

EFECTO ANTIFÚNGICO DE EXTRACTOS DE PLANTAS ORIGINARIAS DEL ESTADO DE PUEBLA SOBRE *COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES*

¹Patricia Aguilar-Alonso, ¹Addí Rhode Navarro-Cruz, ¹Alexandra Briseida Sánchez-Flores, ²María de la Cruz Meneses-Sánchez y ¹Raúl Ávila-Sosa*

¹Departamento de Bioquímica-Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.

²Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Ciudad Universitaria, Edificio 105E, CP 72570, Puebla, Puebla, México.

*Autor para correspondencia: raul.avila@correo.buap.mx

ANTIFUNGAL EFFECT OF PLANT EXTRACTS FROM THE STATE OF PUEBLA ON *COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES*

Fecha de Recepción: 14 de marzo de 2013.

Fecha de Aceptación: 07 de junio de 2013.

RESUMEN

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Penz. & Sacc., es el agente causal de la antracnosis, una enfermedad que causa pérdidas considerables en la producción de frutos tropicales. El objetivo de este estudio fue evaluar extractos vegetales de plantas que crecen comúnmente en el estado de Puebla y que puedan inhibir a *C. gloeosporioides*. Extractos oleosos y etanólicos de hojas de capulín (*Prunus serotina* subsp. *Capuli*), nogal (*Juglans regia*), pirul (*Schinus molle*), ruda (*Ruta chalepensis*) y marubio (*Marrubium vulgare*) fueron obtenidos, y se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI), empleando diferentes concentraciones de extractos oleosos y etanólicos (150 a 2000 mg L⁻¹). Con los resulta-

dos obtenidos de la CMI se evaluó el crecimiento radial a concentraciones menores y se ajustaron al modelo de Gompertz modificado para evaluar el crecimiento máximo en la fase estacionaria, la fase lag y la velocidad máxima de crecimiento. Tanto los extractos oleosos de ruda (500 mg L⁻¹) y capulín (750 mg L⁻¹), como los extractos etanólicos de ruda (150 mg L⁻¹) y pirul (300 mg L⁻¹), presentaron la mayor inhibición sobre *C. gloeosporioides*, afectando significativamente ($P < 0.05$) las variables crecimiento máximo y velocidad de crecimiento radial (en un 60 % de reducción) del fitopatógeno.

PALABRAS CLAVE: *Prunus serotina* subsp. *Capuli*, *Schinus*

molle, *Ruta chalepensis*, antimicrobianos de origen natural.

ABSTRACT

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Penz. & Sacc. is the causal agent of anthracnose, a fungal disease that causes considerable losses in postharvest of tropical fruits production. The aim of this study was to evaluate plant extracts that commonly grow in the State of Puebla, which can inhibit *C. gloeosporioides*. and ethanol extracts from the leaves of capulín (*Prunus serotina* subsp. *Capuli*), nogal (*Juglans regia*), pirul (*Schinus molle*), ruda (*Ruta chalepensis*) and marubio (*Marrubium vulgare*) leaves were obtained. Minimum inhibitory concentration (MIC) was determined using different

concentrations of the extracts (150 to 2000 mg L⁻¹). Radial growth was evaluated with concentrations below the MIC values; data were fitted to the modified Gompertz model to evaluate maximum growth in the stationary phase, the lag phase and the maximum growth rate. Chloroform extracts of ruda (500 mg L⁻¹), capulín (750 mg L⁻¹) and ethanol extracts of ruda (150 mg L⁻¹) and pirul (300 mg L⁻¹) showed an antifungal effect on *C. gloeosporioides*, significantly affecting ($P < 0.05$) maximum growth and radial growth rate of the phytopathogen fungi (60 % of growth inhibition).

KEYWORDS: *Prunus serotina* subsp. *Capuli*, *Schinus molle*, *Ruta chalepensis*, natural antimicrobials.

INTRODUCCIÓN

La antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., es una de las enfermedades que afecta a frutos de importancia comercial, sobre todo en regiones con temperaturas y humedades relativas elevadas. Generalmente se presenta en todas las etapas fenológicas del cultivo, y causa pérdidas considerables en la producción, pre-cosecha y postcosecha de frutos tropicales como mango y papaya. En México esta enfermedad se encuentra diseminada en las entidades federativas donde se producen frutas tropicales y subtropicales, con ataques destructivos en la floración, fructificación y postcosecha.

