con actividad biológica localizados en plantas, ya que la mayoría de las plantas los sintetizan como medio de defensa ante parásitos y depredadores naturales. Algunos de los metabolitos secundarios extraídos de distintas especies vegetales son flavonoides, concentrados de saponina, eriodictiol, citronelal, citronelol, taninos, fenoles, triterpenos, entre muchos otros (Villa-Martínez *et al.*, 2015; Rodríguez *et al.*, 2012).

En base a lo anterior, se han evaluado extractos vegetales y aceites esenciales en el control de hongos que causan enfermedades tanto en el cultivo como en postcosecha en frutas y hortalizas. Estos compuestos pueden aplicarse de manera individual o en mezclas en concentraciones y proporciones determinadas y pueden afectar a patógenos diferencialmente (Villa-Martínez *et al.*, 2015). Las ventajas de estos “fungicidas naturales” en comparación a los sintéticos son su biodegradabilidad, no dañan el medio ambiente, son inocuos para el consumo humano y no crean cepas resistentes.

Los extractos vegetales pueden tener decenas de componentes, entre los que podemos encontrar varios con propiedades antifúngicas; normalmente están presentes como mezclas de compuestos (Montes-Belmont y Carvajal, 2009). Algunos extractos de origen vegetal que han sido efectivos controlando el crecimiento de *C. gloeosporoides in vitro* son extractos de hojas de verbena (*Lantana camara*) (Tasiwal *et al.*, 2009), canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume), guayaba

(*Psidium guajava* L.) y caña santa (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) (Ávalos Gavilla *et al.*, 2019); destaca el extracto de *Helenium mexicanum*, el cual inhibió completamente este hongo además del *Colletotrichum lindemuthianum* (Salgado-Garciglia *et al.*, 2019). Estudios en *Fusarium oxysporum in vitro* resultaron en una inhibición de 100% del crecimiento micelial con extractos acuosos de hojas de clavo (*E. caryophyllata*) (López-Benítez y Marcos-Cruz, 2002) y una inhibición del 88% en la germinación de esporas con extractos de orégano sirio (*O. syriacum*), olivarda (*I. viscosa*) y menta de caballo (*M. longifolia*) (Abou-Jawdah *et al.*, 2002).

Por otro lado, los aceites esenciales han sido altamente efectivos contra diversos agentes patógenos debido a su complejidad química, lo que permite la sinergia entre sus componentes. Se han reportado más de 150 componentes en aceites esenciales, los cuáles han mostrado actividad antimicrobiana (Carhuapoma *et al.*, 2009). Aceites esenciales de tomillo (*Thymus glandulosus*) y orégano (*Origanum compactum*) han sido efectivos en el control de *Rhizopus stolonifer in vitro*, inhibiendo el crecimiento micelial y su germinación (Plotto *et al.*, 2003). Daferera *et al.* (2003) reportaron una inhibición del 100% del crecimiento micelial de *Fusarium sp.*, con aceites esenciales de orégano (*O. vulgare*), tomillo (*T. capitatus*), díctamo (*O. dictamnus*) y mejorana (*O. majorana*); y del 83 y 72% con aceites esenciales de lavanda (*L. angustifolia*) y romero (*R. officinalis*), respectivamente.

### **1.2.2 Métodos de extracción**

Algunos de los disolventes más comunes utilizados en la obtención de extractos vegetales son el agua, metanol, etanol, diclorometano, cloroformo, éter de petróleo, hexano, entre otros. Estas sustancias poseen diferentes polaridades y de acuerdo con esto se realiza la extracción de compuestos polares y no polares presentes en los tejidos vegetales (Toledo, 2001; Abou-Jawdah *et al.*, 2002).

Los extractos acuosos pueden realizarse agregando el tejido vegetal en agua caliente (que haya alcanzado la ebullición) ya sea en fresco o seco, lo que comúnmente se denomina infusión. También se pueden realizar por licuefacción, mezclando el tejido vegetal con agua a temperatura ambiente. En ambos casos, se filtran las preparaciones para conservar los líquidos (Villar *et al.*, 1990).

### **1.2.3 Aceite de neem (*Azadirachta indica*)**

*Azadirachta indica* A. Juss es originario de las zonas áridas de India, Pakistán y África. Es un árbol de tamaño mediano a grande, con un tronco corto y recto y hojas alargadas y pinadas. Sus frutos maduran de junio a agosto y son lisos, de color amarillo verdoso a amarillo cuando maduran, tienen forma de aceituna de 1 a 2 cm de largo. Pertenece a la familia Meliaceae y también se le conoce como nim, margosa y paraíso de la India en español y neem en inglés e hindú (López *et al.*, 2007; Orozco-Sánchez y Rodríguez-Monroy, 2007).

El aceite de neem se encuentra en una alta concentración en la semilla y puede extraerse por prensado mecánico, pero resulta en un aceite turbio, con una cantidad significativa de agua y metales. También puede extraerse por fluido supercrítico con el cual se obtiene una pureza muy alta, pero los costos de operación e inversión son elevados. Otro método más económico y que permite extraer un aceite de calidad aceptable es la extracción por solvente, además esta proporciona un mayor rendimiento (Liauw y Soetaredjo, 2008).

El neem posee actividades biológicas, tales como efecto antiinflamatorio, antiséptico, antipirético, repelente de insectos, insecticida, propiedades antibacterianas y antifúngicas, entre otras. Se han identificado más de 300 metabolitos secundarios en el neem; entre los compuestos más importantes que han sido aislados están la gedunina, isomargolonona, margolona, margolonona, nimbina,

nimbolida, salanina y azadiractina (Firenzuoli y Gori, 2007; López *et al.*, 2007; Orozco-Sánchez y Rodríguez-Monroy, 2007). Se ha comprobado que los productos derivados del neem, además de afectar a los insectos y ácaros, afectan algunas bacterias gram positivas, nemátodos, caracoles y hongos como *Aspergillus* sp.; también cuenta con propiedades antiinflamatorias, antimutagénicas, antioxidantes, antiulcerosas, antivirales y espermicidas (Saxena, 2002; neem Foundation, 2006; y Royal Garden Botanics, 2006, como se citó en Orozco-Sánchez y Rodríguez-Monroy, 2007; Ghosh *et al.*, 2016).

#### **1.2.4 Aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*)**

El canelo es un árbol perenne originario de la India e Indochina, pertenece a la familia *Lauraceae*, del género *Cinnamomun* que comprende 250 especies aproximadamente; las formas cultivadas llegan a medir hasta 10 m de altura, posee ramas aromáticas con corteza doble. Sus hojas son ovadas de aproximadamente 18 cm de longitud, su flor es de color blanco a rojo con un olor desagradable, sus frutos son de 1 cm de diámetro y de color negro o pardo azulado. Los efectos biológicos de la canela son conocidos; destaca como analgésico, antiséptico, antiespasmódico, afrodisiaco, astringente, carminativo, hemostático, insecticida y parasiticida (Kubeczka, 2002; Legge, 1994).

Los aceites esenciales de interés se obtienen de *C. zeylanicum*, *C. cassia blume* y *C. camphora* l. Se pueden extraer de la hoja, tallo o raíz, cada uno con aroma, sabor y composición química particulares (Legge, 1994). Son ricos en eugenol, farnesol, gamma-terpineol, geraniol, isoeugenol, cariofileno y 3-fenilpropenal (aldehído cinámico). Su uso como bactericida se debe al eugenol, presente en un 70-95%; por otro lado, el aldehído cinámico posee actividad antibacterial, antifúngica e inhibe la producción de micotoxinas, además de otorgarle su carácter aromático

(Husain *et al.*, 1989; González, 2002; González Cabrera *et al.*, 2019). Normalmente se utiliza en perfumería, en la industria alimenticia y farmacéutica, entre otros usos (Molinas, 1970).

Varios estudios han demostrado el efecto de diversos aceites esenciales en la inhibición *in vitro* de hongos de postcosecha (Bishop y Reagan, 1998; Singh y Tripathi, 1999; Bellerbeck *et al.*, 2001; Hidalgo *et al.*, 2002). Algunos estudios han encontrado actividad antifúngica en el aldehído cinámico de la canela (Bullerman *et al.*, 1977), así como inhibición total del desarrollo micelial de hongos Fitopatógenos (Soliman y Badeaa, 2002) y Velluti *et al.* (2003) reportaron la inhibición del crecimiento de *Fusarium proliferatum* con este aceite esencial.

### **1.2.5 Extractos de zapote (*Diospyros digyna*)**

México es una región importante de diversidad para el género *Diospyros*, donde se han encontrado más de 20 especies diferentes (Wallnöfer, 2007); destaca *Diospyros digyna*, el cual ha sido explotado y comercializado (García Díaz *et al.*, 2015). El zapote negro es un fruto perteneciente a la familia de las Ebenaceae y la evidencia indica que es nativo de México y Centroamérica. En mercados regionales se consume ampliamente, sin embargo, en los mercados internacionales se considera una fruta exótica y no siempre es bien aceptado por el color oscuro de su pulpa (Yahia *et al.*, 2011).

El árbol de zapote mide entre 6 y 25 m de altura, tiene hojas de 18 cm de longitud, color verde oliva y de forma elíptica. Sus flores son de color blanco o crema (Wallnöfer, 2007). Posee un fruto climatérico de coloración verdosa, su mesocarpio pasa de amarillento y consistencia firme a marrón-negro y consistencia gelatinosa cuando madura (Costa *et al.*, 2010). Este cuenta con 6 a 8 semillas grandes, aunque se han reportado frutos sin semilla (Janick y Paull, 2008).

Diferentes partes de esta especie se ha aprovechado de manera regional; raíces, madera, hojas, frutos y semillas han sido utilizadas por sus propiedades medicinales contra el asma, dermatitis, y

problemas de hipertensión, hemorragias, insomnio, digestivos, entre otros (Rauf *et al.*, 2015). Este conocimiento empírico sugiere que el zapote negro es abundante en metabolitos secundarios (Leonti *et al.*, 2013), la mayoría aún no han sido investigados.

Los componentes aromáticos principales en *D. digyna* son (Z)- $\beta$ -ocimeno, (E)-cinamaldehído, y limoneno (Pino *et al.*, 2014). Además, se han encontrado compuestos con potencial antimicrobiano como el lupeol, betulina, ácido gálico y 1-O-bis-galoil hidroxiacetona en los tallos y cilindrina, 9,11-epoxicilindrina, diospirodina, y nonaacetato de diospirodina en las hojas. Por otro lado, se ha reportado actividad antifúngica de extractos etanólicos de la corteza del árbol contra *Rhizopus stolonifer* y *Aspergillus niger* (Surapuram *et al.*, 2014).

Las actividades fungistáticas o fungicidas de las plantas varían de acuerdo con la época del año en que se efectuó la colecta y al órgano empleado (raíz, hojas, semillas, frutos, etc.) (Bautista-Baños y Barrera-Necha, 2001; Bautista-Baños *et al.*, 2003). Tanto las propiedades microbianas como fungicidas del zapote negro se han evaluado en patógenos que afectan a los humanos; por lo que actualmente no existen estudios que evalúen extractos de *D. digyna* (hojas, frutos o semillas, etc.) para el tratamiento de enfermedades en frutas y hortalizas tanto en cultivos como en el periodo postcosecha.

## JUSTIFICACIÓN

Se estima que las pérdidas ocasionadas por microorganismos son alrededor del 20%, lo cual equivale a más de 38 toneladas anualmente, siendo una importante pérdida económica para el sector productivo. Los insecticidas organosintéticos han sido el principal mecanismo para combatir plagas en los últimos 60 años. Este uso excesivo e inadecuado ha traído consigo problemas irreversibles o difícilmente reversibles como la resistencia de las plagas y la aparición de nuevas plagas o de plagas secundarias, la aniquilación de enemigos naturales benéficos y otros seres vivos del ecosistema (como aves, peces, plantas y microorganismos), la contaminación de los recursos ambientales como el suelo, aguas superficiales y subterráneas y aire, y la acumulación de sustancias tóxicas en los alimentos, las cuáles afectan a los seres humanos y animales domésticos. En los últimos años se está retomando el uso de insecticidas vegetales, los cuáles son una alternativa ecológica al manejo de plagas, son eficaces y seguros para el medio ambiente y los seres humanos. Su funcionamiento se basa en los metabolitos secundarios producidos por la mayoría de las plantas, los cuáles son su medio de defensa contra microorganismos y fitófagos. Son de rápida degradación y no dejan residuos, por lo que son técnicas aceptadas y permitidas en los procesos de producción orgánica. La evaluación de extractos vegetales sobre hongos causales de enfermedades postcosecha de chayote podría ofrecer alternativas para enfrentar esta problemática de una forma sustentable, inocua para el ser humano y amigable con el medio ambiente

## HIPÓTESIS

La aplicación de extractos vegetales de *Diospyros digyna*, *Cinnamomum zeylanicum* y *Azadirachta indica* inhibe el crecimiento micelial *in vitro* de hongos causantes de enfermedades postcosecha en frutos de chayote.

