



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA**

Maestría en Manejo Sostenible de Agroecosistemas

**Aceites esenciales para el control de hongos fitopatógenos
en frutos de chile manzano (*Capsicum pubescens*)**

Tesis

Que para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS DE MANEJO SOSTENIBLE DE
AGROECOSISTEMAS**

Presenta

Marco Antonio Kevin Pérez Vázquez

Director de Tesis

Dr. Nemesio Villa Ruano

Co-Director

Dr. José Antonio Rivera Tapia

Asesores

Dr. Omar Romero Arenas

Dr. Gerardo Landeta Cortés

Puebla, Pue.

Noviembre 2021

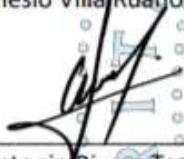



La presente tesis, titulada: **"Aceites esenciales para el control de hongos fitopatógenos en frutos de chile manzano (*Capsicum pubescens*)"**, realizada por el alumno **Biól. Marco Antonio Kevin Pérez Vázquez**, bajo la dirección del Comité Tutorial indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN
MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS

COMITÉ TUTORAL:

DIRECTOR: 
Dr. Nemesio Villa Ruano

CODIRECTOR: 
Dr. José Antonio Rivera Tapia

ASESOR: 
Dr. Omar Romero Anayas

REVISOR EXTERNO: 
Dr. Gerardo Landeta Cortés

Agradecimientos

Este trabajo de investigación fue realizado gracias al apoyo económico brindado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), durante el periodo que comprende de agosto de 2019 a julio de 2021.

Ofrezco un gran agradecimiento a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), por brindarme la oportunidad y el espacio para realizar mis estudios en la Maestría de Manejo Sostenible de Agroecosistemas (MASAGRO).

Quiero ofrecer un especial agradecimiento a mi director de tesis el Dr. Nemesio Villa Ruano, ya que sin su ayuda y visión para este proyecto no hubiese sido posible entregar un trabajo tan elaborado. Su guía y apoyo fueron de fundamental importancia para realizar este estudio, especialmente si se considera la situación de contingencia sanitaria que ha afectado severamente las actividades académicas en las instituciones educativas y/o investigación que se encuentran en México.

Quiero agradecer, de igual forma, al Dr. Omar Romero Arenas por su guía y apoyo, los cuales me ayudaron a cursar satisfactoriamente la maestría y terminar mis estudios de licenciatura. Agradezco también al Dr. Antonio Rivera Tapia y al Dr. Gerardo Landeta Cortés, por su apoyo y retroalimentación, que sirvió para la formación de este trabajo. Le quiero ofrecer un agradecimiento especial a la Lic. Patricia Vela Romero por su eficacia para resolver problemas administrativos y la atención brindada durante todo el tiempo que duro la maestría.

Agradezco el apoyo incondicional que me dieron mis padres, Marco Antonio Pérez Reyes y Blanca Estela Vázquez Gaviña, quienes me apoyaron durante todo el tiempo que duraron los estudios de maestría y durante toda mi formación académica, además de intentar brindarme la mejor educación posible que se encontraba en sus manos dar.

A mi hermana, Nubia Berenice Vázquez Gaviña, le agradezco por su ayuda en momentos difíciles durante toda mi formación académica, ayuda que fue de suma importancia para terminar mis estudios de licenciatura y posgrado. De igual forma agradezco a mi primo, el Dr. Raúl García Vázquez por su guía y apoyo para poder mantener una visión clara con respecto a las dificultades que se

presentaron, no solo en mi periodo estudiando el programa de maestría, sino también, como estudiante de licenciatura.

Por último, agradezco la presencia de amigos como Jesús Martínez y Javier Aguilar, quienes me han brindado palabras de aliento y apoyo desde que los conocí en la preparatoria y con los cuales mantengo una buena amistad hasta el día de hoy. También agradezco el apoyo y amistad brindada por Jesús Ruiz durante todo el tiempo que duraron los estudios en la licenciatura de Biología y en la Maestría en Manejo Sostenible de Agroecosistemas.

Dedicatoria

A René Descartes y a su demonio de la realidad.



“Desde la materia vegetal muerta hasta nematodos y bacterias. Nunca subestimen la astucia de los hongos para encontrar nuevo alimento”.

— Paul Stamets

Índice

Contenido

I RESUMEN.....	25
1.1 Abstract.....	26
II INTRODUCCIÓN	28
2.1 Genero <i>Capsicum</i>.....	29
2.2 <i>Capsicum pubescens</i>.....	29
2.3 Producción de chile manzano en México.....	30
2.4 Cultivo de Chile manzano en Yaonáhuac, Puebla.....	31
2.5 Hongos fitopatógenos.....	35
2.6 Beneficios del uso de extractos vegetales como fungicidas.....	36
2.7 Actividad biológica de los aceites esenciales.....	37
2.8 Aceites esenciales contra hongos fitopatógenos.....	39
2.9 Propiedades químicas de los aceites esenciales.....	41
2.10 Importancia de los terpenoides.....	42
2.11 Importancia de los fenoles y flavonoides.....	42
2.12 Análisis de nutraceuticos.....	43
2.13 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y cromatografía líquida de alta resolución.....	44
2.14 Bromatología.....	45
III JUSTIFICACIÓN.....	47
IV OBJETIVOS.....	48
4.1 Objetivo general.....	48
4.2 Objetivos específicos.....	48
V HIPOTESIS.....	49

VI METODOLOGÍA.....	50
6.1 Sitio de muestreo.....	50
6.2 Estado situacional del cultivo de chile manzano en Yaonáhuac, Puebla.....	51
6.3 Cámara húmeda.....	52
6.4 Aislamiento de hongos.....	53
6.5 Preparación de medios	53
6.6 Comprobación de los postulados de Koch.....	54
6.7 Preparación de microcultivos.....	55
6.8 Microscopia.....	55
6.9 Análisis Bromatológicos y Cromatográficos (HPLC-MS)	56
6.10 Extracción de aceites esenciales.....	56
6.11 Microdilución en caldo.....	57
6.12 Ensayos en lentes de contacto suaves.....	57
6.13 Pruebas <i>in situ</i> en frutos de chile manzano.....	57
6.14 Caracterización química de los aceites esenciales con actividad biológica.....	58
6.15 Identificación molecular de cepas fitopatógenas.....	58
6.16 Análisis estadístico.....	58
VII RESULTADOS.....	60
7.1 Certificación del chile manzano (<i>Capsicum pubescens</i>)	60
7.2 Aislamiento y microscopia de las cepas.....	60
7.3 Postulados de Koch.....	66
7.4 Análisis bromatológicos.....	68
7.5 Identificación de carotenoides.....	76
7.6 Presencia de capsaicina y dihidrocapsaicina.....	80

7.7 Contenido de Aflatoxinas.....	83
7.8 Contenido de ácido ascórbico.....	84
7.9 Identificación molecular de las cepas fúngicas provenientes de Chile manzano.....	84
7.10 Actividad antifúngica <i>in vitro</i>.....	85
7.11 Pruebas de microdilución en agar sobre lentes de contacto suaves.....	102
7.12 Pruebas antifúngicas <i>in situ</i> con aceites esenciales y volátiles individuales.....	104
7.13 Análisis moleculares.....	107
7.13.1 <i>Mentha Piperita</i> vs <i>Fusarium sambucinum</i>.....	107
7.13.2 <i>Zanthoxylum limoncello</i> vs <i>Fusarium temperatum</i>.....	133
VIII DISCUSIÓN.....	163
IX CONCLUSIONES.....	173
Fuentes.....	175
ANEXOS.....	187

Índice de figuras

Figura 1. Chile manzano cultivado en la sierra norte de Puebla. Fuente: Elaboración propia. Pg. 31.

Figura 2. Cultivos de chile manzano con síntomas de enfermedad en el municipio de Yaonáhuac, estado de Puebla. Fuente: elaboración propia. Pg. 34.

Figura 3. Biopelícula de *Fusarium* spp (S-1187) sobre lentes de contacto suaves después de 48 h de inoculación. A y C, Aplicación del aceite de tomillo y de clavo respectivamente. B y D, controles sin aceite esencial. Fuente: Tomado de Manganyi *et al.* (2015). Pg. 39.

Figura 4. Efecto del aceite esencial de *Lepidium virginicum* sobre la aparición de síntomas de antracnosis en tomate de árbol. Fuente: Tomado de Pacheco-Hernández *et al.*, 2021. Pg. 40.

Figura 5. Huerto de chile manzano en el municipio de Yaonáhuac, Puebla. Fuente: elaboración propia. Pg. 51.

Figura 6. Tejido enfermo de chiles manzano almacenados en un recipiente de plástico (cámara húmeda). Pg. 52.

Figura 7. Inoculación de hongos provenientes de tejidos vegetales enfermos. Fuente: Elaboración propia. Pg. 53.

Figura 8. Elaboración de medios de PDA. Fuente: Elaboración propia. Pg. 54.

Figura 9. Muestras de chile manzano en congelación (al término del monitoreo). Pg. 55.

Figura 10. *Capsicum pubescens*. Ficha de identificación taxonómica avalada por el herbario de la Facultad de Ciencias de la UNAM. Pg. 60.

Figura 11. Cepas de hongos fitopatógeno aislados de frutos de chile manzano (*Capsicum pubescens*). Pg. 62.

Figura 12. Microscopia de microcultivos pertenecientes al aislado CP1 de *Capsicum pubescens*. Pg. 63.

Figura 13. Micrografías de SEM del aislado CP1. Vistas a 1,000 aumentos y 2,500 aumentos. Pg. 63.

Figura 14. Microscopia de microcultivos pertenecientes al aislado CP2 de *Capsicum pubescens*. Pg. 64.

Figura 15. Micrografías de SEM del aislado CP2. Vistas a 1,000 aumentos y 2,500 aumentos. Pg. 64.

Figura 16. Micrografías de SEM del aislado CP3. Vistas a 1,000 aumentos y 2,500 aumentos. Pg. 65.

Figura 17. Microscopia de microcultivos pertenecientes al aislado CP4 de *Capsicum pubescens*. Pg. 65.

Figura 18. Micrografías de SEM del aislado CP4. Vistas a 2,500 aumentos y 5,000 aumentos. Pg. 66.

Figura 19. Cinética del crecimiento in situ. Grupo control. Pg. 66.

Figura 20. Cinética del crecimiento in situ con el aislado CP1. Pg. 67.

Figura 21. Cinética del crecimiento in situ con el aislado CP2. Pg. 67.

Figura 22. Cinética del crecimiento in situ con el aislado CP3. Pg. 68.

Figura 23. Cinética del crecimiento in situ con el aislado CP4. Pg. 68.

Figura 24. Humedad en frutos chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Pg. 69.

Figura 25. Materia seca en frutos chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Pg. 70.