El patógeno afecta hojas, ramas, inflorescencias y frutos, ocasionando severos daños que demeritan la calidad externa e interna de los frutos en cosecha y poscosecha, lo que causa pérdida de valor comercial y menor rendimiento por unidad de superficie. La enfermedad inicia con manchas pequeñas y redondas, tornándose acuosas y de color oscuro cuando está en estado avanzado. Además de provocar daño superficial, la lesión también penetra en el fruto deteriorando la pulpa, provocando que los frutos se pudran totalmente y se desprendan de la planta con facilidad (Suzuki y col., 2010; Intra y col., 2011).

Comúnmente el control de la antracnosis se lleva a cabo mediante la aplicación de compuestos químicos como el proclorax, oxiclورو de cobre, captan, ortocida, carbendazina, clorotalonil y la combinación de sulfato cúprico y cal hidratada, cuya aplicación repetitiva ha generado resistencia por el patógeno (Huerta y col., 2009; Bobbarala y col., 2009).

Como una alternativa a esta

problemática, desde hace tiempo se sabe que las plantas producen compuestos antimicrobianos que pueden estar presentes en diferentes órganos, es decir, semillas, hojas, flores, etc., que se pueden usar para controlar enfermedades en productos hortofrutícolas. En este contexto, extractos de plantas de las familias botánicas Sapotaceae (*Achras sapota*, *Chrysophyllum cainito* y *Pouteria sapota*), Fabaceae (*Pachyrhizus erosus*), leguminosas (*Phytocellulose dulce*), solanáceas (*Cestrum nocturnum*) y Verbenaceae (*Lantana camara*) proporcionaron una serie de productos derivados (flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos), que han mostrado un efecto antimicrobiano en diversas enfermedades fúngicas de frutos como *C. gloeosporioides*, *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp. y *Mucor* spp. (Bautista-Baños y col., 2002; 2008, Barrera-Necha y col., 2003, 2004; Chukwuemeka y Anthonia, 2010). En los últimos años se han reportado alrededor de 40 especies de plantas diferentes para controlar *C. gloeosporioides* (Hernández-Albiter y col., 2005, 2007; Barrera y col., 2008; Bluma y col., 2008; Brand y col., 2010; Ávila-Sosa y col., 2011). Por tanto, el objetivo de este estudio fue el de evaluar extractos vegetales de plantas que crecen en el estado de Puebla como inhibidores del agente causal de la antracnosis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

Hojas de capulín (*Prunus serotina* subsp. *Capuli*), nogal (*Juglans regia*), pirul (*Schinus molle*), ruda (*Ruta chalepensis*) y marubio (*Marrubium vulgare*) fueron recolectadas en la población de Santa María Nenetztintla, Puebla, México. La identificación taxonó-

mica se realizó en el Herbario y Jardín Botánico de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), las muestras fueron secadas a temperatura ambiente (20 ± 5 °C) y se molieron utilizando una licuadora (Osterizer blender 4655-13, México, D.F.), el polvo resultante se guardó en frascos de vidrio en un lugar seco a temperatura ambiente.

Obtención de extractos

Los extractos oleosos se obtuvieron mediante extracción en Soxhlet. Se colocaron en la parte media del cuerpo extractor del sistema, cartuchos de papel filtro (Whatman no. 2) con aproximadamente 16 g de hojas molidas, se usó cloroformo como solvente (Aldrich Chemical Co. México, D.F.); y se realizó una extracción continua por 2 h; para separar el solvente del extracto se realizó una destilación simple en rotavapor (Yamato RE200, Santa Clara, CA. USA) a 65 °C (Ávila-Sosa y col., 2011). Para los extractos etanólicos, se colocaron en un frasco de vidrio estéril con tapa 5 g de hojas molidas y 25 mL de alcohol etílico absoluto (Aldrich Chemical Co. México, D.F.), el frasco se cerró, se agitó mecánicamente hasta humedecer completamente el polvo de hojas y se guardó en un lugar limpio y seco, permaneciendo en reposo 24 h, a temperatura ambiente (20 ± 5 °C); después la mezcla se filtró y se separó el solvente con un rotavapor (Yenjita y col., 2010).

Aislamiento e identificación de

Colletotrichum gloeosporioides *C. gloeosporioides* fue aislado según lo reportado por Peraza y col. (2005) a partir de papayas (*Carica papaya* L.) con síntomas claros de antracnosis. Se limpió con hipoclorito de sodio (Aldrich Chemical Co. México,

D.F.) el contorno del área con las características de la infección, y se realizó un raspado con asa estéril, después se inoculó en Papa Dextrosa Agar (PDA) (Merk, México, D.F.) y se incubó a 28 ± 2 °C por 12 días, hasta observar que la muestra presentara un desarrollo completo en las cajas. Las colonias con mayor coincidencia morfológica a la reportada en la bibliografía fueron seleccionadas para un microcultivo. Finalmente se realizó la observación microscópica (Zeiss Primo Star, Gottingen, Alemania) con azul de lactofenol (Merk, México, D.F.).