## OBJETIVOS

### 1.3 General

Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de extractos vegetales sobre cepas causantes de enfermedades postcosecha en chayote.

### 1.4 Objetivos específicos

- Identificar los agentes causales de enfermedades en el chayote.
- Aislar las cepas fúngicas de los frutos de chayote.
- Caracterizar morfológicamente las cepas fúngicas aisladas.
- Elaborar extractos del fruto y partes aéreas de la planta de *Diospyros digyna*.
- Aplicar los extractos de *Diospyros digyna*, *Cinnamomum zeylanicum* y *Azadirachta indica* en los hongos fitopatógenos aislados de chayote.
- Medir el crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos durante 7 días.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1.5 Muestreo de chayote

La zona de muestreo correspondió a un huerto comercial en la localidad de Coxcontla, municipio de Huatusco, Veracruz, México. El predio se localizó en las coordenadas 19°06'45.80"N 97°00'41.86"O a una altitud de 1452 msnm. Durante el mes de agosto de 2019 y agosto de 2020 se colectaron los frutos de chayote en madurez hortícola de acuerdo con la norma NMX-FF-047-SCFI-2003 (Aguilar-Romo, 2003), con síntomas de enfermedades características en postcosecha (vejiga o ampolla, antracnosis, moho blanco, moho púrpura-rojizo o pudrición ácida). Las muestras fueron colocadas en bolsas de papel previamente esterilizadas y posteriormente se colocaron en bolsas plásticas debidamente rotuladas para su transporte al Laboratorio de Lácteos del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba; las muestras fueron transportadas en una hielera y fueron procesadas el mismo día.



Figura 1. Ubicación de chayotal en la localidad de Coxcontla, municipio de Huatusco, Veracruz, México.

### 1.6 Identificación de cepas fúngicas causantes de enfermedades en postcosecha

Se realizó una colecta de 20 muestras de frutos con tejido enfermo y sano. El fruto fue lavado con agua destilada y detergente para eliminar las impurezas de campo, fue cortado en trozos de aproximadamente 125 mm<sup>3</sup> y desinfectado con una solución de hipoclorito de sodio comercial al

2% por 2 min. Inmediatamente se realizaron tres lavados con agua destilada estéril y se colocaron en papel adsorbente estéril para retirar el exceso de humedad. Posteriormente se colocaron 4 trozos por caja Petri en medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) y se incubaron a temperatura ambiente a  $27 \pm 1$  °C por 5 días en una incubadora (Riossa, ECF-82.D, México).

## **1.7 Aislamiento de hongos**

Una porción de micelio se transfirió a otra caja Petri con medio de cultivo PDA para purificar cepas, dejándolos crecer a temperatura ambiente por 5 días.

### **1.7.1 Purificación**

La purificación de los hongos se realizó por la técnica de punta de hifa en el medio de cultivo PDA, los cuales fueron incubados a temperatura de  $27 \pm 1$  °C por 5 días (Romero-Velazquez *et al.*, 2015).

### **1.7.2 Caracterización morfológica**

Se realizaron preparaciones semipermanentes con azul de algodón y posteriormente fueron observados en un microscopio compuesto (Carl Zeiss MicroImaging GmbH 37081, Gottingen, Alemania). Por cada aislamiento se registró la pigmentación y formación de estructuras reproductivas para identificarlas morfológicamente en base al color, forma de la colonia, crecimiento del micelio y forma de conidios, mediante las claves de taxonómicas de Barnett y Hunter (1986); Arévalo-Galarza *et al.* (2011); Olguín-Hernandez *et al.* (2011); Olguín-Hernandez *et al.* (2013); Olguín-Hernandez *et al.* (2017); y Romero-Velazquez *et al.* (2015).

### **1.7.3 Preservación**

Se realizaron cuatro métodos de conservación de las cepas fúngicas aisladas de chayote: agua destilada a temperatura ambiente, aceite mineral, agua destilada (70%)-glicerol (30%) y agua inyectable (70%)-glicerol (30%), estos tres últimos se mantuvieron en congelación a -20 °C. La conservación de los microorganismos se realizó en medio de cultivo agar dextrosa Sabouraud (Panizo *et al.*, 2005; Cuadrado Cano *et al.*, 2015).

### **1.7.4 Extractos vegetales**

Los aceites comerciales evaluados fueron aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) (Aceites y Esencias S.A., México, D.F.) y aceite de neem (*Azadirachta indica*) (Geoquímica industrial IBCER, S.A. de C.V.).

El extracto fresco de zapote (*Diospyros digyna*) se preparó con frutos cosechados en la comunidad de Manuel León, Ver. México. Los frutos se recolectaron en madurez fisiológica. Posteriormente los frutos se desinfectaron con alcohol de 96° y se secó el exceso de humedad con toallas de papel estériles, se cortaron en trozos pequeños e inmediatamente se pasaron a un vaso de licuadora previamente esterilizado (Oster, Estados Unidos), se licuaron por 2 minutos y se filtraron utilizando gasa estéril. El extracto se adicionó inmediatamente al medio de cultivo PDA para su vaciado en cajas Petri.

### **1.7.5 Evaluación *in vitro* de la acción antifúngica de los diferentes extractos vegetales sobre hongos postcosecha**

Para evaluar el control *in vitro* de los extractos vegetales sobre los hongos postcosecha de chayote se utilizó la metodología de medio de cultivo envenenado (Barrera-Necha y Garcia-Barrera., 2008), en la cual se utilizaron cajas Petri con medio de cultivo PDA de la empresa DIBICO, en

estas se adicionó el aceite esencial de canela, el aceite de neem o el extracto de zapote (antes de su solidificación) a concentraciones de 300, 350 y 400 ppm de cada uno, tal como se muestra en la Tabla 3. Una vez solidificado el medio de cultivo se colocó un disco de 5 mm de diámetro en el centro de la placa con micelio de cada cepa (*F. oxysporum*, *F. solani*, *Goetrichum* sp. y *Phytophthora capsici*), y se colocaron en una incubadora (Riossa, ECF-82, México) a una temperatura de 27 °C durante 7 días. Durante este tiempo se midió el diámetro del micelio de cada colonia con un vernier digital cada 24 horas, y se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial diario empleando la siguiente fórmula propuesta por Pandey *et al.* (1982) (1).

$$\% \text{ de inhibicion} = \frac{D_{cc} - D_{ct}}{D_{cc}} * 100 \quad (1)$$

Donde

D<sub>cc</sub>: diámetro de la colonia testigo.

D<sub>ct</sub>: diámetro de la colonia del tratamiento.

Tabla 3. Extractos vegetales probados para el control *in vitro* de hongos postcosecha de chayote.

Tratamiento	Extracto vegetal	Concentración (ppm)
1		300
2	Canela	350
3		400
4		300
5	Neem	350
6		400
7		300
8	Zapote	350
9		400
10		Testigo

## 1.8 Diseño experimental y Análisis estadístico

Se realizó un experimento en bloques completos al azar con una estructura factorial con medidas repetidas para estudiar las propiedades inhibitorias de dos extractos vegetales: 1) aceite esencial de neem (*Azadirachta indica*) y 2) extracto fresco de zapote (*Diospyros digyna*) a diferentes concentraciones (0, 300, 350 y 400 ppm) sobre el crecimiento de hongos (*F. oxysporum*, *F. solani*, *Goetrichum* sp.) y omicetos (*Phytophthora capsici*) causantes de enfermedades poscosecha en chayote (*Sechium edule*) durante siete días. El experimento se realizó en dos bloques y en cada bloque se usaron 6 repeticiones. El modelo estadístico se describe continuación.

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \omega_{ijl} + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

donde  $Y_{ijkl}$  es la variable evaluada (porcentaje de inhibición),  $\mu$  es la media general,  $\alpha_i$  es el efecto fijo del tipo de extracto ( $i = 1, 2$ ),  $\beta_j$  es el efecto fijo de la concentración ( $j = 1, 2, 3, 4$ ),  $(\alpha\beta)_{ij}$  es el efecto fijo debido a la interacción tipo de *extracto x concentración*,  $\omega_{ijl}$  es el efecto aleatorio debido a la interacción *extracto x concentración* dentro de bloque  $\{\omega_{ijl} \sim N(0, \sigma_\omega^2)\}$ ,  $\gamma_k$  es el efecto fijo debido al tiempo de medición ( $k = 1, 2, \dots, 7$ ),  $(\alpha\gamma)_{ik}$ ,  $(\beta\gamma)_{jk}$ ,  $(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$  son efectos fijos debido a la interacción de factores ensayados con el tiempo de medición y  $\varepsilon_{ijkl}$  es el error experimental  $\{\varepsilon_{ijkl} \sim iidN(0, \sigma^2)\}$ . Los datos fueron analizados bajo el procedimiento de GLIMMIX de SAS versión 9.4. Se utilizó una estructura de covarianza AR2(1) y la comparación de medias LSD se realizó a un nivel de confianza del 95%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1.9 Aislamiento e identificación de hongos

La identificación de hongos causantes de enfermedades en chayote se realizó de acuerdo con los estudios de Barnett y Hunter (1986); Arévalo-Galarza *et al.* (2011); Olgúin-Hernandez *et al.* (2011); Olgúin-Hernandez *et al.* (2013); Olgúin-Hernandez *et al.* (2017); y Romero-Velazquez *et al.* (2015). La identificación se pudo realizar en 19 de 20 muestras tomadas de fruto enfermo y sano. Las cepas fueron *Colletotrichum* (seis muestras), *Fusarium* (dos muestras de *F. oxysporum* una muestras de *F. solani* y dos muestras de *Fusarium* sp.), *Phytophthora capsici* (dos muestras), *Geotrichum* sp. (dos muestras); y una cepa por muestra de *Didimella bryoniae*, *Cladosporium* sp., *Gliocladium* sp. y *Chaetomium globosum*.

El chayote es un fruto de exportación consumido como verdura; sin embargo, las pudriciones por hongos son uno de los problemas principales durante el transporte, almacenamiento y comercialización. Estas enfermedades fungosas se desarrollan en condiciones de alta humedad en los frutos empacados en películas plásticas; aunque en la mayoría de los casos las lesiones sean superficiales, provocan el rechazo del consumidor (Arévalo-Galarza *et al.*, 2011; Romero-Velazquez *et al.*, 2015).

En la Tabla 4 se pueden observar las principales enfermedades postcosecha en chayote y los microorganismos asociados a las mismas.

Tabla 4. Enfermedades postcosecha en frutos de chayote.

<b>Enfermedad</b>	<b>Microorganismo</b>
La vejiga o ampolla	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
Antracnosis	<i>C. orbiculare</i>
Moho blanco	<i>Phytophthora capsici</i>
Moho púrpura-rojizo	<i>Fusarium oxysporum</i>
Moho rosado	<i>Fusarium solani</i>
Mancha negra	<i>Didymella bryonae</i>
Pudrición ácida	<i>Geotrichum</i> sp.

Fuente: Olguín-Hernández *et al.*, 2013; Olguín-Hernández *et al.*, 2017.

Umaña-Rojas (2010) mencionó a los hongos y bacterias como los principales organismos responsables de pudriciones en postcosecha. Dentro de los hongos destacan los géneros *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Geotrichum*, entre otros. La mayoría de estos géneros no poseen fase sexual, se les considera similares a estados anamorfos del Phylum de los Ascomycetes, y se les denomina hongos mitospóricos (hongos imperfectos). Del Phylum Oomycota, sobresale el género *Phytophthora* en la clase de los Oomycetes.

### **1.9.1 *Colletotrichum* spp.**

En la Figura 2 se pueden observar los frutos de chayote infectados por *Colletotrichum* spp. Estos presentaron áreas redondas, hundidas y húmedas que se extendieron por el fruto reblandeciendo el tejido (C-R12, C-R15); este síntoma se expandió de acuerdo con la madurez de la fruta y esta se tornó seca (C-R9, C-R20). Otros síntomas provocados por este mismo patógeno fueron pudriciones y ampollas (C-R7, C-R8). Estos síntomas concuerdan con los descritos por Olguín-Hernández *et al.* (2017). A diferencia de otros patógenos débiles, algunas especies del género *Colletotrichum*, pueden ingresar en los tejidos sanos directamente, causando lesiones por las que

se introducen otros géneros como *Cladosporium* o *Fusarium*, extendiendo rápidamente el daño en el tejido vegetal (Umaña-Rojas 2010).