Figura 26. Grasa cruda en frutos chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Pg. 71.

Figura 27. Proteína Cruda en frutos chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Pg. 72.

Figura 28. Fibra cruda en frutos chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Pg. 73.

Figura 29. Contenido de ceniza en frutos chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Pg. 73.

Figura 30. Extracto libre de nitrógeno en frutos chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Pg. 74.

Figura 31. Firmeza en frutos de chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Pg. 75.

Figura 32. pH en frutos de chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Pg. 75.

Figura 33. RP-HPLC de los carotenoides *Capsicum pubescens* asintomáticos. 1) Violaxantina, 2) Cis-violaxantina, 3) Luteoxantina, 4) Anteraxantina, 5) Luteína, 6) Zeaxantina y 7) β -Caroteno. Pg. 77.

Figura 34. RP-HPLC de los carotenoides de *Capsicum pubescens* infectados con el aislado CP1. 1) Violaxantina, 2) cis-violaxantina, 3) luteoxantina, 4) anteraxantina, 5) luteína, 6) zeaxantina, 7) β -caroteno. Pg. 77.

Figura 35. RP-HPLC de los carotenoides de *Capsicum pubescens* infectado con el aislado CP2. 1) Violaxantina, 2) cis-violaxantina, 3) luteoxantina, 4) anteraxantina, 5) luteína, 6) zeaxantina, 7) β -caroteno. Pg. 78.

Figura 36. RP-HPLC de los carotenoides de *Capsicum pubescens* infectado con CP3. 1) Violaxantina, 2) cis-violaxantina, 3) luteoxantina, 4) anteraxantina, 5) luteína, 6) zeaxantina, 7) β -caroteno. Pg. 78.

Figura 37. RP-HPLC de los carotenoides de *Capsicum pubescens* infectado con el aislado CP4. 1) Violaxantina, 2) cis-violaxantina, 3) luteoxantina. 4) anteraxantina, 5) luteína, 6) zeaxantina, 7) β -Caroteno. Pg. 79.

Figura 38. Contenido cualitativo de Violaxantina, Cis-violaxantina, Luteoxantina y Anteraxantina. Pg. 80.

Figura 39. Contenido cualitativo de Luteína, Zexantina y β -Caroteno. Pg. 80.

Figura 40. RP-HPLC de estándares para los niveles de capsaicina y dihidrocapsaicina. Pg. 81.

Figura 41. RP-HPLC de capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos de *Capsicum pubescens* asintomáticos. Pg. 81.

Figura 42. RP-HPLC de capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos de *Capsicum pubescens* infectados con los aislados CP1-CP4. Pg. 82.

Figura 43. Contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos de chile manzano tratados con los aislados CP1-CP4. Pg. 82.

Figura 44. RP-HPLC de aflatoxinas G1 y B1 en frutos de chile manzano. El primer cromatograma de la izquierda muestra los estándares de aflatoxinas G1 y B1 respectivamente. Pg. 83.

Figura 45. Ácido ascórbico determinado por titulación en frutos de chile manzano. Pg. 84.

Figura 46. Reacción colorimétrica mediada por la rezasurina. La conversión del color azul en un tono rosáceo indica viabilidad celular, mientras que el mantenimiento del color azul indica muerte celular. Pg. 86.

Figura 47. Curvas de dosis respuesta usando los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis*, *Zanthoxylum limoncello* y *Mentha piperita*, sobre *Fusarium sambucinum* y *Fusarium temperatum*. Pg. 87.

Figura 48. Curvas dosis-respuesta con el aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes, mentol y mentona. La MIC sobre *Fusarium sambucinum*, se encuentra señalada por una pequeña flecha negra. Pg. 88.

Figura 49. Porcentaje de inhibición obtenido a través de una curva-dosis respuesta con el aceite esencial de *Mentha piperita*, contra *Fusarium sambucinum*. Pg. 91.

Figura 50. Porcentaje de inhibición obtenido a través de una curva-dosis respuesta con mentol contra *Fusarium sambucinum*. Pg. 92.

Figura 51. Porcentaje de inhibición obtenido a través de una curva-dosis respuesta con mentona contra *Fusarium sambucinum*. Pg. 93.

Figura 52. Comparación de concentraciones mínimas inhibitorias correspondientes al aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 93.

Figura 53. Curvas dosis-respuesta con el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes, mentol y mentona. Pg. 95.

Figura 54. Porcentaje de inhibición obtenido a través de una curva-dosis respuesta con el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* contra *Fusarium temperatum*. Pg. 98.

Figura 55. Porcentaje de inhibición obtenido a través de una curva-dosis respuesta con el volátil 2-Undecanona contra *Fusarium temperatum*. Pg. 99.

Figura 56. Porcentaje de inhibición obtenido a través de una curva-dosis respuesta con el volátil 2-Undecenal contra *Fusarium temperatum*. Pg. 100.

Figura 57. Porcentaje de inhibición obtenido a través de una curva-dosis respuesta con el volátil 2-dodecenal contra *Fusarium temperatum*. Pg. 101.

Figura 58. Comparación de concentraciones mínimas inhibitorias correspondientes al aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 102.

Figura 59. Germinación de conidios de *Fusarium sambucinum* en lentes de contacto suaves conteniendo el aceite esencial de *Mentha piperita* y sus principales volátiles. Pg. 103.

Figura 60. Germinación de conidios de *Fusarium temperatum* en lentes de contacto suaves conteniendo el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles principales. Pg. 104.

Figura 61. Cinética comparativa de chile manzano inoculado con *Fusarium sambucinum* (control) y de chile manzano inoculado con el mismo hongo bajo el efecto del aceite esencial. Pg. 105.

Figura 62. Cinética comparativa de chile manzano inoculado con *Fusarium sambucinum* (control) y de chile manzano inoculado con el mismo hongo bajo el efecto de la mentona. Pg. 106.

Figura 63. Cinética comparativa de chile manzano inoculado con *Fusarium sambucinum* (control) y de chile manzano inoculado con el mismo hongo bajo el efecto del mentol. Pg. 106.

Figura 64. Cinética para la aparición y retraso de síntomas en chile manzano causados por el efecto de *Fusarium sambucinum* y el aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 107.

Figura 65. Cinética para la concentración de Humedad en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 108.

Figura 66. Cinética para la concentración de Materia seca en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 109.

Figura 67. Cinética para la concentración de Grasa Cruda en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 111.

Figura 68. Cinética para la concentración de Fibra Cruda en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 112.

Figura 69. Cinética para la concentración de Fibra Cruda en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 113.

Figura 70. Cinética para la concentración de Ceniza en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 115.

Figura 71. Cinética para la concentración de extracto libre de nitrógeno en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 116.

Figura 72. Cinética para la concentración de Violaxantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 117.

Figura 73. Cinética para la concentración de Cis-Violaxantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 119.

Figura 74. Cinética para la concentración de Antheraxantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 120.

Figura 75. Cinética para la concentración de Luteína en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 121.

Figura 76. Cinética para la concentración de Luteoxantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 122.

Figura 77. Cinética para la concentración de Zexantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 124.

Figura 78. Cinética para la concentración de β -Caroteno en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 125.

Figura 79. Cinética para la concentración de pH en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 126.

Figura 80. Cinética para la concentración de Firmeza en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 127.

Figura 81. Cinética para la concentración de Ácido ascórbico en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 128.

Figura 82. Cinética para la concentración de capsaicina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 130.

Figura 83. Cinética para la concentración de dihidrocapsaicina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 131.

Figura 84. Cinética comparativa de chile manzano inoculado con *Fusarium temperatum* (control) y de chile manzano inoculado con el mismo hongo bajo el efecto del aceite esencial. Pg. 133.

Figura 85. Cinética comparativa de chile manzano inoculado con *Fusarium temperatum* (control) y de chile manzano inoculado con el mismo hongo bajo el efecto del compuesto 2-Dodecenal. Pg. 134.

Figura 86. Cinética comparativa de chile manzano inoculado con *Fusarium temperatum* (control) y de chile manzano inoculado con el mismo hongo bajo el efecto del compuesto 2-Undecanona. Pg. 134.

Figura 87. Cinética comparativa de chile manzano inoculado con *Fusarium temperatum* (control) y de chile manzano inoculado con el mismo hongo bajo el efecto del compuesto 2-Undecenal. Pg. 135.

Figura 88. Cinética para la aparición y retraso de síntomas en chile manzano causados por el efecto de *Fusarium sambucinum* y el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 135.

Figura 89. Cinética para la concentración de Humedad en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 137.

Figura 90. Cinética para la concentración de Materia seca en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 138.

Figura 91. Cinética para la concentración de Grasa cruda en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 140.

Figura 92. Cinética para la concentración de Proteína cruda en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 141.

Figura 93. Cinética para la concentración de Fibra Cruda en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 143.

Figura 94. Cinética para la concentración de Ceniza en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 144.

Figura 95. Cinética para la concentración de Extracto libre de nitrógeno en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 146.

Figura 96. Cinética para la concentración de Violaxantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 147.

Figura 97. Cinética para la concentración de Cis-Violaxantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 148.

Figura 98. Cinética para la concentración de Antheraxantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 150.

Figura 99. Cinética para la concentración de Luteína en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 151.

Figura 100. Cinética para la concentración de Luteoxantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 152.

Figura 101. Cinética para la concentración de Zexantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 154.

Figura 102. Cinética para la concentración de β -Caroteno en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 155.

Figura 103. Cinética para la concentración de pH en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 156.

Figura 104. Cinética para la concentración de Firmeza en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 157.

Figura 105. Cinética para la concentración de Ácido ascórbico en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 158.

Figura 106. Cinética para la concentración de capsaicina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 160.

Figura 107. Cinética para la concentración de Dihidrocapsaicina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 161.

Índice de tablas

Tabla 1. Compuestos carotenoides e interpretación numérica. *TIEMPO DE RETENCION, *ABSORBANCIA MAXIMA y *MASA. Pg. 76.

Tabla 2. Porcentaje de los diferentes carotenoides encontrados en las 4 diferentes cepas de hongos actuando sobre frutos de chile manzano. Pg. 76.

Tabla 3. Identificación molecular de los hongos fitopatógenos provenientes de los frutos de chile manzano. Pg. 85.

Tabla 4. Identificación de compuestos pertenecientes al aceite esencial de *Mentha Piperita* a través de GC-MS. Pg. 88.

Tabla 5. Valores de Absorbancia a 630 nm obtenidos por la incubación del aceite esencial *Mentha piperita* con *Fusarium sambucinum*. Pg. 89.

Tabla 6. Valores de Absorbancia a 630 nm obtenidos por la incubación del Mentol con *Fusarium sambucinum*. Pg. 89.

Tabla 7. Valores de Absorbancia a 630 nm obtenidos por la incubación de la Mentona con *Fusarium sambucinum*. Pg. 90.