Evaluación de la CMI y ensayo antifúngico

Para determinar la CMI se utilizaron placas de PDA a las que se agregaron diferentes concentraciones de los extractos oleosos y etanólicos (150, 300, 450, 600, 750, 900, 1200, 1500, 1800 y 2000 mg L⁻¹). Se utilizaron testigos del crecimiento del hongo con PDA, PDA + cloroformo y PDA + etanol. Cada placa fue inoculada con un asa que contenía esporas del hongo en el centro de la misma y se incubaron a 18 ± 2 °C en estufa de cultivo (BG E-41, México, D.F.) por 11 días, tiempo en el que se observó un crecimiento completo sobre la placa control de PDA. Se determinó la CMI con la ausencia de crecimiento del hongo (Voda y col., 2008).

Para el ensayo antifúngico se hizo crecer el hongo por 7 días en PDA, posteriormente se vertieron 10 mL de agua destilada y se raspó con asa estéril hasta recuperar una suspensión de esporas, las cuales se cuantificaron con un hemocitómetro (Sigma Bright-Line, Kansas City, KA USA) y microscopio (Zeiss Primo Star, Gottingen, Alemania) para determinar el número de esporas por mL. Se prepararon placas de PDA con los extractos usando concentraciones inferiores a las

mínimas inhibitorias determinadas y en el centro de las mismas se colocaron 20 μL de una solución de esporas a una concentración aproximada de 107 esporas mL^{-1} , se incubaron a 18 ± 2 °C por 11 días. El crecimiento radial se midió cada 24 h hasta que las placas control de PDA presentaron un crecimiento completo (Ortiz y col., 2006). Todos los ensayos se realizaron por cuadruplicado.

Análisis de datos y modelización: Debido a que las curvas de crecimiento en el ensayo antifúngico presentaron un comportamiento no lineal los datos fueron ajustados a la ecuación de Gompertz modificada:

$$\ln\left(\frac{D_t}{D_0}\right) = A \exp(-\exp(v_{\max} * e / A)(\lambda - t) + 1)$$

donde D_0 es el diámetro en cm al tiempo cero, D_t es el diámetro de la colonia a un tiempo t , A es el crecimiento máximo del hongo en la fase estacionaria (cm), λ es la fase lag del hongo (días), v_{\max} es la velocidad máxima de crecimiento (cm d^{-1}), y $e = \ln^{-1}(1)$ (Char

y col., 2007). Los datos obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza con un nivel de confianza del 95 %, para el análisis de medias se utilizó la prueba de Tukey con ayuda del programa Minitab 14 (Minitab Inc. Minneapolis MIN, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las CMI en las que se observó una inhibición visible sobre el crecimiento in vitro de *C. gloeosporioides*, fueron diferentes para los extractos oleosos y etanólicos de cada especie. Como se observa en la Tabla 1, se experimentó hasta una concentración máxima de 2000 mg L^{-1} , en donde los extractos oleosos y etanólicos de marubio y el extracto oleoso de nogal no mostraron efecto inhibitorio. Los que presentaron la CMI más baja fueron los extractos etanólicos de ruda (150 mg L^{-1}) y pirul (300 mg L^{-1}), estas concentraciones son menores a las reportadas por Ávila-Sosa y col. (2011), quienes utilizaron extractos etanólicos de orégano mexicano, jarilla y pericón con una CMI de 400 mg

Tabla 1.

Concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de los extractos etanólicos y oleosos de capulín (*Prunus serotina* subsp. *Capuli*), nogal (*Juglans regia*), pirul (*Schinus molle*), ruda (*Ruta chalepensis*) y marrubio (*Marrubium vulgare*) sobre la inhibición de *C. gloeosporioides*.

Table 1. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of ethanolic and chloroform extracts of capulín (*Prunus serotina* subsp. *Capuli*), nogal (*Juglans regia*), pirul (*Schinus molle*), ruda (*Ruta chalepensis*), and marrubio (*Marrubium vulgare*) on *C. gloeosporioides* inhibition.

PLANTA	CMI (mg L^{-1})	
	EXTRACTOS ETANÓLICOS	EXTRACTOS OLEOSOS
Capulín	1800	750
Nogal	1800	(-)
Pirul	300	1200
Ruda	150	500
Marrubio	(-)	(-)

(-) No presentó CMI a concentración máxima de 2000 mg L^{-1} .