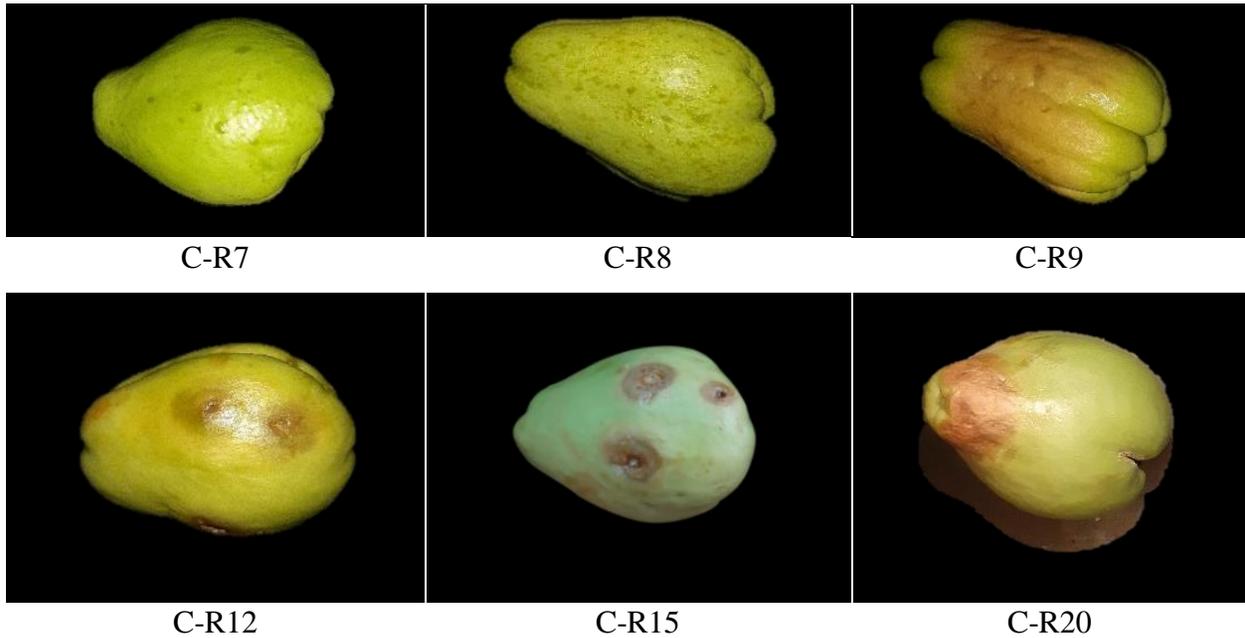


Figura 2. Frutos de chayote infectados por *Colletotrichum* sp. con presencia de ampollas (C-R7 y C-R8), pudriciones (C-R9 y C-R20) y áreas redondas, hundidas y húmedas con reblandecimiento del tejido (C-R12 y C-R15).

La morfología de las colonias de *Colletotrichum* spp. incubadas en medio de cultivo PDA se caracterizó por la presencia de un micelio vellosito extenso con tonalidades que fueron de blanco a crema y grises, en el centro de la caja Petri presentó tonalidades amarillentas a naranjas y en la parte posterior de la caja Petri un color gris a gris oscuro (Figura 3).

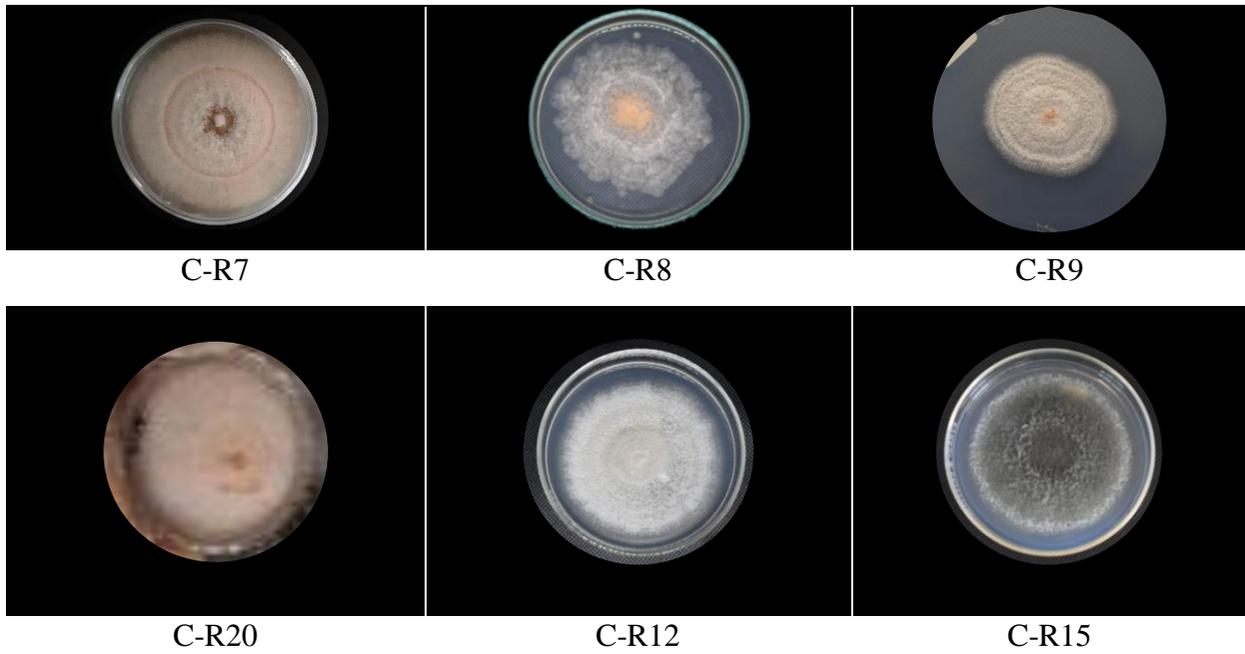


Figura 3. Colonias de *Colletotrichum* spp. de chayote incubadas en medio de cultivo PDA.

A nivel microscópico se observaron conidios unicelulares en forma rectangular a cilíndrica con una aparente septa en algunos casos (Figura 4), esto concuerda con las observaciones microscopias descritas por Olguín-Hernandez *et al.* (2017).

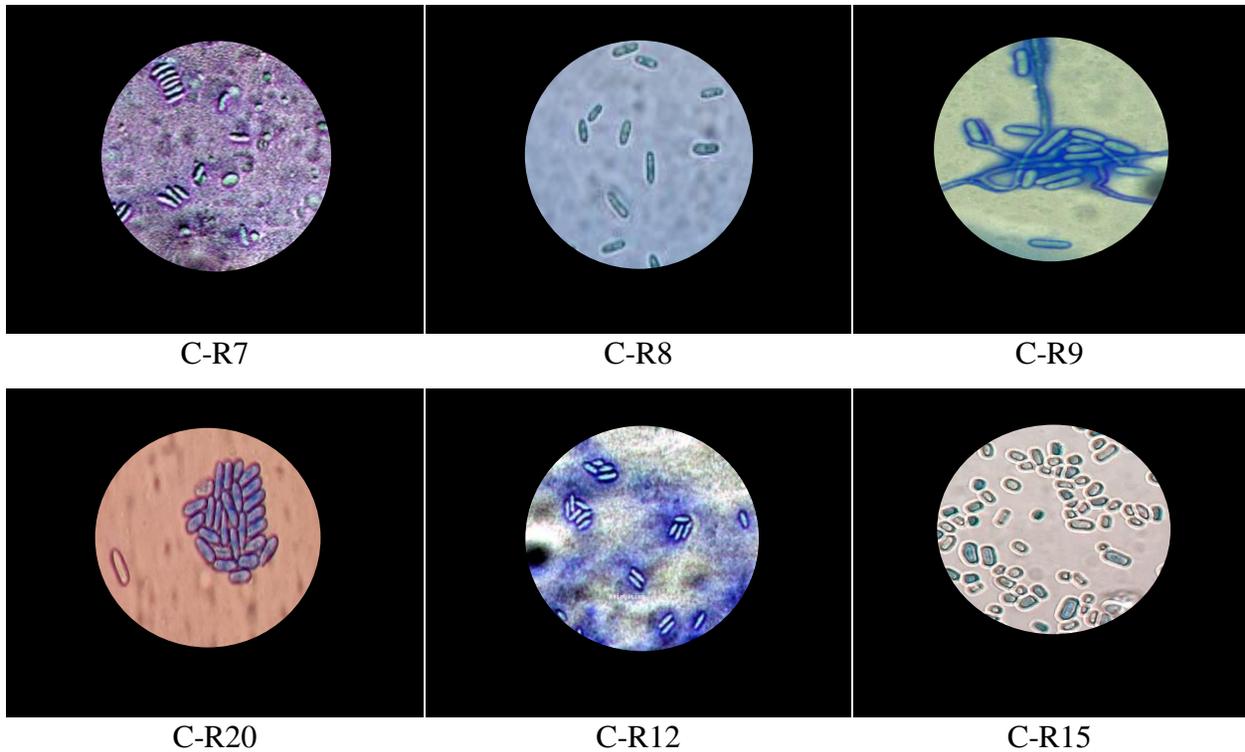


Figura 4. Observación microscópica (40X) de *Colletotrichum* spp. aislado de chayote: conidios unicelulares de formas rectangulares a cilíndricas (C-R7, C-R9, C-R20, C-R12), conidios bicelulares con aparente septa intermedia (C-R8) y arthroconidias rectangulares a (C-R15).

### 1.9.2 *Fusarium* spp.

Los síntomas presentes en el fruto del chayote por *Fusarium* spp. fueron la presencia de micelio esponjoso de diferentes tonalidades de color blanco-rosáceo o violeta (C-R3, C-R17), así como presencia de pudrición suave (C-R5, C-R13, C-R19) (Figura 5). Villa-Martínez *et al.* (2015) indicaron que los hongos del género *Fusarium* son ascomicetos filamentosos y cosmopolitas, tienen un micelio bien desarrollado, septado y conidióforos característicos o un talo unicelular en algunas especies. Además de causar grandes pérdidas económicas en diferentes cultivos en todo el mundo, producen metabolitos que son tóxicos para los seres humanos y los animales.

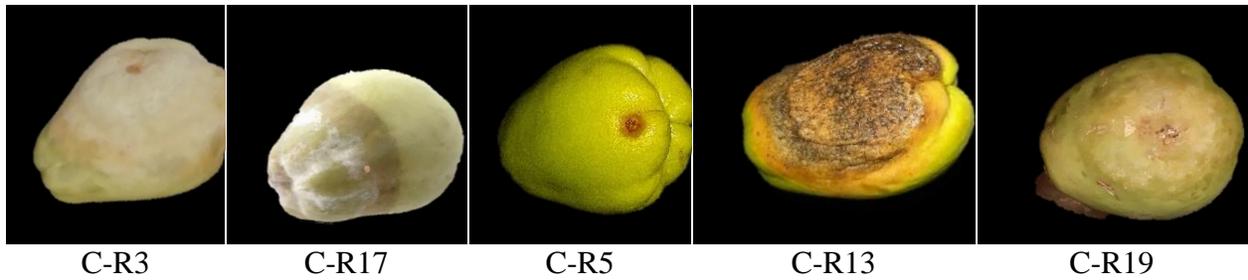


Figura 5. Frutos de chayote infectados por *Fusarium* spp. con presencia de micelio blanco y pudrición (C-R3 y C-R17), pudrición leve por herida (C-R5) y pudrición (C-R13 y C-R19).

Tal como se ve en la Figura 6, en medio de cultivo PDA, *F. oxysporum* presentó colonias con micelio aéreo abundante similar al algodón, de color blanco, que con el paso de los días se tornó color violeta. Estas características concuerdan con las descritas en los trabajos de Romero-Velazquez *et al.* (2015) y Olgún-Hernandez *et al.* (2017). Por otro lado, *F. solani* presentó un micelio extenso, similar al algodón, y el color de la colonia varió de amarillo a rosa; estos resultados concuerdan con lo descrito por Romero-Velazquez *et al.* (2015).

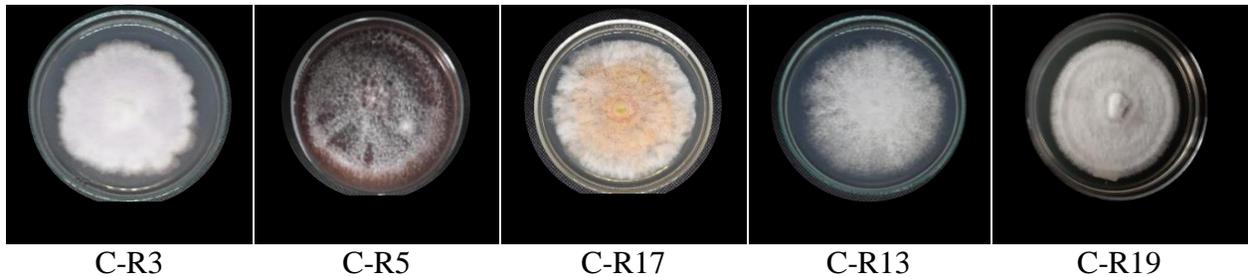


Figura 6. Colonias de *Fusarium* spp. de chayote incubadas en medio de cultivo PDA: *F. oxysporum* (C-R3 y C-R5), *F. Solani* (C-R17), y *Fusarium* sp. (C-R13 y C-R19)

En la observación microscópica (figura 7) se pudieron apreciar diferentes tipos de esporas, estas fueron microconidios unicelulares en forma de coma o macroconidios con forma de canoa de 3 a 5 septos, su micelio fue septado, con monifialides con cadena.