Tabla 8. Porcentaje de inhibición del aceite esencial de *Mentha piperita* sobre el hongo *Fusarium sambucinum*. Pg. 90.

Tabla 9. Porcentaje de inhibición del Mentol de *Mentha piperita* sobre el hongo *Fusarium sambucinum* (*MIC). Pg. 91.

Tabla 10. Porcentaje de inhibición de la Mentona sobre el hongo *Fusarium sambucinum* (*MIC). Pg. 92.

Tabla 11. Identificación de compuestos pertenecientes al aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* a través de GC-MS. Pg. 94.

Tabla 12. Valores de absorbancia a 630 nm obtenidos por la incubación del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* con *Fusarium temperatum*. Pg. 96.

Tabla 13. Valores de absorbancia a 630 nm obtenidos por la incubación de la 2-Undecanona con *Fusarium temperatum*. Pg. 96.

Tabla 14. Valores de absorbancia a 630 nm obtenidos por la incubación del 2-Undecenal con *Fusarium temperatum*. Pg. 97.

Tabla 15. Valores de Absorbancia a 630 nm obtenidos por la incubación del 2-Dodecenal con *Fusarium temperatum*. Pg. 97.

Tabla 16. Porcentaje de inhibición del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* sobre *Fusarium temperatum* (*MIC). Pg. 98.

Tabla 17. Porcentaje de inhibición de la 2-Undecanona sobre *Fusarium temperatum* (*MIC). Pg. 99.

Tabla 18. Porcentaje de inhibición del 2-Undecenal sobre *Fusarium temperatum* (*MIC). Pg. 100.

Tabla 19. Porcentaje de inhibición del 2-Dodecenal sobre *Fusarium temperatum* (*MIC). Pg. 101.

Tabla 20. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 108.

Tabla 21. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 110.

Tabla 22. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 111.

Tabla 23. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 112.

Tabla 24. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 114.

Tabla 25. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 115.

Tabla 26. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 116.

Tabla 27. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 118.

Tabla 28. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 119.

Tabla 29. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 120.

Tabla 30. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 122.

Tabla 31. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 123.

Tabla 32. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 124.

Tabla 33. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 125.

Tabla 34. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 126.

Tabla 35. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 127.

Tabla 36. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 129.

Tabla 37. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 130.

Tabla 38. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Pg. 132.

Tabla 39. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 137.

Tabla 40. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 139.

Tabla 41. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 140.

Tabla 42. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 142.

Tabla 43. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 143.

Tabla 44. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 145.

Tabla 45. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 146.

Tabla 46. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 148.

Tabla 47. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 149.

Tabla 48. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 150.

Tabla 49. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 151.

Tabla 50. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 153.

Tabla 51. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 154.

Tabla 52. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 155.

Tabla 53. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 156.

Tabla 54. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 158.

Tabla 55. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 159.

Tabla 56. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 160.

Tabla 57. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Pg. 162.

I RESUMEN

El chile manzano, es uno de los chiles más conocidos del mundo, siendo cultivado a gran escala en diferentes países de Latinoamérica como Bolivia, Perú y México. Varios tipos de fitopatógenos fúngicos son capaces de deteriorar la calidad y valor nutricional del pimiento manzano, dificultando el manejo del almacenamiento de este fruto. En este trabajo se presentan los resultados de identificación de los hongos *Fusarium sambucinum* y *Fusarium temperatum* provenientes de frutos de chile manzano recolectados en la localidad de Yaonáhuac, Puebla, México (Sierra Norte de Puebla). En este lugar el chile manzano genera una importante derrama económica. El aceite esencial de *Mentha piperita* y sus dos compuestos volátiles principales, mentol y mentona, fueron los agentes anti-fúngicos que decrecieron la viabilidad hifal de *Fusarium sambucinum* determinada mediante microdilución en caldo. Para el caso de *Fusarium temperatum*, se observó que el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus principales volátiles (2-undecanona, 2-undecenal, 2-dodecenal) produjeron un efecto inhibitorio diferencial. La identidad de ambos hongos fue determinada por secuenciación de ADN. Una vez establecida la concentración mínima inhibitoria (MIC), se procedió a realizar ensayos *in situ* por aspersion de dichos aceites esenciales y sus principales volátiles sobre frutos de chile manzano previamente inoculados con cada patógeno durante 16 días. De acuerdo a los datos observados, los aceites fueron capaces de reducir la aparición de síntomas de pudrición o signos de micelio de 5 a 10 días. Así mismo, las muestras sometidas a los tratamientos fueron sujetas a análisis de metabolómica dirigida para determinar los cambios relacionados a su valor nutricional. Como resultado se determinó que el retardo de los síntomas está relacionado con el mantenimiento de los valores proximales básicos, así como de carotenoides, vitamina C y capsaicinoides.

1.1 Abstract

The manzano pepper is one of the best-known chili peppers in the world, being harvested in large scale across Latin American countries such as Bolivia, Peru and Mexico. Several types of fungal phytopathogens are able to deteriorate the quality and nutritional value of manzano pepper, reducing the shelf life of this fruit. In this work, we present the identification of *Fusarium sambucinum* and *Fusarium temperatum* as phytopathogens isolated from manzano peppers collected in Yaonáhuac, Puebla, Mexico (Sierra Norte de Puebla). In this place, manzano pepper earns a substantial economic benefit. The essential oil of *Mentha piperita* and its two main volatile compounds, menthol and menthone, decreased hyphal viability of *Fusarium sambucinum*. These effects were determined by the broth microdilution method. For the case of *Fusarium temperatum*, the essential oil of *Zanthoxylum limoncello* and its main volatiles (2-undecanone, 2-undecenal, 2-dodecenal) produced a differential inhibitory effect on this phytopathogen. The identity of both fungi was determined by DNA sequencing. Once the minimum inhibitory concentration (MIC) was established, *in situ* tests were carried out by spraying essential oils and their main volatiles on manzano pepper fruits previously inoculated with each pathogen during 16 days. According to the observed data, the oils were able to reduce the appearance of rotting symptoms or signs of mycelium from 5 to 10 days. The treated samples were subjected to a metabolomics analysis, to determine the changes related to their nutritional value. As a result, it was determined that the delay of symptoms is related to the maintenance of basic proximal parameters as well as carotenoids, vitamin C and capsaicinoids.

II INTRODUCCIÓN

El género *Capsicum* (Solanaceae) se encuentra integrado aproximadamente por 30 especies. Estas poseen gran importancia económica y alimenticia, sin embargo, la falta de estudios fisiológicos y ecológicos de las poblaciones delimitan los conocimientos del género y los problemas relacionados con la producción agrícola. Dentro de estos podemos citar la tolerancia o resistencia a plagas y enfermedades, así como la posibilidad de aumentar la cantidad y la calidad de la producción, sobre todo en condiciones de post-cosecha (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999).

El chile manzano (*Capsicum pubescens* R & P) es una planta perenne que se originó en las tierras altas de América del Sur de Bolivia, Perú y Chile. La demanda que existe de este fruto en México ha ido creciendo desde que fue introducido al país en el siglo XX. De esta forma es que se cultiva anualmente en pequeños huertos asociados con árboles frutales para apoyo y sombreado, creciendo sobre altitudes entre 1700 y 2400 m (Pérez-Grajales *et al.*, 2004).

Los principales estados que se encargan de producir el chile manzano en México son Michoacán, principalmente Tacámbaro y Zitácuaro; Veracruz, en Altotonga, Zongolica y Huatusco; Teziutlán en la Sierra Norte de Puebla; Coatepec Harinas y Tenancingo en el Estado de México (Barrios-Puente *et al.*, 2014). De acuerdo con Espinosa-Torres *et al.* (2016) su consumo es insustituible en zonas de la sierra norte de Puebla, en Toluca, Michoacán y Morelia, donde forma parte de los hábitos alimenticios.

Una de las razones principales por la cual se ve afectada la producción de chile a gran escala en nuestro país es debido a las enfermedades que surgen en forma de hongos, bacterias, virus y nematodos, provocando la caída en rendimiento del cultivo (Guigón-López *et al.*, 2001). Los sistemas de producción de chile manzano en México manejan el control de plagas y enfermedades de forma necesaria a partir de químicos en campo abierto. Mientras que, en condiciones de invernadero se hace de forma integral, lo cual llega a afectar la economía de los productores (Barrios-Puente *et al.*, 2014).

Cuando se trata de manejo de plagas o enfermedades se recurre en primer lugar a pesticidas sintéticos, sin embargo, el uso de estos compuestos crea distintas dificultades para el cultivo y el productor ya sea por causas económicas, preocupaciones ambientales o de salubridad (Tripathi *et al.*, 2008).

Debido a los problemas causados por los agroquímicos, se han realizado numerosos esfuerzos para desarrollar métodos y tecnologías compatibles con el medioambiente. Actualmente, una alternativa que ha recibido atención dentro del campo de la agricultura orgánica es la elaboración de extractos de plantas y aceites esenciales para inhibir la presencia y actividad de fitopatógenos. Estos son considerados candidatos ideales para proteger los alimentos agrícolas debido a que presentan actividades antifúngicas potentes y de amplio espectro, además de ser armonizables dentro del agroecosistema en el cual son empleados (Zheng *et al.*, 2018)

2.1 Genero *Capsicum*

Las hortalizas de las especies vegetales pertenecientes al género *Capsicum* son las que poseen mayor importancia económica dentro de la familia *Solanaceae* (Jaiswal *et al.*, 2019). El género *Capsicum* es nativo de las Américas tropicales y subtropicales. La mayoría de la diversidad genética se concentra en Bolivia, Perú, Brasil (centro de origen) y México, aunque se sabe que fue domesticado en Mesoamérica, hace aproximadamente 6,000 años (García-Gaytán *et al.*, 2017).

Los frutos pertenecientes a estos vegetales se les conocen comúnmente como pimientos o chile y se caracterizan por presentar forma de campana y una amplia gama de colores, como amarillo, verde, rojo y anaranjado (Antonio *et al.*, 2018). El uso dado a esta planta normalmente se encuentra en la preparación de distintos platillos como aditivo alimentario (especias), tiene usos ornamentales y son una fuente importante de vitaminas A y C (Hill *et al.*, 2013). Sin embargo, también son conocidos por poseer propiedades medicinales, siendo utilizados para el tratamiento de la tos, dolor de muelas, dolor de garganta, infecciones parasitarias, reumatismo, cicatrización de heridas, antiséptico, contrairritante, estimulador del apetito, antioxidante e inmunomodulador. Además de conocerse efectos antibacterianos y anticancerígenos que se encuentran relacionados con

el compuesto químico de los chiles conocido como capsaicina (Sanati *et al.*, 2017).