L^{-1} , evidenciando con esto que las especies de ruda y pirul presentaron un mayor efecto inhibitorio a una menor concentración.

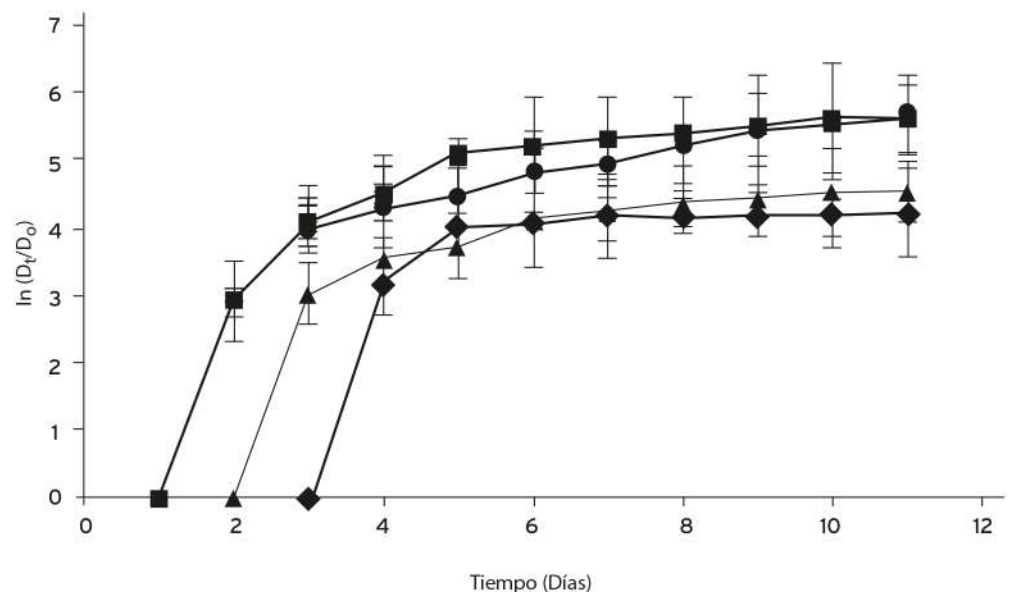
Ensayo antifúngico y modelización del crecimiento radial El crecimiento de *C. gloeosporioides* se vio afectado de manera diferente para los extractos oleosos

y etanólicos de cada especie. De acuerdo con la Figura 1, se observa que la fase de adaptación en el extracto oleoso de ruda es más alargada que en los testigos y en el extracto de capulín, las fases exponenciales para el control sin extracto y sin cloroformo son similares, lo que demuestra que el uso del cloroformo como sol-

Figura 1.

Crecimiento de *C. gloeosporioides* (■) en presencia de cloroformo (●) y los extractos oleosos de ruda (◆ 500 mg L^{-1}) y capulín (▲ 750 mg L^{-1}) durante 11 días.

Figure 1. Growth curves of *C. gloeosporioides* (■) with chloroform (●) and chloroform extracts of ruda (◆ 500 mg L^{-1}) and capulín (▲ 750 mg L^{-1}) for 11 days.



vente de extracción no afecta a *C. gloeosporioides*. La fase exponencial que presenta *C. gloeosporioides* en los extractos oleosos se ve afectada por la concentración de los extractos de capulín y ruda presentes en el medio de cultivo generando una disminución en el crecimiento radial. Con respecto a los extractos etanólicos se observa en las curvas de crecimiento (Figura 2) que la fase lag y la fase exponencial se ven modificadas en los extractos de pirul y ruda; se presenta un efecto fungistático por parte de los extractos, ya que retrasa la adaptación y el crecimiento normal de *C. gloeosporioides* al medio de cultivo; el extracto etanólico de ruda posee principios activos que provocan que el hongo necesite más tiempo de adaptación disminuyendo el crecimiento exponencial.

Al realizar la modelización matemática de las curvas de crecimiento radial (Tabla 2) con la ecuación de Gompertz, éstas mostraron un coeficiente de correlación promedio de $0.9853 \pm$

0.034 , lo que confirma un adecuado ajuste del modelo matemático. La obtención de las variables biológicas derivadas de esta ecuación sirven para describir el efecto del desarrollo de *C. gloeosporioides* (Figura 2) en ausencia y presencia de los extractos con actividad antifúngica, y confirman lo visto en las cinéticas de crecimiento. Existen diferencias significativas ($P < 0.05$) para los valores de crecimiento máximo (A) y velocidad máxima de crecimiento (v_{max}) entre los extractos etanólicos de capulín, nogal, pirul y ruda, el extracto oleoso de ruda y los testigos, siendo los extractos de ruda los que presentan la mayor actividad antifúngica (150 mg L^{-1}). En general a concentraciones menores a las CMI de los extractos disminuye la velocidad de crecimiento de *C. gloeosporioides*, lo que sugiere que los principios activos actúan como compuestos tóxicos que afectan a las células y provocan su disminución en el crecimiento radial. No hubo diferencias significativas ($P < 0.05$) para los valor-

Tabla 2.