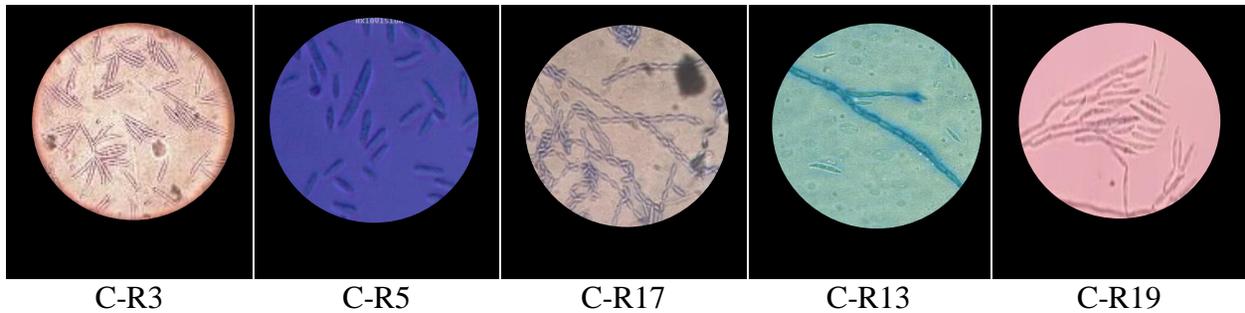


Figura 7. Observación microscópica (40X) de *F. oxysporum* (C-R3: macroconidios, C-R5: micro y macroconidias septados), *F. Solani* (C-R17: monifialides con cadena) y *Fusarium* sp. C-R13: micelio septado y microconidias y macroconidios con 3 a 5 septos, y C-R19: esporoquicia).

### 1.9.3 *Phytophthora capsici*

De acuerdo con lo descrito por Olguín-Hernandez *et al.* (2017), los síntomas presentes en el fruto del chayote provocados por *P. capsici* se le conocen como moho blanco; en los frutos se presentó como manchas acuosas en forma de anillos sobre el epicarpio que se agrandaron con el tiempo y se cubrieron de micelio, el cual también se desarrolló internamente (Figura 8). Por otro lado, Andrade-Luna *et al.* (2017) indicaron la presencia de micelio blanco en los frutos de chayote, así como pérdida de turgencia y pudrición.

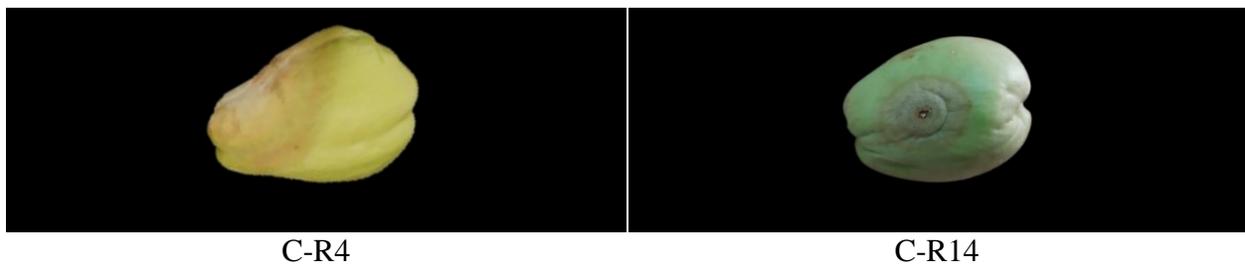


Figura 8. Formación de anillos en la zona de la lesión causada por *P. capsici* en los chayotes.

La colonia de *P. capsici* en medio de cultivo PDA tuvo una forma característica de flor o estrella transparente a blanca con poco micelio aéreo; sus estructuras microscópicas presentaron esporangios en cabezuela, esporangios papilados, esporangios con pedicelo largo y oosporas

(Figura 9). Olguín-Hernandez *et al.* (2017) y Reyes-Tena *et al.* (2021) presentaron resultados similares en sus observaciones macro y microscópicas para esta especie. Adicionalmente, Andrade-Luna *et al.* (2017) indicaron la presencia de hifas aéreas abundantes, algodonosas, poco radiadas y compactas y un micelio cenocítico, hialino, ramificado y de diámetro irregular.

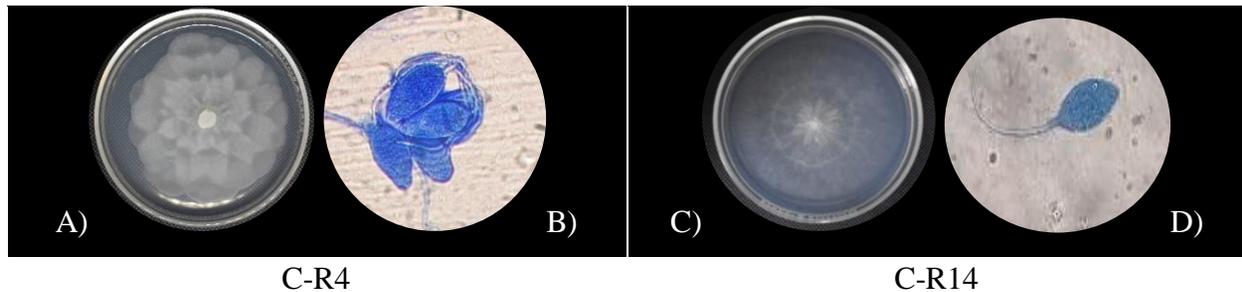


Figura 9. Colonias de *P. capsici* de chayote incubadas en medio de cultivo PDA: A) crecimiento característico de flor, B) observación microscópica (40X) del desarrollo de esporangios sobre simpodio simple, C) crecimiento en forma de estrella, y D) observación microscópica (40X) del esporangio elipsoide papilado.

#### 1.9.4 *Geotrichum* sp.

Según Olguín-Hernandez *et al.* (2017), los síntomas en el fruto de chayote causados por *Geotrichum* sp. se presentan cuando el fruto ha sufrido un daño físico por incisiones y heridas. Este microorganismo afecta a frutos maduros cuando se mantienen en empaques plásticos, los cuales retienen la humedad derivada de su transpiración en la superficie del fruto, este se vuelve blando mientras que la pudrición avanza rápidamente (Figura 10).

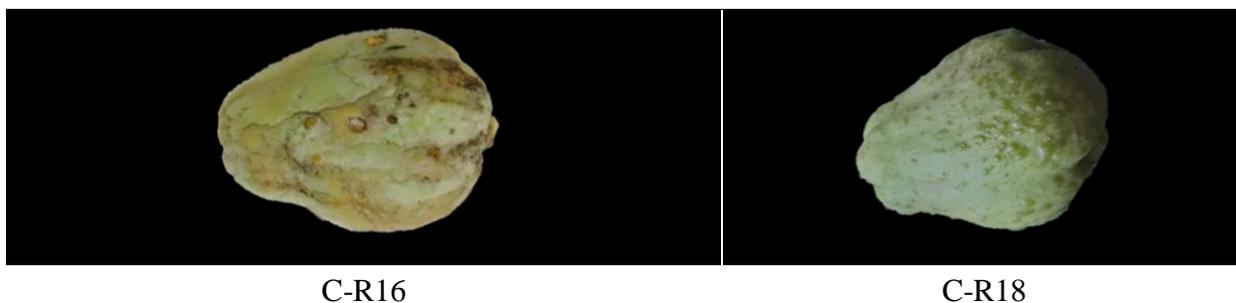


Figura 10. Frutos de chayote con pudrición ácida o amarga causada por *Geotrichum* sp.

La colonia de *Geotrichum* sp. presentó un color blanco a crema, que con el tiempo dio una tonalidad rosa, además presentó un micelio poco denso y con formaciones de anillos. Las estructuras de las hifas fueron septadas, con taifcaciones, arthroconidias rectangulares a cilíndricas y con formación de cadenas o arthroconidias unicelulares (Figura 11).

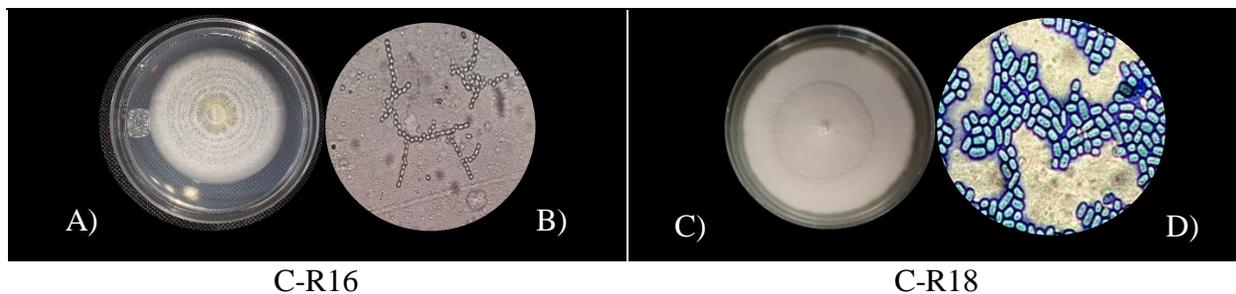


Figura 11. Colonias de *Geotrichum* sp. de chayote incubadas en medio de cultivo PDA (A y C) y estructuras de reproducción vistas en microscopio óptico (40X) (B y D).

### 1.9.5 *Didimella bryoniae*

En la Figura 12 se aprecian los síntomas de la infección por *D. bryoniae* en chayote, el cual provocó una pudrición seca; el micelio fue abundante en la parte infectada y se observó una coloración café alrededor de la lesión (A). En la caja Petri con medio PDA el micelio fue abundante con una coloración inicial blanca que con el paso de los días se tornó gris y posteriormente negra (B). Bajo el microscopio óptico se observó la estructura del micelio, la cual fue septada (C).

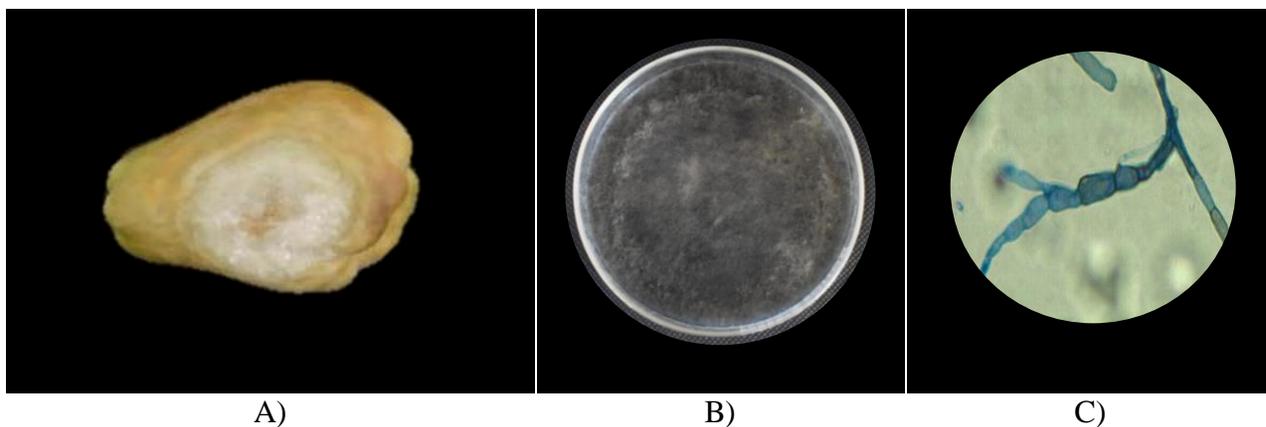


Figura 12. *D. bryoniae*. A) Fruto de chayote con pudrición seca y micelio blanco, B) colonia con abundante micelio color negro en medio de cultivo PDA, y C) observación microscópica de micelio (40X).

#### 1.9.6 *Cladosporium* sp.

No se ha reportado la enfermedad por *Cladosporium* sp. en frutos de chayote en estudios previos, los síntomas que se presentaron fueron pudrición color marrón y pequeñas aglomeraciones cremosas en el fruto; en medio de cultivo PDA se observaron colonias de color marrón a verde y micelio aterciopelado bajo y veloso, además, se observaron pequeños conidios ovals de color amarillo castaño (Figura 13). No se pudo realizar el seguimiento de la enfermedad ya que los preservados no fueron viables para continuar los estudios.