La importancia comercial de las especies pertenecientes a *Capsicum* es grande en México debido a su habitual consumo y producción en el país, además de tener una demanda que depende de la apariencia y el sabor que son bien conocidos por los consumidores (Villalon-Mendoza *et al.*, 2014).

2.2 *Capsicum pubescens*

Una de las especies domesticadas provenientes del género *Capsicum* más reconocidas en el continente americano es *Capsicum pubescens* también conocido como chile cera o manzano (Ibarra-Torres *et al.*, 2015). Se cree que *Capsicum pubescens* se originó en las elevaciones medias de Bolivia/Brasil y se ha domesticado desde 6,000 A.C (Yamamoto *et al.*, 2013). La producción del chile cera se realiza en huertos de traspatio, en ocasiones asociado a árboles frutales, pero debido a que es un cultivo de temporal sus rendimientos son relativamente bajos obteniéndose aproximadamente 14.6 toneladas por hectárea (Espinosa-Torres *et al.*, 2016, Leyva-Ovalle *et al.*, 2018). Debido a la amplia diversidad de micro-climas que se pueden encontrar en México, el chile manzano crece en zonas altas y frías del país en altitudes que van de 1300 a 2400 m. Existe un favorecimiento para su cultivo, presentándose en Michoacán (Tacámbaro y Zitácuaro), Veracruz (Altotonga, Zongolica y Huatusco), Puebla (Teziutlán), Estado de México (Coatepec Harinas y Tenancingo), mientras que Chiapas y Oaxaca se presenta en menor escala (Espinosa-Torres *et al.*, 2016).

Los principales rasgos que describen la variación morfológica en el chile cera son el tamaño de la fruta, el número de semillas por fruto y el número de semillas por lóculo. Además de los días que tarda en desarrollarse la fruta y el número de flores por nudo, ya que estos son rasgos heterogéneos y polimórficos (Pérez-Grajales *et al.*, 2004).

La producción de *Capsicum pubescens* enfrenta diversos problemas en México, siendo uno de los más importantes las enfermedades que afectan la calidad del fruto. Las limitaciones agronómicas en su producción se ven manifestadas en la susceptibilidad a la “marchitez”, ya que daña a la raíz y causa la muerte de la planta (Guigón-López *et al.*, 2001, Vallejo-Gutiérrez *et al.*, 2018). De acuerdo a

Almaraz-Sánchez *et al.* (2018), la marchitez puede ser causada por diferentes fitopatógenos, tales como *Botrytis*, *Fusarium spp.*, y *Phyium*.

2.3 Producción de chile manzano en México

El chile (*Capsicum sp.*) es sin duda uno de los condimentos más emblemáticos de México. Existen 64 variedades reconocidas, sin embargo, debido a la cruza constante para la obtención de más y mejores variedades resistentes a plagas y condiciones ambientales, este número podría extenderse aún más (Villa-Ruano *et al.*, 2019).

La sierra norte del estado de Puebla es una región productora de chile manzano (*Capsicum pubescens*) también conocido como chile cera. Sin embargo, en la última década los sistemas de producción de este condimento han disminuido dramáticamente (Barrios *et al.*, 2014). Dicho déficit repunta en una disminución de los ingresos de los productores y, en consecuencia, en una pérdida dentro de la economía de la región. Los sistemas de producción de chile manzano en México son de campo abierto, bajo sombra de árboles de pino y frutales de temporada y en condiciones de invernadero. Estos sistemas presentan diferencias significativas en los aspectos técnicos, financieros y comerciales como consecuencia de las innovaciones tecnológicas y el grado de inversión monetaria (Espinosa-Torres *et al.*, 2008).

El cultivo de chile manzano en campo abierto se ve afectado principalmente por la presencia de diversas plagas de insectos y microorganismos. Un porcentaje considerable de los microorganismos dañinos se encuentra asociado a hongos oportunistas que proliferan en climas con alta humedad (Almaráz *et al.*, 2018).

En diferentes regiones de Puebla existen plantas silvestres de temporada, aromáticas o medicinales que representan una fuente para la extracción de aceites esenciales. La sierra norte del estado de Puebla se caracteriza por ser una región rica en flora útil. Sin embargo, las especies vegetales de la región han sido escasamente estudiada para fines de control de plagas y enfermedades en cultivos (Martínez *et al.*, 2007). Es por este motivo que un escrutinio sobre las propiedades de las plantas regionales podría revelar fuentes alternativas para el control de hongos fitopatógenos que afectan la calidad de los frutos en chile manzano (**Figura 1**).



Figura 1. Chile manzano cultivado en la sierra norte de Puebla. Fuente: Elaboración propia.

2.4 Cultivo de Chile manzano en Yaonáhuac, Puebla.

La sierra de Norte de Puebla alberga una amplia diversidad de cultivos que contribuyen en gran medida a mantener estable la economía de los productores, no solo en términos monetarios (cuando existe la posibilidad de producir suficiente para introducir sus alimentos al mercado), sino también al cosechar para autoconsumo (agregando los productos de sus cosechas en la dieta familiar).

Yaonáhuac es un municipio ubicado en la parte noroeste del estado de Puebla y en el cual habitan una gran cantidad de productores que viven principalmente de lo que cosechan, teniendo una amplia diversidad de cultivos de importancia económica, que existen debido a los distintos tipos de clima que se encuentran en la zona. Entre los cultivos que más sobresalen en la Sierra Norte de Puebla se encuentran el maíz, aguacate, durazno y diversos tipos de chile, los cuales de acuerdo a las palabras de los productores son para vender y/o consumir dentro del seno familiar.

Las familias agrícolas que viven en Yaonáhuac siempre han tenido al cultivo maíz como una planta de alta importancia dentro de sus terrenos, sin embargo,

reconocen que no es monetariamente redituable, razón por la cual solo lo utilizan como parte de su dieta básica o para alimento de ganado. Las plantas de mayor importancia comercial para varios de los productores en Yaonáhuac son el aguacate, frijol y chile, destacando el chile manzano como una de las plantas mejores valoradas en el mercado.

El chile manzano es producido mayormente en campo abierto por la mayoría de los agricultores pertenecientes a Yaonáhuac. De acuerdo a Espinosa-Torres *et al.* (2016), se pueden producir hasta 14.6 toneladas por hectárea. No obstante, existen algunos productores que cultivan en invernadero, obteniendo grandes cantidades en tiempo de cosecha, aunque también cuentan con una mayor inversión económica. El chile manzano (o chile cera como lo llaman la mayoría de los productores en la Sierra Norte), es muy importante en la zona, a tal grado que ha remplazado en varios campos de cultivo al maíz como principal fuente de ingresos debido a que este puede adquirir un valor de venta más elevado en comparación al precio que posee el maíz en el mercado local. Aunque la razón más importante para cultivar el chile manzano y que fue reconocida por varias familias de productores de la región, estriba en la capacidad de la planta para producir durante varios periodos (cada 10 o 15 días se puede cosechar) y no solo una vez al año como ocurre con el maíz.

Las plantas de chile manzano son fáciles de mantener según sean las condiciones climáticas y su cultivo no representa un gran costo entre los productores de la Sierra Norte, ya que utilizan principalmente la hojarasca de los árboles frutales como parte del fertilizante. Al mismo tiempo, estos árboles sirven como soporte y proporcionan sombra a las plantas en un estadio temprano de crecimiento. La fertilización del suelo en los terrenos de la zona ocurre por medio de fertilizantes químicos. Sin embargo, consta mayormente del abono producido por los pollos y cerdos que puede ser mezclado con viruta o la hojarasca de otras plantas y una vez que se descompone el material orgánico se procede a plantar las semillas.

Las matas de chile manzano en buen estado producen frutos durante uno o dos años. No obstante, la calidad de los chiles decae después de un año y medio de vida, pero con ganancias para los productores según sea el valor agregado con el cual puedan vender el fruto (integrado con otros alimentos). Usualmente los

frutos pueden ser clasificados entre los comerciantes como chico, mediano y grande, lo cual, es importante para definir el precio que obtendrán en el mercado. Usualmente se valora en 10 pesos por kilo el chile más pequeño y 50 pesos por kilo cuando el fruto es considerado grande, mientras en algunos centros comerciales, el kilo puede alcanzar un valor aproximado de 120 pesos.

El problema más notable que pone en riesgo al cultivo del chile son las plagas y las enfermedades. Estos problemas se han agravado con el paso de los años en conjunto con las heladas y las sequias. El chile cera se ha cultivado desde hace 70 años en Yaonáhuac, alcanzado su producción en toneladas gracias al avance, introducción y conservación de nuevas tecnologías y métodos de siembra. Sin embargo, las declaraciones de los agricultores convergen en la percepción de una cosecha más abundante hace 30 años, debido a las condiciones climáticas, cuando la cosecha podía alcanzar hasta 20 kilos del fruto cada 10 días.

Las principales plagas que las familias agricultoras mencionan son los grillos, mariposas y hormigas como la principal amenaza para la panta de chile. A su vez, la existencia de plagas en los cultivos de chile manzano provoca lesiones en los tejidos de diferentes estructuras vegetales dando paso a diferentes tipos de virus, bacterias y hongos.

La principal causa de pérdidas entre los cultivos de chile manzano son los hongos fitopatógenos, que se hacen presentes a través de síntomas como el amarillamiento y marchitez en las hojas, aparición de manchas negras en varias partes de la planta y la pudrición evidente de los frutos. En meses como mayo, junio y julio el ambiente se torna más caluroso, aumentando la incidencia de enfermedades en los cultivos. Razón por la cual, los productores tienen que disminuir los periodos de cosechas y cortar los frutos cada tres días en lugar de cada diez días, como normalmente lo hacen. Esto provoca la disminución en la calidad del producto y por consiguiente en el valor de este en el mercado (**Figura 2**).

Para controlar plagas y enfermedades, los campesinos pueden usar diferentes productos como la cal o la sal. Sin embargo, las sustancias agroquímicas son las más populares entre los agricultores de la zona debido a su eficacia y fácil

manejo. Una de las razones por las cuales los productores de chile manzano mantienen estas prácticas se debe a que nunca han recibido capacitaciones para tratar con los problemas fitosanitarios. Además, se requiere una mayor inversión para el manejo correcto de plagas y enfermedades ya que varios de ellos están conscientes de las ventajas que posee cultivar el chile manzano de manera orgánica para cuidar la fertilidad del suelo y agregar un valor económico extra en la venta.



Figura 2. Cultivos de chile manzano con síntomas de enfermedad en el municipio de Yaonáhuac, estado de Puebla. Fuente: elaboración propia.