Valores de la ecuación de Gompertz \bar{Y} (media \pm desviación estándar) para los extractos etanólicos y oleosos de capulín (*Prunus serotina* subsp. *Capuli*), nogal (*Juglans regia*), pirul (*Schinus molle*) y ruda (*Ruta chalepensis*) sobre la inhibición de *C. gloeosporioides*.

*Table 2. Gompertz \bar{Y} parameters (mean \pm standard deviation) for ethanolic and chloroform extracts of capulín (*Prunus serotina* subsp. *Capuli*), nogal (*Juglans regia*), pirul (*Schinus molle*) y ruda (*Ruta chalepensis*) on *C. gloeosporioides* inhibition.*

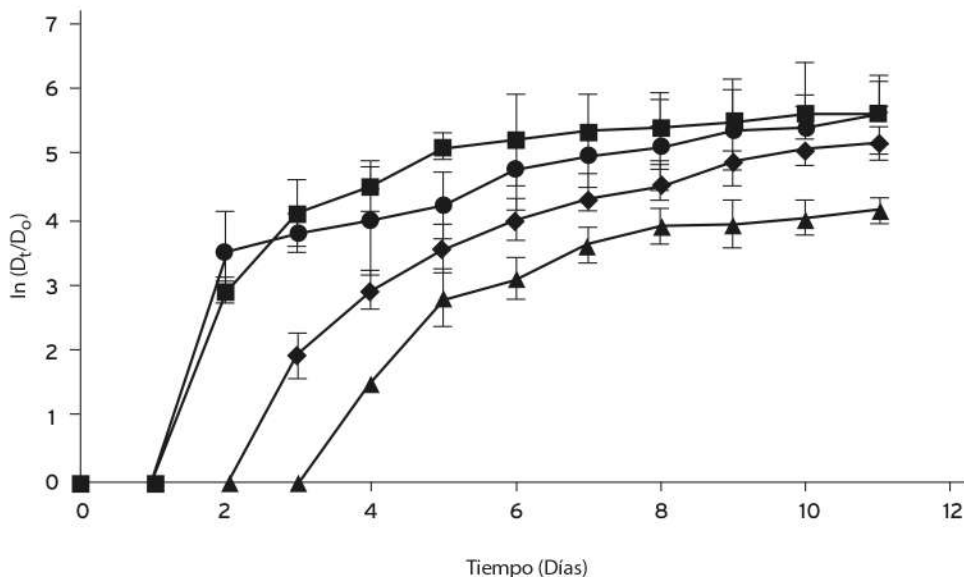
	A Crecimiento Máximo	v_{max} (cm d ⁻¹) Velocidad de Crecimiento	λ (d) Fase lag
EXTRACTOS OLEOSOS			
Testigo	6.27 \pm 0.56 ^a	0.59 \pm 0.03 ^a	2.42 \pm 0.02 ^a
Testigo + Cloroformo	4.85 \pm 0.15 ^a	0.62 \pm 0.03 ^a	2.82 \pm 0.24 ^a
Pirul 1200 mg L ⁻¹	5.27 \pm 0.39 ^a	0.42 \pm 0.02 ^b	2.02 \pm 0.29 ^a
Capulín 750 mg L ⁻¹	6.23 \pm 0.83 ^a	0.43 \pm 0.02 ^b	2.78 \pm 0.40 ^a
Ruda 500 mg L ⁻¹	3.11 \pm 0.73 ^b	0.37 \pm 0.04 ^b	2.69 \pm 0.32 ^a
EXTRACTOS ETANÓLICOS			
Testigo	6.27 \pm 0.56 ^a	0.59 \pm 0.03 ^a	2.42 \pm 0.02 ^a
Testigo + Etanol	7.25 \pm 1.89 ^a	0.59 \pm 0.00 ^a	2.82 \pm 0.79 ^a
Capulín 1800 mg L ⁻¹	5.20 \pm 0.15 ^a	0.68 \pm 0.07 ^a	2.30 \pm 0.09 ^a
Nogal 1800 mg L ⁻¹	5.25 \pm 0.21 ^b	0.48 \pm 0.03 ^a	2.67 \pm 0.35 ^a
Pirul 300 mg L ⁻¹	5.58 \pm 0.43 ^b	0.56 \pm 0.08 ^a	2.48 \pm 0.22 ^a
Ruda 150 mg L ⁻¹	3.11 \pm 0.39 ^c	0.32 \pm 0.03 ^b	2.73 \pm 0.05 ^a

^{a,b,c} Medias con distinta letra en columnas para cada tipo de extracto son estadísticamente diferentes (Tukey $P < 0.05$).