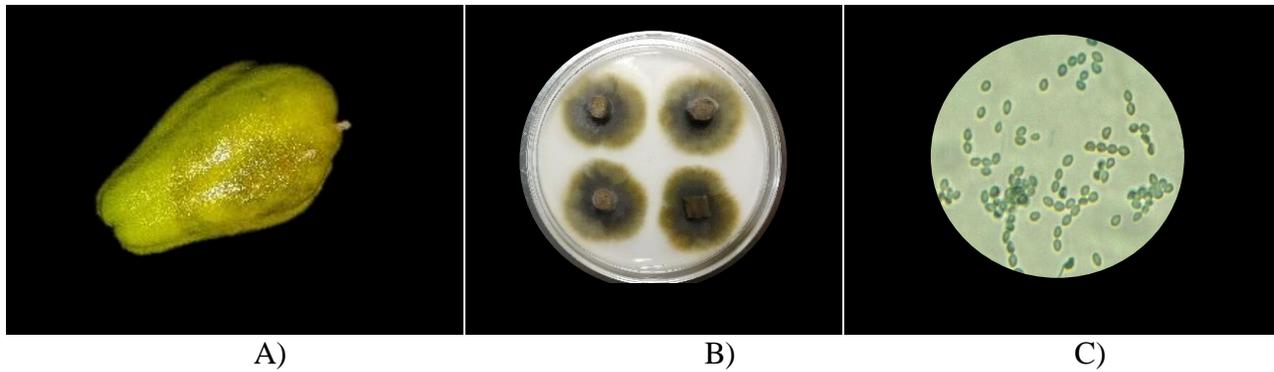


Figura 13 A) Fruto dañado por *Cladosporium* sp. (C-R2), B) crecimiento del hongo en medio de cultivo PDA y C) vista en microscopio óptico (40X).

### 1.9.7 *Chaetomium globosum*

De acuerdo con lo descrito por Romero-Velazquez *et al.* (2015) los frutos de chayote afectados por *C. globosum* presentan lesiones de color marrón sobre la epidermis con micelio blanco; estos síntomas fueron los obtenidos en el presente estudio; en medio de cultivo PDA la colonia formó aglomeraciones rizadas en las puntas de la hifa, su color fue marrón a verde (Figura 14).

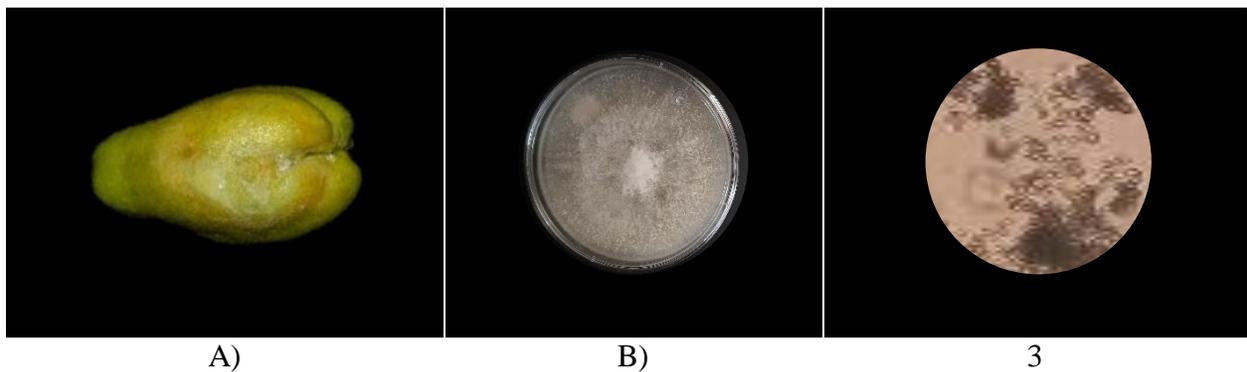


Figura 14. A) Fruto de chayote con lesiones provocadas por *C. globosum*, B) cultivo del hongo en caja Petri y C) observación microscópica (100X) de antroconidias ovales a circulares.

### 1.10 Preservación de hongos

Los hongos aislados tuvieron un tiempo de preservación distinto dependiendo del medio de conservación (Tabla 5). Algunos de ellos no se pudieron recuperar con ninguno de los tratamientos, estos fueron *Cladosporium* sp., *P. capsici*, *Gliocladium* sp. y *C. globosum*. Por otro lado, los hongos que se recuperaron satisfactoriamente fueron los del género *Fusarium*, así como *Colletotrichum* sp. y *Geotrichum* sp. Los del género *Fusarium* presentaron un tiempo de preservación de 19 meses en todos los medios. Por otro lado, *Colletotrichum* sp. se conservó durante 3 meses en agua destilada 70%-glicerol 30% y en agua inyectable 70%-glicerol 30%, 12 meses en aceite mineral 98%-Inex-A<sup>®</sup> 2% y 12 meses en agua destilada. El agua destilada (temperatura ambiente) mostró ser eficiente en la conservación de los hongos, con excepción de *D. bryoniae*, el cuál solo se conservó en los tratamientos bajo congelación, y *Geotrichum* sp. el cual solo se logró preservar en la solución de agua destilada 70%-glicerol 30%. Los resultados fueron similares a los reportados Panizo *et al.* (2005) y Cuadrado Cano *et al.* (2015), a excepción de *P. capsici*, ya que su conservación en los distintos tratamientos no fue posible.

Tabla 5. Tratamientos aplicados para la preservación de hongos causantes de enfermedades postcosecha de chayote.

Hongo	Tratamiento			
	Agua destilada 70%- Glicerol 30% (-20 °C)	Agua inyectable 30%- Glicerol 70% (-20 °C)	Aceite mineral 98%- Inex-A <sup>®</sup> 2% (-20 °C)	Agua destilada (temperatura ambiente)
Tiempo de preservación (meses)				
<i>Didimella bryoniae</i>	0-3	0-3	0-3	--
<i>Cladosporium</i> sp.	--	--	--	--
<i>Fusarium oxysporum</i>	0-19	0-19	0-1	0-19
<i>Phytophthora capsici</i>	--	--	--	--
<i>Fusarium oxysporum</i>	0-19	0-19	0-19	0-19
<i>Gliocladium</i> sp.	--	--	--	--
<i>Colletotrichum</i> sp.	0-3	0-3	0-12	0-12
<i>Colletotrichum</i> sp.	0-3	0-3	0-12	0-12
<i>Colletotrichum</i> sp.	0-3	0-3	0-12	0-12
<i>Chaetomium globosum</i>	--	--	--	--
<i>Colletotrichum</i> sp.	0-3	0-3	0-12	0-12
<i>Fusarium</i> sp.	0-19	0-19	0-19	0-19
<i>Phytophthora capsici</i>	--	--	--	--
<i>Colletotrichum</i> sp.	0-3	0-3	0-12	0-12
<i>Geotrichum</i> sp.	0-19	--	--	--
<i>Fusarium solani</i>	0-19	0-19	0-19	0-19
<i>Geotrichum</i> sp.	0-19	--	--	--
<i>Fusarium</i> sp.	0-19	0-19	0-19	0-19
<i>Colletotrichum</i> sp.	0-3	0-3	0-12	0-12

### **1.11 Efectividad *in vitro* de extractos vegetales en el control de hongos postcosecha de chayote**

Se evaluó la efectividad *in vitro* de aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), aceite de neem (*Azadirachta indica*) y extracto de frutos de zapote negro (*Diospyros digyna*) a concentraciones de 300, 350 y 400 ppm, sobre *F. oxysporum*, *F. solani*, *Geotrichum* sp. y *P. capsici*, los cuáles fueron aislados del chayote.

El aceite esencial de canela tuvo un efecto fungicida ya que inhibió al 100% el crecimiento de los microorganismos con todas las concentraciones empleadas. Por otra parte, el aceite de neem y el extracto de zapote negro tuvieron actividad fungistática ya que retrasaron el crecimiento micelial de los hongos. En general, el aceite de neem fue más efectivo inhibiendo el crecimiento micelial de los microorganismos que el extracto de zapote negro (Figura 15).

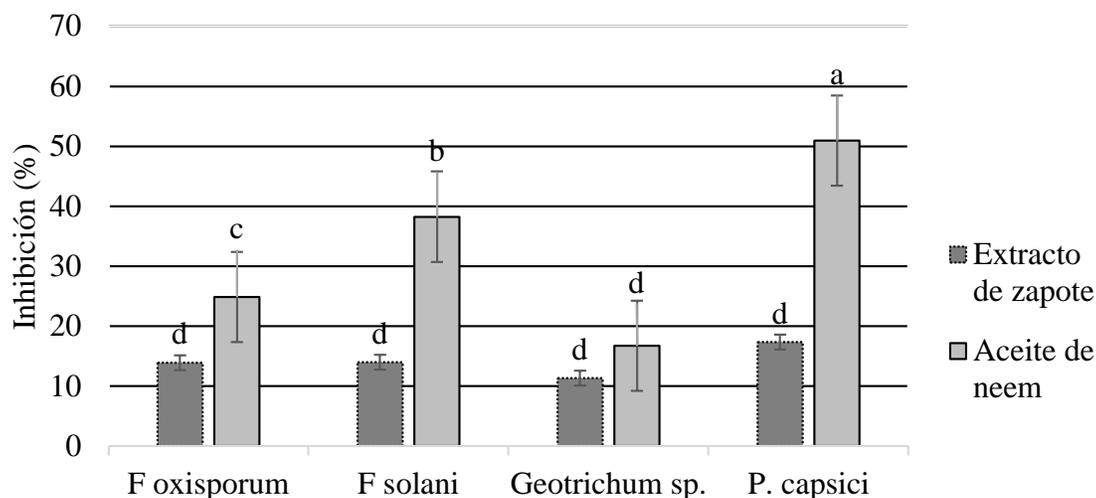


Figura 15. Actividad antifúngica de aceite de neem y extracto de zapote, expresada en porcentaje de inhibición del crecimiento de los hongos en comparación con un testigo absoluto. Medias con las mismas letras no presentan diferencia significativa con la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

En la Tabla 6 se muestra el efecto de diferentes concentraciones de aceite de neem y de extracto de zapote negro en el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de las especies fúngicas en comparación con el testigo absoluto.

Tabla 6. Efecto del aceite de neem y de extracto de zapote en el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de especies fúngicas aisladas de chayote, después de 7 días de incubación a 27 °C.

Tratamiento	Concentración (ppm)	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>Geotrichum sp.</i>	<i>P. capsici</i>
		(Porcentaje de inhibición)			
Extracto de zapote	300	4.70	0	0	7.88
	350	7.75	8.17	7.67	10.19
	400	26.07	21.95	28.61	24.28
Aceite de neem	300	24.69	39.50	13.34	51.87
	350	22.56	40.70	22.33	56.09
	400	27.82	42.29	20.96	53.31

La actividad fungistática del aceite de neem se vio influenciada por la concentración empleada, además, su efectividad fue distinta entre las especies fúngicas. El género *Geotrichum* y *F. oxysporum* presentaron mayor resistencia al aceite de neem, ya que se logró una inhibición máxima de 22.33% a 350 ppm para *Geotrichum* y 27.82% a 400 ppm para *F. oxysporum*; mientras *P. capsici* fue inhibido 56.09% a 350 ppm y *F. solani* 42.29% a 400 ppm.

Respecto al extracto de zapote negro, el porcentaje de inhibición fue proporcional a la concentración del mismo en todas las especies evaluadas, inhibiendo el desarrollo micelial en porcentajes similares (21.95-28.61%) en todos los hongos con el extracto a 400 ppm. A pesar de esto, cabe destacar que el extracto tuvo mayor efectividad a 400 ppm (28.61%) que el aceite de neem a 350 ppm (22.33%) contra el género *Geotrichum*; y su efecto fue equivalente (26.07%) a este aceite ante *F. oxysporum* (27.82%), ambos a 400 ppm. Adicionalmente, el extracto de zapote negro causó que el desarrollo de micelio fuera menos denso en *F. oxysporum* y *F. solani*.

En la Figura 16 se puede observar el crecimiento micelial diario de los microorganismos con los diferentes tratamientos. Todos los hongos presentaron un crecimiento micelial constante a lo largo de los 7 días de incubación, el cuál fue menor al control con la mayoría de los extractos y similar con algunos extractos de zapote. Sin embargo, cabe señalar que en *F. solani* y *Geotrichum* sp. los extractos de zapote a 300 ppm provocaron mayor crecimiento micelial que el testigo; estas diferencias fueron notorias el día 6 y 7 en *F. solani* y del día 3 al 7 en *Geotrichum* sp.