2.5 Hongos fitopatógenos

Las plantas pueden ser atacadas por uno o varios tipos de hongos, de la misma forma que los mismos hongos fitopatógenos pueden atacar a diferentes tipos de plantas incluso de diferentes familias (Agrios, 2005). Los fitopatógenos se hacen presentes en las estructuras vegetales en forma de moho polvoriento, óxido, mancha foliar, tizón, pudriciones de la raíz y corona, humectación, suciedad, antracnosis y marchitez vascular. Estos síntomas son provocados por especies de hongos tales como *Pythium* sp., *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp., y *Rhizoctonia* sp. En el mismo contexto, se conocen otras especies que no afectan solamente a los vegetales sino también a la salud de animales y humanos como varias especies de *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* y *Alternaria*, las cuales tienden a producir micotoxinas, siendo señaladas como posibles detonadores de células cancerígenas (Mdee *et al.*, 2009).

Los hongos fitopatógenos se encuentran divididos en dos categorías principales: patógenos biotróficos, que forman interacciones íntimas con las plantas y pueden persistir y utilizar tejidos vivos (biotrofos), y patógenos necrotróficos, que matan el tejido para extraer nutrientes (necrótrofos). Sin embargo, existe una tercera categoría ampliamente aceptada en el campo de la fitopatología, donde encajan aquellos hongos que comienzan como biotrofos y luego cambian para convertirse en necrótrofos, mejor conocidos como patógenos hemibiotróficos (Doehlemann *et al.*, 2016).

Para poder encontrar a sus hospederos, los hongos fitopatógenos poseen estrategias que les permiten hacer llegar sus esporas a un organismo vegetal, teniendo la dispersión por viento, agua o insectos como su principal forma de transporte. Una vez que han llegado a la superficie de alguna estructura vegetal, el aire húmedo, la lluvia o el rocío causan que las esporas de un patógeno fúngico se hidraten. Esto a su vez, le permite desarrollar un mucílago en la punta de la espora, de tal forma que, la célula (espora) del hongo llega a fijarse de manera rápida y persistente (Hamer *et al.*, 1988). Una gran parte de los hongos fitopatógenos son capaces de formar una célula apresora en forma de cúpula para penetrar en sus hospedadores al romper directamente la capa de la cutícula. La célula del apresorio en forma de cúpula tiene una pared celular con quitina y una capa interna revestida con melanina, que permite la generación de

alta presión osmótica por acumulación de glicerol. El apresorio se adhiere a la superficie del huésped y aplica una fuerza mecánica impulsada por la turgencia sobre una clavija de penetración delgada que rompe la cutícula en la base del apresorio. Esta finalmente crece hacia la célula epidérmica de la planta subyacente. Esta presión física y cierto grado de degradación enzimática de la cutícula y la pared celular del huésped permiten que la clavija penetre en los tejidos del huésped (Doehlemann *et al.*, 2016, Wilson *et al.*, 2009).

2.6 Beneficios del uso de extractos vegetales como fungicidas

Durante años, los fungicidas sintéticos han encontrado una vía efectiva para controlar diversos patógenos en los vegetales, aunque su uso ha desembocado en varios efectos negativos para el medio ambiente (Lee, 2007). Existe un paquete de fungicidas sintéticos que son comúnmente utilizados para combatir patógenos en los cultivos como lo son el Imazalil, tiabendazol, pirimetanil, procloraz y la guazatina, los cuales generan desechos tóxicos cuya remoción del ambiente representa enormes gastos (Plooy, *et al.*, 2019). La mayoría de los fungicidas sintéticos no son biodegradables y en adición pueden acumularse en los suelos, plantas y agua, razón por la cual se hacen presentes en la cadena alimenticia y podrían afectar la salud humana (Tapwal *et al.*, 2011).

Los extractos vegetales con propiedades capaces de actuar como fungicidas poseen beneficios que les permiten ser una alternativa viable a los fungicidas sintéticos. Estos son amigables con el medioambiente ya que se degradan en pocos días, exhiben poca o nula fitotoxicidad y, tienen la capacidad de ser modificados para mejorar su rendimiento y calidad. En casos raros, los patógenos generan resistencia a las moléculas naturales, además de que dichas sustancias presentan un alto grado de especificidad (Ramírez *et al.*, 2015).

El uso de fungicidas sintéticos para el control de hongos fitopatógenos en los cultivos ha disminuido en los últimos años debido a diversos estudios relacionados con las propiedades químico-bioactivas de las plantas (Kim *et al.*, 2003). Los fungicidas derivados de plantas vasculares utilizados como extractos, aceites esenciales o aleloquímicos puros tienen un enorme potencial contra los hongos patógenos de plantas ya que cuentan con una amplia gama de

metabolitos secundarios como terpenos, taninos, cumarinas, alcaloides, compuestos fenólicos, quinonas y fitoalexinas (Ramírez *et al.*, 2015).

Se tiene registro de al menos 30,000 productos naturales provenientes de plantas con el potencial de atacar enfermedades fúngicas en los cultivos de uso agrícola, aunque solamente se ha realizado el escrutinio *fitoquímico* del 5 al 10% de todo el espectro que se cree tiene potencial fungicida. Por esta razón, es muy posible que el número de sustancias secundarias supere los 100,000 compuestos (Lee, 2005).

De acuerdo a Ramírez *et al.* (2015), el continente americano contiene una gran cantidad de familias botánicas con propiedades fungicidas, destacando *Asteraceae*, *Fabaceae*, *Lamiaceae*, *Rutaceae*, *Verbenaceae*, *Euphorbiaceae* y *Poaceae*.

2.7 Actividad biológica de los aceites esenciales

Los aceites esenciales han mostrado una aplicación antimicrobiana connotada. Más allá de su uso como condimentos o su aplicación en la industria cosmética, estos hidrodestilados han revelado un valor agregado como sustancias reguladoras del crecimiento de patógenos para el ser humano y como agentes anti-fitopatogénicos (Williams *et al.*, 1998). En el área de los alimentos, los aceites esenciales son actualmente usados como aditivos antimicrobianos naturales que extienden la vida de anaquel de productos alimenticios naturales o procesados (Calo *et al.*, 2015). Los aceites esenciales y su combinación con otras sustancias de amplio espectro y de naturaleza biodegradable, así como poco o nulamente tóxicos para el ser humano, representan una amplia área de oportunidad debido a la aparición de fitopatógenos cada vez más resistentes. Es importante recalcar que en los años subsiguientes se requerirá un mayor esfuerzo en la formulación de sustancias antibacterianas y anti-fúngicas debido a una resistencia antimicrobiana cada vez más marcada (Santamaría *et al.*, 2017, Yap *et al.*, 2014).

Algunos aceites esenciales comunes como es el caso del aceite de tomillo y de lavanda han demostrado propiedades regulatorias en al menos 10 hongos y bacterias post-cosecha (Santamaría *et al.*, 2017). De acuerdo con estudios anteriores, estos aceites pueden contrarrestar el crecimiento de hongos

oportunistas altamente agresivos que invaden una variedad amplia de cultivos agronómicos, tal y como es el caso de los hongos pertenecientes a los géneros *Colletotrichum*, *Penicillium*, *Mucor* y *Botrytis* (Santamaria *et al.*, 2017).

Los aceites esenciales ejercen su efecto antimicrobiano, afectando principalmente la membrana celular del fitopatógeno. Los factores que determinan la actividad de los aceites esenciales son la composición, los grupos funcionales presentes en los componentes activos y sus interacciones sinérgicas. En células bacterianas, la pérdida en la integridad de membrana y el incremento en la permeabilidad de esta, se encuentra relacionada a la capacidad de los aceites esenciales para afectar el funcionamiento del sistema de bombas que utilizan las células bacterianas (Yang *et al.*, 2015). Sin embargo, en comparación con las bacterias Gram negativas, las bacterias Gram positivas son más susceptibles a los aceites esenciales, debido principalmente, a que las bacterias Gram negativas tienen una membrana externa rígida, rica en lipopolisacáridos. Por ser más compleja, se limita la difusión de compuestos hidrófobos través de ella. Mientras que esta membrana extra compleja está ausente en bacterias Gram-positivas que, en cambio, están rodeadas por una pared gruesa de peptidoglicano, la cual no es lo suficientemente densa para evitar el acceso de pequeñas moléculas antimicrobianas. Además, las bacterias Gram positivas pueden facilitar la infiltración de compuestos hidrófobos de aceite esencial, debido a los extremos lipofílicos del ácido lipoteicoico presentes en la membrana celular (Chouhan *et al.*, 2017).

En hongos fitopatógenos, los aceites esenciales alteran de igual forma que en las bacterias a las membranas celulares fúngicas. Sin embargo, el proceso es diferentes, ya que los compuestos antimicrobianos que se encuentran en algunos AE atacan principalmente la formación de esteroides, más precisamente (en el caso de los hongos) al ergosterol. El ergosterol es un componente de suma importancia en las membranas de células fúngicas, puesto que, estabiliza las propiedades físicas de la membrana, proporcionándole una fluidez necesaria para asegurar el efecto de barrera, además de permitir el funcionamiento adecuado de las proteínas membranales. Los compuestos antimicrobianos que alteran la producción de esteroides en la membrana fúngica son conocidos como inhibidores en la biosíntesis de esterol (SBI). Estos afectan el orden de la

membrana, su integridad y permeabilidad al unirse a componentes de membrana para producir poros. Otros mecanismos afectan también el dominio lipídico de la membrana o dañan/modifican los componentes de membrana (Avis, 2007).

2.8 Aceites esenciales contra hongos fitopatógenos

La búsqueda de aceites esenciales con actividad antifúngica y antibacteriana en las plantas, ha sido motivo de varios estudios contra enfermedades persistentes como la pudrición del tallo (Manganya *et al.* 2015; Santamaría *et al.*, 2017) y la antracnosis (Sefu *et al.*, 2015).

La pudrición del tallo causada por *Fusarium oxysporum*, es comúnmente conocida por atacar una amplia variedad de cultivos, como es el caso del chile, tomate, papa, leguminosas y maíz en México (y en el mundo). No obstante, la actividad antimicrobiana de los aceites de clavo y tomillo han mostrado un efecto inhibitorio en la formación de biopelículas de este hongo, las cuales, son requeridas para ejercer su patogenicidad (**Figura 3**).