Figura 2.

Crecimiento de *C. gloeosporioides* (■) en presencia de etanol (●) y los extractos etanólicos de pirul (◆ 300 mg L⁻¹) y ruda (▲ 150 mg L⁻¹) durante 11 días.

*Figure 2. Growth curves of *C. gloeosporioides* (■) with ethanol (●) and ethanolic extracts of pirul (◆ 300 mg L⁻¹) and ruda (▲ 150 mg L⁻¹) for 11 days.*



es de fase lag (λ) entre los extractos y los testigos.

Tanto López-Malo y col. (2005) como Helal y col. (2007) coinciden en afirmar que los antimicrobianos de origen natural provocan en mohos daños irreversibles en paredes, membranas y organelos celulares, polarizando el potencial de membrana y alterando la doble capa lipídica provocando un mayor flujo de electrones en la misma y alterando su homeostásis. Sangeetha y col. (2013) afirman que la mayoría de extractos derivados de plantas contienen una alta concentración de compuestos fenólicos que son capaces de reducir la velocidad de crecimiento del patógeno afectando a los sitios activos de las enzimas y el metabolismo celular. De Costa y Gunawardhana (2012) y Sellamuthua y col. (2013) reportan que los componentes de diversos extractos derivados de plantas mostraron una capacidad de aumentar la capacidad antioxidante y la capacidad de absorción de oxígeno en los tejidos vegetales, incluyendo en los sistemas enzimáticos y no enzimáticos. La influencia de estos componentes puede causar un gran impacto en la mejora de la resistencia de los tejidos de las plantas frente a patógenos y reducir el deterioro fisiológico (Tzortzakis, 2010; Maqboola y col., 2012; Shi y col., 2012).

Los resultados presentes muestran valores similares de inhibición de *C. gloeosporioides* utilizando diferentes extractos de plantas a los obtenidos por Ávila-Sosa y col. (2011), quienes encontraron efectos similares con extractos etanólicos y oleosos de pericón (*Tagetes lucida*), jarilla (*Baccharis salicifolia*) y orégano (*Lippia berlandieri* var. Scanner).

Bolívar y col. (2009) lograron inhibir *C. gloeosporioides* con extractos de rabo de alacrán (*Heliotropium indicum*) a concentraciones superiores a 2000 mg L⁻¹ sólo que utilizaron la técnica de papel impregnado, y Guerrero y col. (2007) reportaron la inhibición de *C. gloeosporioides* con extractos de la planta conocida como hojasén (*Flourensia cernua*) a 500 mg L⁻¹, y demostraron un mayor efecto fungicida al usar una mezcla de metanol-cloroformo, encontrando un porcentaje de inhibición micelial a concentración de 4000 mg L⁻¹. Baños y col. (2004) utilizaron concentraciones similares a las de este trabajo con extractos de ajo (*Allium sativum*), hierba santa (*Piper auritum*) y eucalipto (*Eucalyptus globulus*) para inhibir *C. gloeosporioides*. Otros estudios como el de Hernández y col. (2007), encontraron reducciones significativas sobre el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* de extractos acuosos de ajo (*Allium sativum* L.), acuyo (*Piper auritum* HBK.), guayaba (*Psidium guajava* L.) y eucalipto blanco (*Eucalyptus globulus* Labill.), evidenciando un efecto fungistático selectivo que dependió de la especie de la planta y del patógeno.

CONCLUSIONES

Los extractos de ruda (*Ruta chalepensis*), pirul (*Schinus molle*) y capulín (*Prunus serotina* subsp. *Capuli*) presentan, en condiciones *in vitro*, la mayor inhibición del crecimiento radial sobre *C. gloeosporioides*. Todos los extractos con actividad antifúngica a concentraciones inferiores a la concentración mínima inhibitoria afectan tanto el crecimiento máximo como la velocidad de crecimiento radial. Este estudio contribuye al conocimiento de este tipo de plantas que crecen en el Estado de Puebla y que se