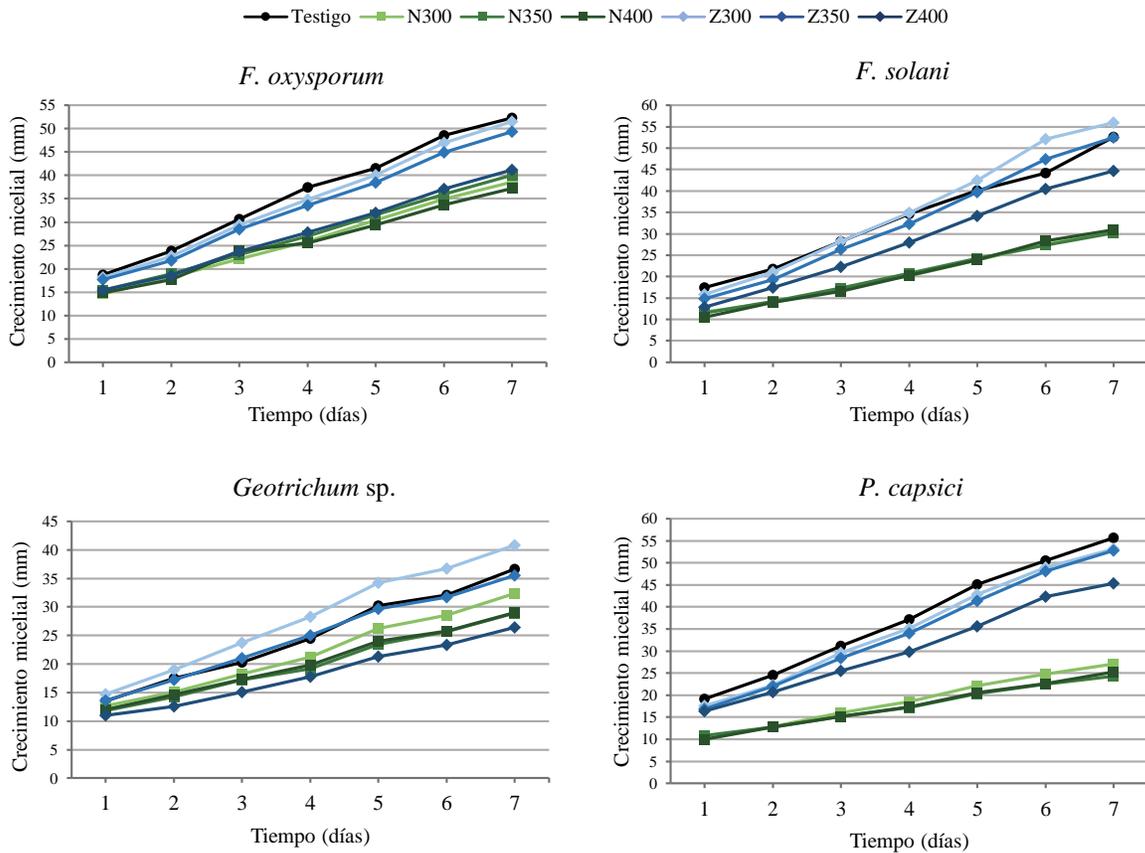


Figura 16. Crecimiento micelial de hongos tratados con aceite de neem (N300, N350 y N400) y extracto de zapote (Z300, Z350 y Z400) a 300, 350 y 400 ppm y un testigo absoluto.

El uso de agroquímicos sintéticos representa un serio problema a nivel ambiental y de salud pública, debido a esto se realizan investigaciones para encontrar alternativas accesibles, sencillas de aplicar, no tóxicas para los seres humanos y amigables con el medio ambiente. Los metabolitos secundarios encontrados en las plantas son de especial interés en la búsqueda de estrategias de control de enfermedades que afectan durante la cosecha y postcosecha de productos hortofrutícolas. Estos metabolitos pueden ser aplicados mediante extractos vegetales, aceites esenciales o específicamente el metabolito aislado del tejido vegetal (Umañaenítez *et al.*, 2005; Villa-Martínez *et al.*, 2015).

Los extractos son elaborados a partir de diferentes órganos de las plantas y pueden contener decenas de compuestos bioactivos, entre los cuáles algunos de ellos han demostrado actividades antifúngicas. Los patógenos pueden verse afectados diferencialmente por estos compuestos en determinadas concentraciones y proporciones (Montes-Belmont y Carvajal, 2009; Villa-Martínez *et al.*, 2015).

La actividad antifúngica de la canela ha sido demostrada en diversos estudios contra variedad de hongos fitopatógenos. Barrera-Necha y García-Barrera (2008) mostraron una reducción importante del crecimiento micelial (16 mm contra 50 mm del testigo) en *Fusarium* sp. aislado de papaya, después de 8 días de incubación a 25 °C con 250 µg mL<sup>-1</sup> (250 ppm) de aceite esencial de canela. Por otro lado, Ochoa-Fuentes *et al.*, 2012 encontraron que el extracto metanólico de canela a 300 ppm inhibió el crecimiento micelial de *F. culmorum* (31.81%), *F. oxysporum* (43.15%) y *F. solani* (45.58%).

Por su parte, Ramírez-González *et al.* (2016) aislaron y caracterizaron los hongos *Alternaria solani* y *F. oxysporum* de tomate y *C. gloesporioides* de papaya y mostraron que el aceite de canela al 0.1% inhibió en su totalidad el crecimiento y formación de conidias de *A. solani*, y *C. gloesporioides*, y en *F. oxysporum* no se presentó formación de conidias y se redujo significativamente el crecimiento micelial. Por otra parte, Cáceres Rueda de León *et al.* (2013) aplicaron un extracto acuoso de canela, el cual presentó actividad antifúngica a una concentración de 500 ppm para *F. oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, entre otros.

Los extractos y aceites de canela también se han evaluado *in vivo*. Pazmiño-Miranda *et al.* (2017) probaron en fresa un extracto hidro-etanólico de canela sobre pudrición gris (*Botrytis cinerea*) y observaron que a dosis de 15 ml L<sup>-1</sup> aplicadas cada 6 días, la incidencia y severidad de la pudrición

gris fue menor. Otro estudio en frutos de papaya inoculados artificialmente con *C. gloeosporioides*, mostró que una dosis de 0.0054% de extracto de canela controló la severidad de la antracnosis, mientras que, a mayores dosis la severidad aumentó (Landeró Valenzuela *et al.*, 2013). Asimismo, Kowalska *et al.* (2020) utilizaron una solución acuosa de canela al 0.5 y 1% para inhibir el moho gris (*Botrytis cinerea*) en plantas de tomate, el cual mostró una inhibición del 54.4% y 81.4%, respectivamente, además, este filtrado influyó positivamente en el crecimiento de las plantas, tanto en el invernadero como en campo.

Zulueta-Rodríguez *et al.* (2007) indicaron que no se conocen los mecanismos de acción específicos de los aceites y extractos vegetales, aunque una posibilidad es que tienen que ver con la membrana semipermeable de las células, compuesta de proteínas y grasas. Si el compuesto tiene grupos solubles en agua (polares) y grupos solubles en grasas (no polares), podrá penetrar la célula. La parte polar se disolverá en la fase exterior proteica de la membrana y posteriormente el grupo no polar se disolverá en la parte central de la membrana. Sin embargo, un estudio publicado en 2010 demostró algunos de los mecanismos antimicrobianos de la canela, destacando el incremento de la permeabilidad de la membrana plasmática del microorganismo, además de la fuga de iones por la membrana, provocando la inactividad total de la célula (Unlu *et al.*, 2010).

Aunque la actividad fungicida y fungistática de los aceites y extractos vegetales implica el efecto de diferentes compuestos, es posible que los componentes mayoritarios ejerzan el mayor impacto antifúngico. Cáceres Rueda de León *et al.* (2013) determinaron mediante HPLC la presencia de cinamaldehído como compuesto mayoritario, kaempferol en menor proporción y trazas de alcohol cinámico en un extracto acuoso de canela. Al respecto, Barrera-Necha y García-Barrera (2008) mostraron que el cinamaldehído, a una concentración de 100 ppm, fue suficiente para inhibir el crecimiento micelial de *Fusarium* sp. al 100%.

Los estudios anteriores demuestran tanto el efecto fungicida como fungistático de extractos y aceites esenciales de canela; lo cuál coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio con los hongos aislados de chayote.

Respecto al aceite de neem, Rawat *et al.* (2017) investigaron la capacidad del mismo para inhibir el crecimiento de micelio de *Schizophyllum commune*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *Coniophora puteana* y *Alternaria alternata*; encontrando el mayor efecto inhibitorio con los tratamientos a concentraciones mayores al 2%. Por otro lado, Landero Valenzuela *et al.* (2013) encontraron que el extracto metanólico de semillas de neem a una concentración de 0.0300% fue efectivo inhibiendo el desarrollo micelial de *C. gloeosporioides* y a 0.1200% controlando la germinación, esto con respecto al control ( $p < 0.0001$ ).

En estudios *in vivo* con extractos de neem, Bolivar *et al.* (2009) determinaron el efecto de extractos etanólicos sobre la antracnosis en frutos de mango inoculados con *C. gloeosporioides* y encontraron que el extracto de neem, a una concentración de 2.5%, redujo el diámetro de la lesión en 19.9% respecto al control; también, Lal *et al.* (2021) evaluaron tratamientos con productos de base organica contra *Phytophthora infestans* en dos cultivares de papa, durante dos años consecutivos; los tratamientos consistieron en aceite de neem, *Pseudomonas fluorescens* y *Trichoderma viride* al 6, 1 y 2%, respectivamente, y encontraron que los cultivares tratados con aceite de neem tuvieron la menor incidencia de la enfermedad.

El neem contiene más de 300 metabolitos secundarios, de los cuáles la tercera parte son limonoides (nimbina, nimbidina, azadiractina, etc.) de interés comercial y científico por sus efectos biológicos. La azadiractina ha sido reportada como el principal componente con actividad biológica en el neem (Dai *et al.*, 1999; Dubey y Kumar, 2003). Mientras tanto, Bolivar *et al.*, 2009 determinaron la

presencia de alcaloides, aceites esenciales, polifenoles, taninos y saponinas en un extracto etanólico de hojas de neem.

Los estudios anteriores coinciden con los resultados obtenidos para aceite de neem en hongos fitopatógenos de chayote. La variabilidad en la efectividad de los extractos de neem puede deberse a que el contenido de los componentes de los frutos de neem varía de acuerdo a la madurez del fruto y posiblemente también dependiendo de la variedad genética (Ramos *et al.*, 2004). Adicionalmente, Niaz *et al.* (2008) indicaron que la efectividad del aceite de neem puede variar de acuerdo con el método de extracción, la zona geográfica y la pureza del aceite.

En cuanto a la actividad antifúngica del zapote negro, se han realizado pocos estudios. Sin embargo, muchos autores han estudiado la actividad biológica de una gran variedad de especies del género *Diospyros*; y han encontrado efectos antioxidantes, analgésicos, antimicrobianos, fungicidas, insecticidas, entre muchos otros (Rauf *et al.*, 2017). Algunos de los compuestos bioactivos reportados en el género *Diospyros* son kaempferol, quercetina, ácido gálico, plumbagina, diospirina, etc. (Pino *et al.*, 2014; Rauf *et al.*, 2017). Por su parte, Arellano-Gómez *et al.* (2005) destacan al cinamaldehído encontrado en zapote por su conocido efecto fungicida.

Surapuram *et al.* (2014) evaluaron las propiedades antifúngicas de más de 50 extractos de plantas contra *Aspergillus niger* y *Rhizopus stolonifer*, el extracto etanólico de corteza del árbol de zapote negro a una concentración de  $156 \mu\text{g mL}^{-1}$  mostró inhibición significativa de *A. niger* y no tuvo efecto contra *Rhizopus stolonifer*; sin embargo, su efectividad fue superada por *Drymonia conchocalyx* (extracto etanólico a  $39 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), corteza de *Ardisia revoluta* (extracto en acetona a  $78 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), hojas de *Camellia sinensis* (extracto acuoso a  $78 \mu\text{g mL}^{-1}$ ); entre otros.

Otros autores encontraron que el extracto de metanol/diclorometano de corteza de tallo de *Diospyros crassiflora* fue efectivo en la inhibición del crecimiento de cepas fúngicas como *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium* sp. y *Penicillium* sp. (Dzoyem *et al.*, 2007).

En contraste, Ramírez-Briones *et al.* (2019) no encontraron actividad antifúngica de extractos de hojas de zapote negro contra dos especies fitopatógenas conocidas; los autores comentaron la posibilidad de que los solventes polares utilizados fueran incapaces de extraer los compuestos con mayor capacidad biocida, las naftoquinonas, las cuales son no-polares; no obstante, se encontró una gran cantidad de compuestos fenólicos en los extractos, los cuales son conocidos por su acción contra hongos y levaduras, por lo que los autores sugieren más investigación al respecto.

En el presente estudio el factor concentración del extracto de zapote fue clave en la acción fungistática del mismo. Respecto a lo anterior, existe la posibilidad de que la actividad antifúngica de los extractos pueda perderse debido a la volatilización, descomposición, desnaturalización o inactivación de las sustancias responsables de dicha actividad; por lo que una concentración mayor puede compensar este efecto (Montes, 2000).

Cabe mencionar que los metabolitos secundarios con actividad antifúngica pueden distribuirse en diferentes partes de la planta y a diferentes concentraciones, así mismo, dependiendo de solvente empleado se obtienen distintos compuestos y concentraciones de los mismos ya que dependen de la afinidad química con los solventes para ser extraídos (Bautista-Baños *et al.*, 2003). Por lo tanto, es necesario realizar investigaciones sobre extractos de diferentes partes de la planta de zapote negro; así como evaluar distintos métodos de extracción de sus compuestos bioactivos.

En términos generales, considerando los resultados obtenidos con los tres extractos vegetales evaluados en los hongos fitopatógenos aislados de chayote y la evidencia científica discutida previamente, es relevante considerar que la efectividad de los extractos, en general, depende de factores como el órgano de la planta utilizado, el método de extracción, la concentración del extracto y la especie fúngica en cuestión. También es importante tener en cuenta que la actividad de los extractos contra los hongos puede presentarse en diferentes etapas de su desarrollo, por lo que el crecimiento micelial es sólo uno de los parámetros a considerar en el control de hongos; así mismo, valorar que la concentración efectiva en los estudios *in vitro* podría ser distinta en estudios *in vivo* en el chayote.