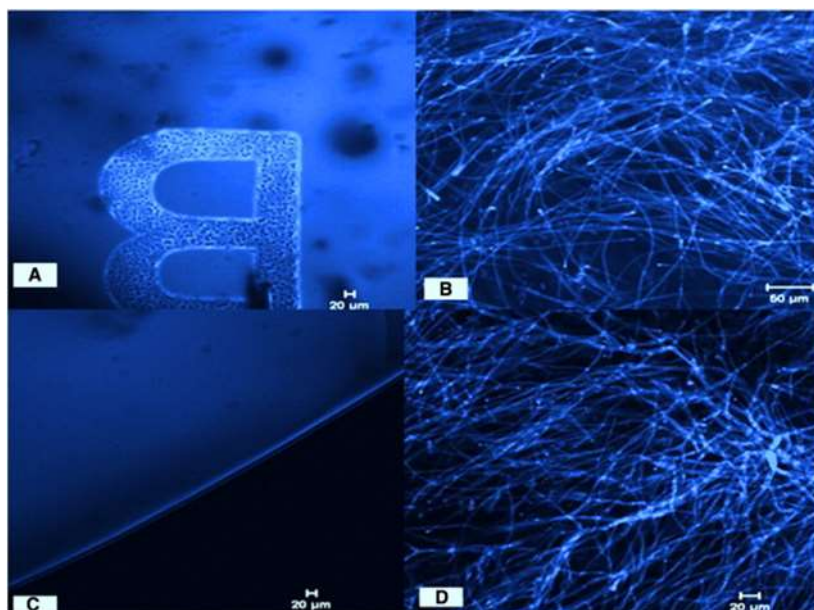


Figura 3. Biopelícula de *Fusarium* spp (S-1187) sobre lentes de contacto suaves después de 48 h de inoculación. A y C, Aplicación del aceite de tomillo y de clavo respectivamente. B y D, controles sin aceite esencial. Fuente: Tomado de Manganyi *et al.* (2015).

Un caso similar ocurre con el aceite esencial de *Lepidium virginicum* que ha sido estudiado y que es capaz de contrarrestar la aparición de los síntomas de

antracnosis causada por la infección de *Colletotrichum acutatum* sobre frutos post-cosecha de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) (Pacheco-Hernández *et al.*, 2021), (Figura 4).

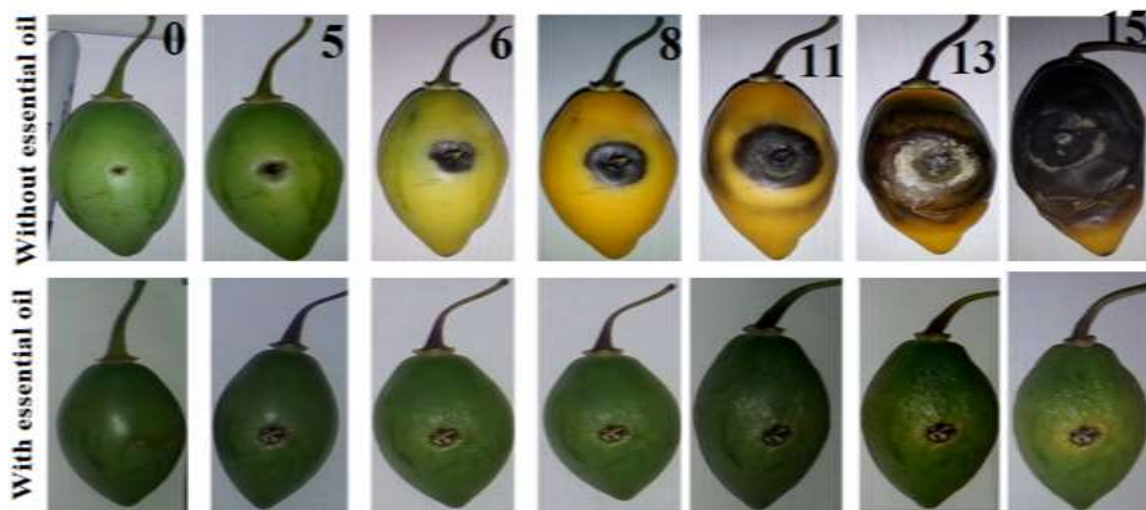


Figura 4. Efecto del aceite esencial de *Lepidium virginicum* sobre la aparición de síntomas de antracnosis en tomate de árbol. Los números indican los días transcurridos (Pacheco-Hernández *et al.*, 2021).

De manera remarcable, el aceite esencial de *L. virginicum* y sus principales constituyentes (fenilacetónitrilo, limoneno, linalool, y alfa-terpineol), al ser evaluados de manera individual, mostraron un rol claro, aunque diferencial sobre el efecto retardante del aceite esencial y los síntomas de antracnosis (Pacheco-Hernández *et al.*, 2021).

Por otra parte, el aceite esencial de las partes aéreas de *Salmea scandens* mostró actividad inhibitoria sobre el crecimiento de varios microorganismos fitopatógenos y patógenos de alimentos (Foodborne pathogens). Sin embargo, el aceite esencial de la corteza del tallo ha demostrado ser más eficaz que el de las hojas sobre cepas de colección de *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora infestans* (Villa-Ruano *et al.*, 2015). Estas evidencias sugieren que el germacreno D y los compuestos sesquiterpénico más abundantes como el elemol probablemente estén involucrados en la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *S. scandens* (Villa-Ruano *et al.*, 2015)

El espectro inhibitorio de algunos aceites esenciales de plantas exóticas se ha estudiado contra un número de hongos fitopatógenos. Los resultados mostraron que el aceite esencial de *Acorus calamus*, *A. conyzoides*, *A. nilagirica* y *Litsea cubeba* poseen actividad fungicida sobre hongos como *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum*, *Periconia microspinosa* y *Rhizopus oryzae* (Pramila *et al.*, 2016).

2.9 Propiedades químicas de los aceites esenciales.

Los aceites esenciales son compuestos volátiles, naturales y complejos que se caracterizan por tener un fuerte olor y se forman en plantas aromáticas como metabolitos secundarios. Son líquidos, translúcidos (aunque algunos pueden tener color). Son solubles en lípidos y solubles en solventes orgánicos con una densidad generalmente más baja que la del agua (Bakkali *et al.*, 2008, Perricone *et al.*, 2015)

Pueden ser sintetizados por todos los órganos de la planta, es decir, brotes, flores, hojas, tallos, ramas, semillas, frutas, raíces, madera o corteza, y se almacenan en células secretoras, cavidades, canales, células epidérmicas o tricomas glandulares. En las plantas juegan un papel como antibacterianos, antivirales, antifúngicos, insecticidas y también contra los herbívoros al reducir su apetito por determinadas plantas. También pueden atraer algunos insectos para favorecer la dispersión de pólenes y semillas, o repeler a otros organismos indeseables (Bakkali *et al.*, 2008).

Los componentes que son extraídos de las plantas se encuentran divididos en dos grupos. En el grupo principal se encuentran los terpenos, mientras que en el segundo grupo se encuentran los constituyentes aromáticos (fenilpropanoides) y alifáticos (derivados de ácidos grasos), caracterizados por tener un bajo peso molecular (Pichersky *et al.*, 2006).

Dentro del grupo de los terpenos se pueden encontrar grupos funcionales como los hidrocarburos, aldehídos, cetonas, ésteres, monocíclicos, éteres, peróxidos y fenoles. Mientras que para el caso de los aromáticos se encuentran los aldehídos, alcoholes, fenoles, derivados metoxi y compuestos de metilendioxi (Bakkali *et al.*, 2008).

2.10 Importancia de los terpenoides

La clase de los terpenos, son las biomoléculas más antiguas de las cuales se tiene registro (2.5 billones de años) y presentan la mayor diversidad de metabolitos secundarios, con más de 40,000 estructuras diferentes reportadas hasta la fecha (Caputi *et al.*, 2011).

Las formas oxigenadas de los terpenos se conocen como terpenoides y se encuentran involucrados en el metabolismo primario, donde desempeñan papeles clave y muy diversos en la función y el mantenimiento celular. Aunque estos compuestos cuentan con una gran diversidad de funciones y estructuras, en realidad los terpenoides se derivan de los bloques de construcción comunes de 5 carbonos isopentenil difosfato (IPP) y su isómero dimetilalil difosfato (DMAPP), también llamados unidades de isopreno (Caputi *et al.*, 2011).

Una gran cantidad de terpenos estructuralmente diversos se han caracterizado como metabolitos secundarios de las plantas teniendo funciones especializadas en la mediación de interacciones antagónicas y beneficiosas entre los organismos de su entorno (Dudareva *et al.*, 2000).

Los compuestos derivados de los terpenos generan componentes que las plantas han desarrollado para atraer polinizadores y dispersores de semillas con el fin de maximizar sus tasas de fertilización y supervivencia. Los ejemplos más comunes son los aromas florales y frutales volátiles (Dudareva *et al.*, 2000).

Se sabe que los compuestos fenólicos se encuentran relacionados con una gran parte de los procesos fisiológicos y presentan varios beneficios en múltiples funciones de las plantas como las propiedades sensoriales (color, aroma, sabor y astringencia), estructura, polinización, resistencia a plagas y depredadores, procesos germinativos de semillas después de la cosecha y el crecimiento, así como el desarrollo y la reproducción (Tomás *et al.*, 2001).

2.11 Importancia de los fenoles y flavonoides

Dentro del grupo de los compuestos fenólicos se encuentran sustancias con propiedades antioxidantes como lo son teaninas, chalconas y cumarinas, ácidos fenólicos y los flavonoides como los más representativos. Estos contribuyen a

las propiedades antioxidantes de los vegetales verdes, frutas, aceites de oliva, soja, vino tinto, chocolate y tés (Reis, 2013).

Según el grado de hidroxilación y la presencia de un doble enlace C2-C3 en el anillo de heterociclos de pirona, los flavonoides se pueden dividir en 13 clases siendo los más importantes los flavonoles, flavanoles, flavonas, isoflavonas, antocianinas y flavanonas (Sánchez, 2002).

Estas clases de flavonoides presentan diferentes características (tanto físicas como químicas) ya que se puede observar que existen algunas clases como las flavanonas que son incoloras, mientras que las antocianinas muestran coloración en flores y otras partes de las plantas. Además de mostrar facultades para combatir infecciones virales y bacterianas (Reis, 2013).

2.12 Análisis de nutraceuticos

El termino nutraceuticos se utiliza comúnmente para señalar a los alimentos que proveen beneficios para la salud, incluyendo la prevención y tratamientos de enfermedades (Brower, 1998). Los análisis nutraceuticos sirven para identificar componentes y alteraciones en los alimentos que surgen como consecuencia de las tecnologías de procesamiento y de conservación poscosecha, durante las cuales ocurren cambios fisiológicos y bioquímicos que degradan estos fitoquímicos. Dentro de los componentes que se encarga de analizar, se pueden encontrar compuestos químicos de valor nutricional como flavonoides, vitamina C, carotenos y compuestos fenólicos (Bernal *et al.*, 2011, Román-Arce *et al.*, 2020). De acuerdo a Sukrasno *et al.* (1993) algunos compuestos fenólicos que se encuentran en tejidos vegetales del chile como el cinamato, p-cumarato, cafeato, ferulado, vainillina y vanililamina pueden encontrarse en bajas cantidades, sin embargo, son compuestos de suma importancia para la síntesis de nutraceuticos importantes en el chile como lo son los capsaicinoides, además de jugar un papel importante en el incremento de estos compuestos conforme ocurre la maduración de la planta.