REFERENCIAS

- Ali, A., Muhammad, M. T. M., Sijam, K., and Siddiqui, Y. (2010). Potential of chitosan coating in delaying the postharvest anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) of Eksotika II papaya. *International Journal of Food Science and Technology*. 45(1): 2134-2140.
- Ávila-Sosa, R., Gastélum, G., García, M., Meneses, M. C., Navarro, A. R., and Dávila, R. M. (2011). Evaluation of different Mexican plant extracts to control anthracnose. *Food Bioprocess Technology*. 4(5): 655-659.
- Baños, P. E., Zavaleta, M. E., Colinas, M. T., Luna, I. y Gutiérrez, J. G. (2004). Control biológico de *Colletotrichum gloeosporioides* [(Penz.) Penz. y Sacc.] en papaya maradol roja (*Carica papaya* L.) y fisiología postcosecha de frutos infectados. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 22(2): 198-205.
- Barrera, L. L., Bautista, S., Flores, H.E., and Rojas, A. (2008). Efficacy of essential oil on the conidial germination, growth of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc. and control of postharvest diseases in papaya (*Carica papaya* L.). *Plant Pathology Journal*. 7(2): 174-178.
- Barrera-Necha, L. L., Bautista-Baños, S., Bravo-Luna, L., Bermúdez-Torres, K., Jiménez-Estrada, M., and Reyes-Chilpa, R. (2003). Antifungal activity against postharvest fungi by extracts and compounds of *Pithecellobium dulce* seeds (Huamuchil). *Acta Horticulturae*. 628(9): 761-766.
- Barrera-Necha, L. L., Bautista-Baños, S., Bravo-Luna, L., García-Suárez, F. J., Alavéz-Solano, D., and Reyes-Chilpa, R. (2004). Antifungal activity of seed powders, extracts and secondary metabolites of *Pachyrhizus erosus* (L.) Urban (Fabaceae) against three postharvest fungi. *Mexican Journal Phytopathology*. 22(4): 356-361.
- Bautista-Baños, S., Barrera-Necha, L. L., Bravo-Luna, L., and Bermúdez-Torres, K. (2002). Antifungal activity of leaf and stem extracts from various plant species on the incidence of *Colletotrichum gloeosporioides* of papaya and mango fruit after storage. *Mexican Journal of Phytopathology*. 20(1): 8-12.
- Bautista-Baños, S., Barrera-Necha, L. L., Hernández-Lauzardo, A., Velázquez del Valle, M., Alia-Tejacal, I. y Guillén-Sánchez, D. (2008). Polvos, extractos y fracciones de hojas de *Cestrum nocturnum* L. y su actividad antifúngica en dos aislamientos de *Fusarium* spp. *Revista UDO Agrícola*. 8(1): 42-51.
- Bluma, R., Amaiden, M. R., and Etcheverry, M. (2008). Screening of Argentine plant extracts: Impact on growth parameters and aflatoxin B₁ accumulation by *Aspergillus* section *Flavi*. *International Journal of Food Microbiology*. 122(1): 114-125.
- Bobbarala, V., Katikala, P., Duggirala, V., and Penumajji, S. (2009). Control of phytopathogenic fungi *Colletotrichum graminicola* using medicinal plant methanolic extracts. *Drug Invention Today*. 1(1): 3-6.
- 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. & Sacc. y de la antracnosis en frutos de mango. *Revista UDO Agrícola*. 9(2): 175-179.
- Brand, S. C., Blume, E., Brião, F., Mendes, P., Bergoli, M., and Magalhães, L. (2010). Garlic and rosemary extracts in the induction of phaseolin in beans and fungitoxicity on *Colletotrichum lindemuthianum*. *Ciência Rural*. 40(9): 1881-1887.
- Char, C. D., Guerrero, S. N., and Alzamora S. M. (2007). Growth of *Eurotium chevalieri* in milk jam: influence of pH, potassium sorbate and water activity. *Journal of Food Safety*. 27(1): 1-6.
- Chukwuemeka, N. O. and Anthonia, A. B. (2010). Antifungal effects of pawpaw seed extracts and papain on postharvest *Carica papaya* L. fruit rot. *African Journal of Agricultural Research*. 5(12): 1531-1535.
- Corkidi, B., Rojas, A., Balderas, K. A., Sangabriel, J. C., Serrano, L. Y., and Galindo, E. (2010). Una nueva herramienta para la caracterización precisa y cuantitativa de la antracnosis del Mango, de utilidad para fitopatólogos, productores y exportadores. *Claridades Agropecuarias*. 18(198): 39-47.
- De-Costa, D. M. and Gunawardhana, H. M. D. M. (2012). Effects of sodium bicarbonate on pathogenicity of *Colletotrichum musae* and potential for controlling postharvest diseases of banana. *Postharvest Biology and Technology*. 68(1): 54-63.