## CONCLUSIONES

Se evaluó aceite esencial de canela, aceite de neem y extracto de zapote en la inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de *F. oxysporum*, *F. solani*, *Geotrichum* sp. y *Phytophthora capsici*, los cuáles fueron aislados de frutos de chayote en madurez hortícola.

El aceite esencial de canela inhibió por completo el crecimiento de todos los hongos fitopatógenos. El aceite de neem y el extracto de zapote presentaron actividad fungistática; el primero fue mejor retrasando el crecimiento de *F. solani* y *Phytophthora capsici*, mientras que el zapote tuvo mayor actividad en contra el género *Geotrichum*, aunque fue moderada. Por otro lado, ambos extractos tuvieron un efecto antifúngico similar ante *F. oxysporum*, el cual fue moderado.

En conclusión, el aceite de canela es una alternativa eficiente para el tratamiento de hongos fitopatógenos que causan enfermedades en chayote y en otros productos; sin embargo, se requieren estudios *in vivo* en chayote para determinar la concentración óptima efectiva.

Por otro lado, aunque el aceite de neem y el extracto de zapote controlaron el crecimiento de estos hongos, sería pertinente evaluar su actividad ante diferentes etapas del desarrollo de los hongos; así como realizar investigaciones con el objetivo de conocer las concentraciones óptimas de cada extracto tanto *in vitro* como en el fruto de chayote. Adicionalmente, futuras investigaciones podrían enfocarse en evaluar diferentes partes de la planta de zapote y otros tipos de extracciones.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abou-Jawdah, Y., Sobh, H. y Salameh, A. 2002. Antimycotic activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon, against phytopathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 3208-3213.
- Agrios, G. N. 2002. *Fitopatología*. Editorial Limusa. México, D.F. pp. 454-465.
- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition. Elsevier Academic Press. New York. USA. 922p.
- Agrios, G.N. 2008. *Fitopatología* 2ª edición. Ed. Limusa. México, D.F. 838 p.
- Aguilar Romo, M. 2003. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano - hortaliza fresca – chayote (*sechium edule*) – especificaciones. *Diario oficial de la federación*, 1-10.
- Andrade-Luna, M. I., Espinosa-Victoria, D., Gómez-Rodríguez, O., Cadena-Íñiguez, J., Arévalo-Galarza, M. L., Trejo-Téllez, L. I., y Delgadillo-Martínez, J. 2017. Severity of a *Phytophthora capsici* isolate in chayote *Sechium edule* plants at growth chamber level. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 35: 40-57.
- Arellano-Gómez, C. S.-V.-G. 2005. Biochemical and physiological changes during ripening of black sapote fruit (*Diospyros digyna* Jacq.). *Agrociencia*, 173-181.
- Arévalo-Galarza, M. L., Cadena-Íñiguez, J., Romero-Velazquez, S. D. y Tlapal-Bolaños, B. 2011. Rescatando y Aprovechando los Recursos Fitogenéticos de Mesoamérica, Volumen 3: Chayote: Manejo Postcosecha. Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México, A. C. (GISeM). Colegio de Postgraduados, México.

- Ávalos Gavilla, A., Morales Romero, L., y Rojas Moya, X. 2019. Potencial antifúngico de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. *Agricultura Tropical*, [S.l.], 5(2): 39-45.
- Avendaño-Arrazate, C.H., Cadena-Iñiguez, J. Arévalo-Galarza, M.L., Campos-Rojas, E., Cisneros-Solano, V.M. y Aguirre-Medina, J.F. 2010. Las Variedades del Chayote Mexicano, Recurso Ancestral con Potencial de Comercialización. Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México, A. C. (GISeM,), México.
- Barnett, H.I., Hunter, B. (1986). *Illustrated genera of imperfect fungi*. (Fourth Edition. ed.). St. Paul, Minnesota: The American Phytopathological society.
- Barrera-Necha, L. L. y García-Barrera, L. J. 2008. Antifungal activity of essential oils and their compounds on the growth of *Fusarium* sp. isolate from papaya (*Carica papaya*). *UDO Agrícola*, 8(1), 33-41.
- Bautista-Baños, S. y Barrera-Necha, L. 2001. Tecnologías empleadas en el control de las enfermedades postcosecha de los productos hortofrutícolas. *Memorias de Investigación*. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Instituto Politécnico Nacional. 147 p.
- Bautista-Baños, S., García-Domínguez, E., Barrera-Necha, L.L., Reyes-Chilpa, R. and Wilson, C.L. 2003. Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamúchil (*Pithecellobium dulce*) action against *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 29: 81-92.
- Bellerbeck, V.G., De Roques, C.G., Bessiere, J.M., Fonvieille, L. and Dargent. R. 2001. Effect of *Cymbopogon nardus* (L) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*. *Can. J. Microbiol.* 47:9-17.

- Bishop, C.D. and Reagan, I. 1998. Control of the storage pathogen *Botrytis cinerea* on Dutch white cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) by the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. J. Essential Res. 10:57-60.
- Bolívar, K., Sanabria, M. E., Rodríguez, D., Camacaro, M., Ulacio, D., Cumana, L. J. y Crescente, O. 2009. Potencial efecto fungicida de extractos vegetales en el desarrollo *in vitro* del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz y Sacc. y de la antracnosis en frutos de mango. *Revista UDO Agrícola*. 9(1): 175-181.
- Bullerman, L.B., Lieu, Y. and Seier, S.A. 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. J. Food. Sci. 42:1107-1109.
- Cadena-Iñiguez, J., Avendaño-Arrazate, C.H., Aguirre-Medina, J.F., Arévalo-Galarza, M.L., Cisneros-Solano, V.M. y Campos-Rojas, E. 2010. El chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw., importante recurso fitogenético mesoamericano. *Agroproductividad*. Año3/número2. Pp. 3-11.
- Cáceres Rueda de León, I., Colorado Vargas, R., Salas-Muñoz, E., Muñoz Castellanos, L. N. y Hernández-Ochoa, L. 2013. Antifungal Activity *in vitro* of the Aqueous Extracts of Spice's Against *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* and *Aspergillus niger*. *Revista mexicana de fitopatología*, 31(2): 105-112.
- Carhuapoma M, López S, Roque M, Velapatiño B. y Whu C. 2009. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* griseb “Ruyaq muña”. Universidad Mayor de San Marcos.

- Costa, R. S., Oliveira, I. V. M., Môro, F. V., & Martins, A. B. G. 2010. Caracterização morfológica do fruto, semente e morfofunção de plântulas de sapoteira-preta (*Diospyros ebenaster* Retz.). *Comunicata Scientiae*, 1:9-14.
- Cuadrado Cano, B. S., Vélez Castro, M. T., e Infante Jiménez, C. 2015. *Biotecnología De La Teoria A La Práctica*. Cartajena: Editorial Universitaria, Universidad de Cartagena.
- Daferera, D.J., Ziogas, B.N. and Polissiou, M.G. 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Crop Protection*. 22: 39-44.
- Dai, J., Yaylayan, V., Vijaya, G.S. y Pare, J. 1999. Extraction and colorimetric determination of azadirachtin-related limonoids in neem seed kernel. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 47: 3738-3742.
- Dubey, R.C., y Kumar, R. 2003. Efficacy of Azadirachtin and fungicides on growth and survival of sclerotia of *Macrophomina phaseolina* causing charcoal rot in Soyabean. *Indian Phytopathology*. 56: 216–217.
- Dzoyem, J.P., Tangmouo, J.G., Lontsi, D., Etoa, F.X., Lohoue, P.J. 2007. *In vitro* antifungal activity of extract and plumbagin from the stem bark of *Diospyros crassiflora* Hiern (Ebenaceae) *Phytother. Res.* 21: 671-674.
- Firenzuoli, F. and Gori, L. 2007. Flavonoid composition of citrus juices molecules. Massina, Italia. Dipartimento di chimica orgánica e biología, Università di Messina, Salita Sperone. Pp: 1641-1673.
- García-Díaz, R., Cuevas Sánchez, J.A., Segura Ledesma, S. y Basurto Peña, F. 2015. Análisis panbiogeográfico de *Diospyros* spp. (Ebenaceae) en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agricultura*, 6(1):187–200.

- García-Varela, R., García-Galindo, H., Del Ángel-Coronel, O.A., León-García, E. and De la Cruz-Medina, J. 2017. Chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) Phytochemical and pharmacological approaches. En: Y. Elhadi M, ed. *Fruit and Vegetable Phytochemicals, Chemistry and Biological Functions*. s.l.:Wiley Blackwell, pp. 979-992.
- Ghosh, V., Sugumar, S., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. 2016. Capítulo 67 - Aceites de neem (*Azadirachta indica*). En V. Ghosh, S. Sugumar, A. Mukherjee, & N. Chandrasekaran, *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* (págs. 593-599). Vellore Tamil Nadu, India: Centre for Nanobiotechnology, VIT University.
- González, R. 2002. Eugenol: propiedades farmacológicas y toxicológicas. Ventajas y desventajas de su uso. *Rev Cubana Estomatol* 39: 139-156.
- González Cabrera, M.V., Paredes Peralta, V., Erazo Rodríguez, F., Sánchez Herrera, T., y Naranjo Herrera, J.C. 2019. Evaluación “*in vitro*” de la Actividad Antifúngica del Aceite Esencial de Canela (*Cinnamomum zeynalicum*) Sobre *Botrytis* sp. Aislado de Mora de Castilla (*Rubus glaucus*). 15(12):377-393.
- Hidalgo, P.J., Ubera, J.L., Santos, J.A., LaFont, F., Castelanos, C., Palomino, A. and Roman, M. 2002. Essential oils in *Culamintha sylvatica*. *Broma. spp. Ascendens* (Jordan) P.W. Ball wild and cultivated productions and antifungal activity. *J. Essential Oil Res.* 14:68-71.
- Husain A, Virmani P, and Misra .N. 1989. The major essential oil-bearing plants of India. Lucknow, India: Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants (CSIR). 49 p.
- Janick, J., and Paull, R. E. *Diospyros digyna* black Zapote. 2008. In *The Encyclopedia of Fruit & Nuts*; Janick, J., Paull, R. E., Eds.; CABI North American Office: Cambridge, MA, pp 324–326.
- Knogge, W. 1996. Fungal Infection of Plants. *The Plant Cell.* 8: 1711-1722.

- Kowalska, J., Tyburski, J., Krzywińska, J. y Jakubowska, M. 2020. Cinnamon powder: an *in vitro* and *in vivo* evaluation of antifungal and plant growth promoting activity. *Eur J Plant Pathol*, 237-243.
- Kubeczka, K.H. Essential oils analisis by capillary gas chromatography and Carbon-13 nmr Spectroscopy. 2ª. Ed. Nueva York, John Wiley, 2002. 461 p.
- Lal, M. C., Chaudhary, S., Rawal, S., Sharma, S., Kumar, M., Chakrabarti, SK. 2021. Evaluation of bio-agents and neem based products against late blight disease (*Phytophthora infestans*) of potato. *Indian Phytopathology*, 181-187.
- Lamour, K.H., Stam, R., Jupe, J. and Huitema, E. 2012. The oomycete broad-host-range pathogen *Phytophthora capsici*. *Molecular Plant Pathology* 13(4):329-337. DOI: 10.1111/j.1364-3703.2011.00754.x
- Landero Valenzuela, N., Nieto-Ángel, D., Téliz Ortiz, D., Alatorre Rosas, R., Orozco Santos, M. & Ortiz García, C. F. 2013. Potencial antifúngico de extractos de cuatro especies vegetales sobre el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* en papaya (*Carica papaya*) en poscosecha. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos.*, 47-62.
- Legge, A.P. 1994. Notes on History Cultivation and Uses of *Physalis peruviana* L. *Journal of the Royal Horticultural Society*, vol. 99, n°7, pp. 310-314.
- Leonti, M., Cabras, S., Castellanos, M.A., Challenger, A., Gertsch, J. and Casu, L. 2013. Bioprospecting: Evolutionary implications from a post-olmec pharmacopoeia and the relevance of widespread taxa. *J. Ethnopharmacol.* 147: 92–107.
- Liau, Y., and Soetaredjo, F. 2008. Extraction of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) using N-hexane and ethanol, studies of quality, kinetic and thermodynamic. *ARP Journal of Engineering and Applied Sciences*, 3(3): 49-54.