2.13 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y cromatografía líquida de alta resolución

La resonancia magnética Nuclear es una herramienta analítica muy utilizada que presenta múltiples ventajas (Viant, 2003). Es destructiva, imparcial, cuantificable, y requiere poca o ninguna separación cromatográfica. En adición, no se requiere ningún tipo de derivatización química y permite la identificación rutinaria de nuevos compuestos (Emwas *et al.*, 2019). Sin embargo, la RMN posee aun algunas limitaciones ya que presenta una sensibilidad baja y por ende algunos metabolitos que se presentan en bajas concentraciones no pueden ser detectados, razón por la cual diferentes técnicas han sido integradas para obtener una mejor imagen sobre el metaboloma de un organismo biológico (Feng *et al.*, 2020).

El método basado en GC/MS combina cromatografía de gases y la espectrometría de masas. Este posee la ventaja de presentar una alta capacidad, excelente repetitividad del tiempo de retención y genera bibliotecas de compuestos fácilmente disponibles, permitiendo la identificación de compuestos sin usar compuestos estándar. La técnica de GC/MS requiere la derivatización de las muestras que se están analizando cuando estos son compuestos no volátiles, ya que deben calentarse al estado gaseoso. Los metabolitos hidrófilos de bajo peso molecular como, por ejemplo: azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos, etc. Si los compuestos que se quieren analizar son de alto peso molecular que no se volatilizan, incluso después de la derivatización, entonces es necesario complementar el análisis con otras herramientas (Putri *et al.*, 2012).

Aun cuando el método GC/MS es utilizado para captar una mayor cantidad de metabolitos, cuando este es comparado con el método de cromatografía líquida con espectrometría de masas (LC-MS) muestra una capacidad para medir una cantidad mayor y más diversa de metabolitos que son difíciles de captar por el GC/MS (Lu *et al.*, 2013).

El LC/MS es la combinación de la cromatografía líquida con espectrometría de masas y tiene la capacidad de identificar una amplia variedad de metabolitos, ya sean de hidrófilos a hidrófobos o que vallan de alto peso molecular a bajo peso

molecular (Putri *et al.*, 2012). Además, el LC/MS posee la ventaja de no requerir derivatización química de metabolitos no volátiles en la mayoría de los casos (Feng *et al.*, 2020).

2.14 Bromatología

La Bromatología es un campo que se encarga de integrar distintas disciplinas asociadas a la ciencia de la alimentación, analizando la composición química de los alimentos a través de factores como la Humedad, Materia seca, Grasa cruda, Proteína cruda, Fibra cruda, Ceniza y el Extracto libre de nitrógeno (Chiang *et al.*, 2015, Deshmukh *et al.*, 2014). Los análisis bromatológicos son de suma importancia ya que ayudan a ampliar el conocimiento de la composición en los alimentos, control de calidad y la seguridad alimentaria, así como a evaluar la capacidad de ingesta relacionada a nutrientes individuales o poblaciones (Becker *et al.*, 2018).

La bromatología hace uso de disciplinas como la Química alimentaria, la cual se refiere a las propiedades químicas de los alimentos, que van desde la composición y las interacciones químicas de los componentes de una dieta entre sí u otros factores relevantes (como el medio ambiente). También se encuentra la Física alimentaria, que se encarga de estudiar las características generales (actividad del agua, masa, propiedades geométricas) hasta sus propiedades reológicas, fenómenos interfaciales, permeabilidad, radiactividad y propiedades térmicas, eléctricas, magnéticas, ópticas y acústicas. Por último, la biología alimentaria se ocupa de las propiedades biológicas generales de la comida como la maduración y senescencia de frutas, las interacciones microbiológicas con los alimentos en el aspecto de los probióticos y la fermentación, así como la fisiología de los alimentos musculares. A su vez, se pueden encontrar subdisciplinas, como las respuestas fisiológicas o “Fisiología de los alimentos”, la cual trata temas como los aspectos nutricionales, toxicología de los alimentos, impacto microbiológico asociado con los alimentos y efectos psicológicos. La “Ingeniería alimentaria”, que se encarga de abordar el desarrollo y/o creación de productos novedosos, además de la mejora y modificación de productos alimenticios existentes y la “Seguridad alimentaria”, que busca el acceso a alimentos suficientes y de calidad para satisfacer las demandas de la población

(Camp *et al.*, 2014, Chiang *et al.*, 2015, Costa *et al.*, 2006, Giovannoni, 2001, Pinstrup-Andersen, 2009).

III JUSTIFICACIÓN

Los aceites esenciales son mayormente conocidos por sus aplicaciones dentro de la industria farmacéutica y cosmética. En el campo de la agricultura, las propiedades anti-fitopatógenas de las plantas han sido estudiadas en menor medida, principalmente en forma de extractos vegetales, mientras que los aceites esenciales han tenido un desempeño notable en bacterias fitopatógenas, dentro de los pocos estudios hechos. La actividad biológica de los aceites esenciales en hongos fitopatógenos, ha sido poco documentada sobre los microorganismos que más pueden deteriorar la calidad de las plantas y específicamente de los frutos en condiciones de post-cosecha. Razón por la cual, el estudio de compuestos vegetales con actividad antifúngica requiere de mayor investigación. En conjunción a lo anterior, la mayoría de las tecnologías que se utilizan en el cultivo de chile manzano son de naturaleza sintética y afectan de manera negativa el medio ambiente además de causar resistencia en los microorganismos patogénicos. En contraste el uso de aceites esenciales contra fitopatógenos representa una alternativa amigable con el ambiente, económica y altamente efectiva para sustituir el uso gradual de fungicidas sintéticos. Los daños provocados por enfermedades fúngicas en el cultivo de chile manzano son la principal causa de pérdidas en la cosecha y en consecuencia, de pérdidas económicas. La creación de tecnologías cada vez más accesibles, que sean amigables con el ambiente y de fácil manejo para los productores de chile manzano es menester para elevar la producción de este cultivo que se ha visto diezclado en la última década. Debido a los problemas expuestos, el propósito de este estudio se centró en la evaluación de aceites esenciales con capacidad de contrarrestar la actividad microbiana de los principales hongos fitopatógenos que afectan la producción de chile manzano en parcelas de Yaonáhuac, Puebla.

IV OBJETIVOS

4.1 Objetivo general:

- ❖ Evaluar la actividad antifúngica de los aceites esenciales provenientes de plantas nativas del estado de Puebla, en frutos de chile manzano (*Capsicum pubescens*) infectados con hongos fitopatógenos, así como determinar los cambios físicos y de contenido de nutraceuticos que ocurren durante el proceso de infección.

4.2 Objetivos específicos:

- ❖ Aislar e identificar las especies de hongos fitopatógenos que infectan frutos de chile manzano (*Capsicum pubescens*) en huertos familiares de Yaonáhuac, Puebla.
- ❖ Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* e *in situ* de los aceites esenciales sobre hongos fitopatógenos del chile manzano.
- ❖ Realizar ensayos de metabolómica dirigida en frutos de chile manzano durante el proceso de infección con hongos fitopatógenos.

V HIPOTESIS

La aplicación de aceites esenciales sobre la superficie de chile manzano (*Capsicum pubescens*) disminuirá los síntomas y signos producidos por el crecimiento de los hongos fitopatógenos y evitará cambios químicos evidentes que afecten la calidad física y de contenido nutracéutico del fruto.

VI METODOLOGÍA

6.1 Sitio de muestreo

Se llevó a cabo la recolección de frutos de chiles manzano con signos de enfermedad (pudrición, manchas necróticas, marchitez entre otros) en huertos familiares ubicados en el municipio de Santiago Yaonáhuac, Puebla (**Figura 5**). Dichos huertos se encuentran localizados entre los paralelos $19^{\circ}87'16''N$ $97^{\circ}45'16''W$; 2000 MSNM. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio para su posterior esterilización y aislamiento. El lavado del tejido vegetal fue hecho con hipoclorito de sodio al 20% durante 30 minutos. El proceso de lavado se repitió, esta vez con agua y etanol a una proporción de 20:80 (20 min) y posteriormente se realizó un último lavado con agua potable estéril durante 30 minutos. Todos los lavados fueron hechos en condiciones de esterilidad, en campana de flujo laminar.



Figura 5. Huerto de chile manzano en el municipio de Yaonáhuac, Puebla. Fuente: elaboración propia.

6.2 Estado situacional del cultivo de chile manzano en Yaonáhuac, Puebla

La información publicada sobre el manejo del cultivo en la localidad de Yaonáhuac, Puebla, es nula. Razón por la cual, se realizaron entrevistas a cinco productores elegidos al azar. En estas encuestas se buscó información referente

a la historia del cultivo dentro del municipio, producción y principales problemas fitosanitarios relacionados con el chile manzano (**Anexo 1**).

6.3 Cámara húmeda

Para propiciar el crecimiento de los hongos presentes en los frutos de chile manzano, se colocaron 4 montículos de algodón envueltos con gasas (humedecidas con agua estéril) cerca de las paredes de los recipientes de plástico esterilizados con cloro. De igual forma, chiles sintomáticos fueron colocados en el centro del recipiente de plástico, el cual fue sellado posteriormente durante un periodo de 5 días a 25 °C y 70 % de humedad relativa (**Figura 6**).



Figura 6. Tejido enfermo de chiles manzano almacenados en un recipiente de plástico (cámara húmeda).

6.4 Aislamiento de hongos

Subsecuentemente a la aparición de biomasa fúngica y deterioro de los frutos, los trozos de frutos conteniendo crecimiento hifal fueron separados y colocados en medio agar dextrosa papa (PDA). Las morfologías fueron purificadas a través de resiembras repetidas, hasta asegurar la pureza de los hongos. Las morfologías fueron mantenidas en este medio de manera rutinaria para experimentos posteriores (Krug, 2019), **(Figura 7)**.



Figura 7. Inoculación de hongos provenientes de tejidos vegetales enfermos. Fuente: Elaboración propia.

6.5 Preparación de medios

El medio PDA usado para el mantenimiento de los hongos fue de elaboración propia. Para la preparación de un litro de solución, se usó el extracto acuoso de 200 gramos de papa hervida con corteza, el cual fue vertido en 20 g de glucosa anhidra y 14 gramos de agar bacteriológico como gelificante **(Figura 8)**.



Figura 8. Elaboración de medios de PDA. Fuente: Elaboración propia.