- Guerrero, R. E., Solís, G. S., Hernández, C. F., Flores, A., Sandoval, V. y Jasso, D. (2007). Actividad biológica *in vitro* de extractos de *Flourensia cernua* D.C. en patógenos de postcosecha: *Alternaria alternata* (FR:FE.) Keissl., *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. y *Penicillium digitatum* (Pers.; Fr.) Sacc. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 25(1): 48-53.
- Helal, G. A., Sarhan, M. N., Abu Shala, A. N., and El-Khair, E. K. (2007). Effect of *Cymbopogon citratos* L. essential oil on the growth morphogenesis and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* ML2-strains. *Journal of Basic Microbiology*. 47(1): 5-15.
- Hernández, L., Bautista, S. y Velázquez, G. M. (2007). Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 30(1): 119-123.
- Hernández-Albíter, R. C., Bravo-Luna, L., Bautista-Baños, S. y Barrera-Necha, L. L. (2005). Actividad antifúngica de extractos vegetales en hongos postcosecha. Estado actual del conocimiento. *Biótica*. 2(2): 115-155.
- Hernández-Albíter, R. C., Barrera-Necha, L. L., Bautista-Baños, S., and Bravo-Luna, L., (2007). Antifungal potential of crude plant extracts on conidial germination of two isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc. *Mexican Journal of Phytopathology*. 25(1): 86-89.
- Huerta, G., Holguín, F., Benítez, F. A. y Toledo, J. (2009). Epidemiología de la Antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc.] en Mango (*Mangifera indica* L.) cv. Ataulfo en el Soconusco, Chiapas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 27(2): 93-105.
- Intra, B., Mungsuntisuk, I., Nihira, T., Igarashi, Y., and Panbangred, W. (2011). Identification of actinomycetes from plant rhizospheric soils with inhibitory activity against *Colletotrichum* spp., the causative agent of anthracnose disease. *BMC Research Notes*. 4(1): 98-107.
- López-Malo, A., Alzamora, S. M., and Palou, E. (2005). *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. *International Journal of Food Microbiology*. 99(1): 119-128.
- Maqboola, M., Alia, A., Aldersona, P. G., Mohamedb, M. T. M., Siddiquic, Y., and Zahid, N. (2011). Postharvest application of gum arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*. 62(1): 71-76.
- Nunes, C. A. (2012). Biological control of postharvest diseases of fruit. *European Journal of Plant Pathology*. 133(1): 181-196.
- Ortiz, Y., Spengler, I., Collado, I., and Hernández, R. (2006). The antifungal activity of wildddrol and its biotransformation by *Colletotrichum gloeosporioides* (penz.) Penz. & Sacc. and *Botrytis cinerea* Pers. Fr. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 54(20): 7517-7521.
- Sangeetha, G., Thangavelu, R., Usha Rani, S., and Muthukumar, A. (2013). Antimicrobial activity of medicinal plants and induction of defense related compounds in banana fruits cv. Robusta against crown rot pathogens. *Biological Control*. 64(1): 16-25.
- Sellamuthua, P. S., Sivakumara, D., Soundya, P., and Korstenb, L. (2013). Essential oil vapours suppress the development of anthracnose and enhance defence related and antioxidant enzyme activities in avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 81(1): 66-72.
- Shi, X., Li, B., Qin, G., and Tian, S. (2012). Mechanism of antifungal action of borate against *Colletotrichum gloeosporioides* related to mitochondrial degradation in spores. *Postharvest Biology and Technology*. 67(2): 138-143.
- Suzuki, T., Tanaka-Miwa, C., Ebihara, Y., Ito, Y., and Uematsu, S. (2010). Genetic polymorphism and virulence of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from strawberry (*Fragaria X ananassa* Duchesne). *Journal of Genetic Plant Pathology*. 76(1): 247-253.
- Tzortzakis, N. G. (2010). Ethanol, vinegar and *Origanum vulgare* oil vapour suppress the development of anthracnose rot in tomato fruit. *International Journal of Food Microbiology*. 142(1): 14-18.
- Voda, K., Boh, B., Vrtačnik, M., and Pohleven, F. (2003). Effect of the antifungal activity of oxygenated aromatic essential oil compounds on the white-rot *Trametes versicolor* and the brown-rot *Coniophora puteana*. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 51(1): 51-59.
- Yenjitia, P., Issarakraisila, M., Intanaa, W., and Chantrapromma, K. (2010). Fungicidal activity of compounds extracted from the pericarp of *Areca catechu* against *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro and in mango fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 55(1): 129-132.