- López-Benítez, A., López-Betancourt, S.R., Vázquez-Badillo, M.E., Rodríguez-Herrera, S.A., Mendoza-Elos, M. y Padrón-Corral, E. 2005. Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb. mediante extractos vegetales acuosos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(2): 183-190.
- López-Benítez, A. y Marcos-Cruz, D. 2002. Efecto de algunos extractos vegetales acuosos en el desarrollo micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Rhizoctonia solani* y *Verticillium dahliae* en medio de cultivo papa-dextrosa-agar. Memorias del XXIX Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Monterrey, Nuevo León, México. Resumen F-149.
- López, P.Y., Angulo, E.M., Martínez, R.C., Soto, B.J., y Chaidez, Q.C. 2007. Efecto antimicrobiano de extractos crudos de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) y venadillo (*Swietenia humilis* Zucc) contra *E. coli*, *S. aureus* y el bacteriófago P22. *Bioquímica*. 32(4): 117-125.
- Molinas, M. Frigoconservación y Manejo de Frutas, Flores y Hortalizas. Barcelona, AEDOS, 1970. 209 p.
- Montes, B.R. 2000. Evaluación de plantas antifúngicas y su potencial aplicación en la fitosanidad. Memorias del VI Simposio Nacional sobre sustancias vegetales y minerales en el combate de plagas. Acapulco, Guerrero, México. p. 111-121.
- Montes-Belmont, R. and Carvajal, M. 2009. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. *Journal of Food Protection*. 61(5): 616-619.
- Niaz, I., Sitara, U., Kazmi, S.A.R., Qadri, S. 2008. Comparison of antifungal properties of neem seed oil collected from different parts of Pakistan. *Revista Pakistani de Botánica*, 403-408

- Nuez, F., Gil, R. y Costa, J. 1996. El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Ediciones Mundi Prensa. Madrid.
- Ochoa-Fuentes, Y. M., Cerna Chávez, E., Landeros Flores, J., Hernández Camacho, S. y Delgado Ortiz, J. C. 2012. Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de cuatro extractos vegetales metanólicos para el control de tres especies de *Fusarium* spp. *PHYTON*. 81: 69-73.
- Olguín-Hernández, G., Valdovinos-Ponce, G., Cadena-Iñiguez, J. y Arévalo-Galarza, M.L. 2013. Etiología de la Marchitez de Plantas de Chayote (*Sechium edule*) en el Estado de Veracruz. *Revista mexicana de fitopatología*. 31(2):161-169.
- Olguín-Hernandez, Cadena-Iñiguez, J., Arevalo-Galarza, Ma de Lourdes C., Valdez-Carrasco, J., Rosas-Saito, G. H., Tlapal-Bolaños, B. . 2017. *Organismos asociados al chayote*. México: Colegio de Postgraduados.
- Olguín-Hernandez, Cisneros-Solano, & Acosta-Ramos. 2011. Hongos asociados a síntomas de enfermedades en chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw) y estrategias de manejo. México: Agroproductividad.1
- Orozco-Sánchez, F. y Rodríguez-Monroy, M. 2007. Cultivos de células en suspensión de *Azadirachta indica* para la producción de un bioinsecticida. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 6(3):251-258.
- Pandey, D. K., Tripathi, N. N., Tripathi, R.D. y Dixit, S.N. 1982. Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 344-349.

- Panizo, M. M., Reviákina, V., Montes, W., González, G. 2005. Mantenimiento y preservación de hongos en agua destilada y aceite mineral. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 25(1): 35-40.
- Pazmiño-Miranda, P., Velástegui-Espín, G. P., Curay, S., Yáñez-Yáñez, W., & Vásquez, C. 2017. Effect of hydro-ethanolic extracts of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) and common horsetail (*Equisetum arvense* L.) on incidence and severity of *Botrytis cinerea* on strawberry. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 29-38.
- Pino, J. A., Ortiz-Vázquez, E., Sauri-Duch, E. and Cuevas-Glory, L. 2014. Characterization of aroma-active compounds in black Zapote (*Diospyros digyna* Jacq.). *Acta Aliment.* 43(4), 547–552.
- Ploetz, R., Heine, G., Haynes, J. and Watson, M. 2002. An investigation of biological attributes that may contribute to the importance of *Phytophthora capsici* as a vegetable pathogen in Florida. *Ann Appl Biol.* 140:61-67. DOI: 10.1111/j.1744-7348.2002.tb00157.x
- Plotto, A., Roberts, D.D., Roberts, R.G. 2003. Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) *ISHS Acta Horticulturae* 628: 737-745.
- Ramírez-Briones, E., Rodríguez-Macías, R., Salcedo-Pérez, E., Ramírez-Chávez, E., Molina-Torres, J., Tiessen, A., Ordaz-Ortiz, J., Martínez-Gallardo, N., Délano-Frier, J. P. y Zañudo-Hernández, J. 2019. Seasonal changes in the metabolic profiles and biological activity in leaves of *Diospyros digyna* and *D. rekoi* “Zapote” trees. *Plants*. 8(11): 449.
- Ramírez-González, S. I., López Báez, O., Espinosa Zaragoza, S., y Wong Villarreal, A. 2016. Actividad antifúngica de hidrodestilados y aceites sobre *Alternaria solani*, *Fusarium*

- oxysporum* y *Colletotrichum gloesporioides*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 1879-1891.
- Ramos, C., González, V., Soto, M., Engleman, E., y Rodríguez, D. 2004. Variación en contenido de azadiractina en frutos de margosa durante su desarrollo. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 27:81-85.
- Rauf, A., Uddin, G., Patel, S., Khan, A., Halim, S.A., Bawazeer, S., Ahmad, K., Muhammad, N., Mubarak, M.S. 2017. *Diospyros*, an under-utilized, multi-purpose plant genus: A review, *Biomedicine & Pharmacotherapy*. Vol. 91: 714-730. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.012>.
- Rauf, A., Uddin, G., Siddiqui, B. S., and Khan, H. 2015. *In vivo* sedative and muscle relaxants activity of *Diospyros lotus* L. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 5(4): 277–280.
- Rawat, K., Sahoo, U. K., Hegde, N., & Kumar, A. 2017. Effectiveness of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) Oil against Decay Fungi. *Science and Technology Journal*, 48-51.
- Reyes-Tena, A., Rodríguez-Alvarado, G., Fernández-Pavía, S.P., Pedraza-Santos, M.E., Larsen, J. y Vázquez-Marrufo, G. 2021. Caracterización morfológica de aislados de *Phytophthora capsici* provenientes de Jalisco y Michoacán, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 1-19.
- Rodríguez, P. A. T.; Ramírez, A. M. A.; Bautista, B. A.; Cruz, T.A., y Rivero, D. 2012. Actividad antifúngica de extractos de *Acacia farnesiana* sobre el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. *Rev. Científica UDO Agrícola*. 12(1). 91-96.
- Romero-Velazquez, S.D., Tlapal-Bolaños, B., Cadena-Iñiguez, J., Nieto-Ángel, D., y Arévalo-Galarza, M. L. 2015. Hongos causantes de enfermedades postcosecha en chayote (*sechium edule* (jacq.) Sw.) y su control *in vitro*. *Agronomía Costarricense*, 39(2):19-32.

- Salgado-Garciglia, R., Pérez-López, H., García-Munguía, A.M. y Loeza-Lara, P.D. 2019. Revista Alter, Enfoques Críticos. Año X, Núm. 20: 17-27.
- SIAP. 2021. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (consultado 12 de febrero de 2021).
- Singh, J. and Tripathi, N.N. 1999. Inhibition of storage fungi of black gram (*Vigna mungo* L.) by some essential oils. Flavour Fragrance J. 14:42-44.
- Soliman, K.M. and Badeaa, R.I. 2002. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Food Chem. Toxicol. 40(11):1669-1675.
- Surapuram, V., Setzer, W. N., McFeeters, R. L. and McFeeters, H. 2014. Antifungal activity of plant extracts against *Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer*. Nat. Prod. Commun. 9(11): 1603.
- Tasiwal, V., Benagi, V.I., Hedge, Y.R., Kamanna, B.C., and Naik, K.R. 2009. *In vitro* evaluation of botanicals, bioagents and fungicides against anthracnose of papaya caused by *Colletotrichum gloeosporoides* (Penz.) Penz. & Sacc. Karnataka J. Agric. Sci. 22(4):803-806.
- Toledo, T. E. 2001. Propiedades insecticidas de algunas especies de *Ipomoea* (Convolvulaceae) del Estado de Morelos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 50 p.
- Umaña-Rojas, G. 2010. Principales problemas fitopatológicos en frutos tropicales de Costa Rica durante el transporte y alternativas para su control. En V. H. Escalona Contreras, A. Hinojosa Moreno, E. C. Correa Hernando, y M. Ruiz-Altisent (Eds.). Evaluación no destructiva de la calidad e implementación en la industria frutícola (pp. 28-51). Reunión

- Científico Técnica FRUTURA de Santiago (Chile)- 2010. Volumen 3. ISBN: 978-84-697-0017-4.
- Unlu, M., Ergene, E., Unlu, G., Zeytinoglu, H. y Vural, N. 2010. Composition, antimicrobial activity and *in vitro* cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). *Food and Chemical Toxicology*. 48(11): 3274–3280.
- Valverde, E., Saenz, M.V., Vargas, E. 1989. Estudios preliminares para la conservación de la fruta del chayote después de la cosecha. *Agronomía Costarricense* 13(1): 25-33.
- Velluti, A., Sanchis, V., Ramos, A.J., Egido, J. and Marin, S. 2003. Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. *Int. J. Food Microbiol.* 89(2-3):145-154.
- Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, R., Morales-Morales, H. A., Basurto-Sotelo, M., Soto-Parra, J. M., y Martínez-Escudero, E. 2015. Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*, 64(2):194 - 205. <https://doi.org/10.15446/acag.v64n2.43358>
- Villar, M.C., Ayala, O.J.L., Rodríguez, H.C. y Lagunes, T.A. 1990. Utilización de infusiones y extractos acuosos vegetales en el combate del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en San Luis Potosí. *Revista Chapingo*. 15: 105-107.
- Wallnöfer, B. 2007. A revision of neotropical *Diospyros* (Ebenaceae) part 1. *Ann. Nat. Mus. Wien*, 108: 207–247.

- Yahia, E.M., Gutierrez-Orozco, F. and Arvizu-de León, C. 2011. Phytochemical and antioxidant characterization of the fruit of black Zapote (*Diospyros digyna* Jacq.). Food Research International. 44: 2210-2216.
- Zitter, A. T., Hopkins L. D. and Thomas, E. C. 1996. Compendium of cucurbit diseases. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. pp: 20-22.
- Zulueta-Rodríguez, R., Trejo-Aguilar, D., Trigos-Landa, A. 2007. El maravilloso mundo de los hongos. Editorial Universidad Veracruzana, Xalapa Veracruz, México. 91-102 p.

Anexos

Efecto extracto de canela

*Fusarium oxisporum*

<i>F. oxisporum</i> C 400	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>F. oxisporum</i> C350	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>F. oxisporum</i> C300	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

*Fusarium solani*

<i>F. solani</i> c400	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>F. solani</i> C350	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>F. solani</i> C300	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

*Phytophthora capsici*

<i>P. capsici</i> C400	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>P. capsici</i> C350	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>P. capsici</i> C300	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

*Geotrichum* sp.

<i>Geotrichum</i> sp. C400	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

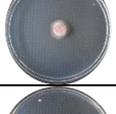
<i>Geotrichum</i> sp. C350	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>Geotrichum</i> sp. C300	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

Efecto de extracto de Neem

*Fusarium oxisporum*

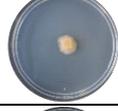
<i>F. oxisporum</i> N400	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>F. oxisporum</i> N350	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>F. oxisporum</i> N300	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

*Fusarium solani*

<i>F. solani</i> N400	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>F. solani</i> N350	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>F. solani</i> N300	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

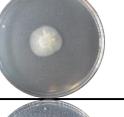
*Phytophthora capsici*

<i>P. capsici</i> N400	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>P. capsici</i> N350	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>P. capsici</i> N300	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

*Geotrichum* sp.

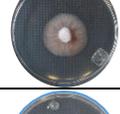
<i>Geotrichum</i> sp. N400	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

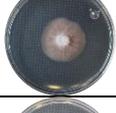
<i>Geotrichum</i> sp. N 350	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

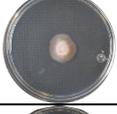
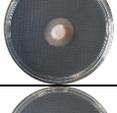
<i>Geotrichum</i> sp. N300	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

Efecto extracto de zapote

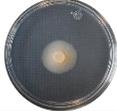
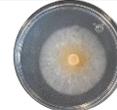
*Fusarium oxisporum*

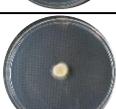
<i>F. oxisporum</i> Z400	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

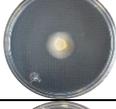
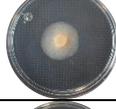
<i>F. oxisporum</i> Z350	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>F. oxisporum</i> Z300	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

*Fusarium solani*

<i>F. solani</i> Z400	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>F. solani</i> Z350	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>F. solani</i> Z300	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

*Phytophthora capsici*

<i>P. capsici</i> Z400	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

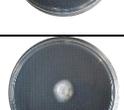
<i>P. capsici</i> Z350	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>P. capsici</i> Z300	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

*Geotrichum* sp.

<i>Geotrichum</i> sp. Z400	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>Geotrichum</i> sp. Z350	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							

<i>Geotrichum</i> sp. Z300	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Control							
T1							
T2							
T3							
T4							
T5							
T6							