6.6 Comprobación de los postulados de Koch

Chiles asintomáticos maduros de *Capsicum pubescens* fueron colectados en la zona de estudio y posteriormente fueron sumergidos en una solución de hipoclorito de sodio al 20% durante 6 horas. Los chiles fueron lavados finamente con fibra y jabón libre de fosfatos para ser secados y enjuagados con agua estéril en condiciones de asepsia (campana de flujo laminar). Los hongos aislados fueron sometidos a un proceso de estrés (4 días bajo rayo de sol y 2 días a 4 °C) con la finalidad de generar estructuras reproductivas. Un total de 1000 conidios (determinadas por dilución con cámara de Neubauer) fueron inoculados por daño mecánico en un punto específico de los frutos con la ayuda de una micropipeta. Los frutos infectados con el fitopatógeno fueron depositados en recipientes de plástico transparente (previamente esterilizados con cloro) a 25 °C y a una humedad relativa promedio del 76%. El grupo control fue inoculado con un volumen equivalente de solución salina estéril. La firmeza fue determinada con un higrómetro modelo HTC-2. La aparición de biomasa fúngica y síntomas de pérdida de firmeza en el fruto fueron monitoreados por un periodo de 12 días. Las pruebas se realizaron por quintuplicado. Una vez finalizado el monitoreo, se procedió a depositar las muestras en bolsas en congelación para análisis posterior (**Figura 9**).



Figura 9. Muestras de chile manzano en congelación (al término del monitoreo).

6.7 Preparación de microcultivos

Para obtener imágenes de las estructuras reproductivas presentes en los hongos fitopatógenos aislados (que pudieran ser observables en microscopio), fue necesaria la elaboración de microcultivos. Estos se obtuvieron a partir de cultivos crecidos en placa Petri durante de 7 días de acuerdo con Quintana-Obregón *et al.* (2013).

6.8 Microscopia

Las estructuras reproductivas fueron teñidas con verde de malaquita y azul de algodón para posterior observación en un microscopio Binocular Primo Star Carl Zeiss, mientras que, para la microscopia electrónica de barrido, las estructuras del hongo fueron deshidratadas en desecador por 5 días y teñidas con oro para

ser monitoreadas en un microscopio electrónico de barrido JEOL modelo JSM6610LV.

6.9 Análisis Bromatológicos y Cromatográficos (HPLC-MS)

Los análisis bromatológicos y la determinación de carotenoides por HPLC-MS se realizaron en el Laboratorio de Nutracéuticos de Plantas, en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (Unidad Irapuato), usando un cromatógrafo de líquidos de alta presión marca Agilent modelo 1100 equipado con un detector de arreglo de diodos, una columna YMC-C₃₀ (5 µm, 250 × 4.6 mm i.d.) y un detector selectivo de masas Micromass, Manchester, UK. Las condiciones fueron aquellas descritas por Rodríguez-Burruezo *et al.* (2010). Los análisis de capsaicinoides (capsaicina y dihidrocapsaicina; mg/100 g peso seco) se realizaron con el método descrito por Velazquez-Valle *et al.* (2020), usando un Cromatógrafo DIONEX 3000, acoplado a un detector de arreglo de diodos, disponible en el Centro Universitario de Vinculación y Transferencia de Tecnología, de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. El ácido ascórbico (vitamina C) se obtuvo en unidades mg/100 g peso seco con el método de titulación colorimétrico de la AOAC, (1999). La medición del pH se realizó acuerdo al método 981.12 de la AOAC. La cuantificación aflatoxinas se efectuó en el Centro Universitario de Vinculación y Transferencia de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Los análisis bromatológicos se estimaron de acuerdo con los protocolos estándar de la AOAC (2005). Los factores analizados fueron el porcentaje de humedad (método 926.08), materia seca (método 926.08), proteína cruda (método 920.23), grasa cruda (método 920.39), fibra cruda (método 962.09), ceniza (método 923.03) y extracto libre de nitrógeno. Todos los ensayos se realizaron por quintuplicado. Los datos correspondientes a la firmeza se obtuvieron en unidades kg/cm² con un penetrómetro marca VTSYIQI, modelo GY-3.

6.10 Extracción de aceites esenciales

Para la obtención de aceites esenciales se utilizó el método de destilación por arrastre de vapor usando un aparato de tipo Clevenger de 5 litros. La destilación se llevó a cabo por tres horas de acuerdo con la farmacopea europea y el exceso de agua se eliminó con sulfato de sodio anhidro.

6.11 Microdilución en caldo

Los análisis antifúngicos se realizaron con el indicador de viabilidad resazurina (Sigma-Aldrich Co.), con discos hifales de 4 mm de diámetro extraídos a partir de cultivos en PDA de 7 días (Loures *et al.*, 2015). Los discos hifales fueron depositados en 300 μ l de medio PDB, en microplacas de Elisa de 96 pozos durante un periodo de 40 horas a 28 °C en agitación moderada (50 rpm). Curvas de dosis respuesta (10-500 μ g/ml) fueron efectuadas con los aceites esenciales previamente emulsificados en etanol absoluto. La concentración del aceite fue determinada de acuerdo a su densidad, la cual fue calculada mediante la determinación de su masa en una balanza analítica por quintuplicado. La conversión de resazurina en resorufina fue monitoreada a 630 nm usando un lector de microplacas de Elisa. Las concentraciones mínimas inhibitorias fueron estimadas de acuerdo con Chadha *et al.* (2015). Cada punto de la curva fue ensayado por quintuplicado.

6.12 Ensayos en lentes de contacto suaves

La técnica de microdilución en agar en lentes de contacto suaves, suele ser más efectiva que la dilución en agar convencional dentro de placas Petri, considerando que los volúmenes son menores y esto permite visualizar el crecimiento micelial o germinación de estructuras reproductivas en tiempo real a través de microscopía óptica. Para este propósito, se diluyeron 100 μ l de medio PDA ajustados con los valores MIC de los aceites esenciales sobre lentes de contacto suaves (cóncavas) comerciales (Air Optix®), (Manganyi *et al.*, 2015). Una vez gelificado el medio PDA, se vertió un total de 100 conidios para ser finalmente incubados a 28 °C por 48 horas. El monitoreo se realizó en un microscopio Binocular Primo Star Carl Zeiss.

6.13 Pruebas *in situ* en frutos de chile manzano

Las pruebas *in situ* se realizaron por aplicación directa de 1000 conidios de los hongos fitopatógenos, sobre la superficie sanitizada del chile manzano. Los procesos de desafección, cálculo de la cantidad de estructuras reproductivas y aplicación y monitoreo fueron aquellos descritos en las pruebas de patogenicidad. Posteriormente, 100 μ L de la solución de aceite esencial y sus volátiles más abundantes previamente emulsificados en etanol fueron

asperjados cada 24 horas en la zona de inoculación usando un microsprayer Penn-Century, Inc, por un tiempo de 20 días. Las pruebas se realizaron en quintuplicado.

6.14 Caracterización química de los aceites esenciales con actividad biológica

Hojas de *Mentha piperita* (obtenidas a partir de semillas certificadas; Semillas de las huertas S.A de C.V.) y de *Zanthoxylum limoncello* (voucher 158768, FCME-UNAM) fueron colectadas en el municipio de Yaonáhuac Puebla (19°87'16"N 97°45'16"W; 2000 MSNM). El aceite esencial obtenido por hidrodestilación, fue analizado en un cromatógrafo de gases marca Varian CP3800 equipado con una columna capilar Factor Four VF-5ms (30 m x 0.25 mm I.D, 25 µm of 5:95 fenil-PDMS) acoplada a un cuadrupolo sencillo marca Varian modelo 320MS. La fase móvil será helio a un flujo de 1 mL min⁻¹. Las condiciones de ejecución serán aquellas descritas por Villa-Ruano *et al.* (2015). La identidad de los componentes de los aceites se determinó de acuerdo con sus espectros de masas (70 eV) en comparación con la base de datos de referencia estándar NIST 2.0, con la literatura y mediante la inyección conjunta de estándares auténticos disponibles en el laboratorio. Los índices de retención de Kovats (RI) se obtuvieron en comparación con los tiempos de retención de una mezcla estándar de *n*-alcanos (C₈-C₂₀) en las mismas condiciones analíticas.

6.15 Identificación molecular de cepas fitopatógenas

La identidad de los hongos fitopatógenos fue obtenida a través del Servicio de Secuenciación del Colegio de Post-Graduados Campus Montecillo. La secuenciación estuvo basada en la secuenciación de las regiones de los espaciadores transcritos internos (ITS) y la proteína del factor de elongación 1-alfa (TEF).

6.16 Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado con el software STATGRAPHICS Centurion XVIII. Se elaboró un análisis de varianza con una prueba post-hoc Tukey a un nivel de significancia del 99% para los análisis bromatológicos y de carotenoides. El mismo análisis de varianza se realizó para comparar las MIC en los ensayos

in vitro con aceites esenciales e *in situ* para las pruebas en los frutos de chile, utilizando un nivel de significancia del 95%. Los gráficos de barras fueron elaborados con Microsoft Excel.

VII RESULTADOS

7.1 Certificación del chile manzano (*Capsicum pubescens*)

Los frutos usados en el presente trabajo fueron colectados a partir de plantas con identidad taxonómica certificadas a través del herbario de la facultad de ciencias (FCME, UNAM) con el voucher 177887 (**Figura 10**).



HERBARIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS (FCME), UNAM PLANTAS DEL ESTADO DE PUEBLA, MÉXICO

Folio: 177887

Especie: *Capsicum pubescens* Ruiz & Pav.

Familia: Solanaceae

Nombre común: "chile manzano"

Localidad: Yaonáhuac, Puebla.

Altitud: 1800 m.

Tipo de vegetación: Bosque mesófilo de montaña

Forma biológica: Arbustiva

Tamaño: 2 m.

Color flor: violeta

Fruto: No se colectó

Colector: Nemesio Villa Ruano

Número de colecta: s.n.

Usos: Comestible

Fecha colecta: 03/mayo/2020

Determinó: R. Cruz Durán, 2021

Figura 10. *Capsicum pubescens*. Ficha de identificación taxonómica avalada por el herbario de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

7.2 Aislamiento y microscopia de las cepas

Cuatro hongos fitopatógenos fueron aislados y purificados de las muestras de chile manzano mostrando síntomas de enfermedad (**Figura 11**). Las cepas fueron denominadas como CP1, CP2, CP3 y CP4 denotando las dos primeras letras del nombre científico de chile manzano (*Capsicum pubescens*) y el número correspondiente al orden secuencial mediante el que fueron aislados. Las cepas de hongos filamentosos aislados mostraron morfologías de hongos comúnmente encontrados en solanáceas. Dentro de estos, el que fue identificado con más facilidad fue *Fusarium* sp., (CP2) debido a la forma de sus microconidias lunadas.

Sin embargo, la falta de estructuras reproductivas observables en microscopio dificultó la identificación de algunas cepas, por lo tanto, un análisis de identificación molecular fue hecho para tener certeza del tipo de fitopatógeno que se hace presente en el fruto.

En las imágenes de microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido se observaron las estructuras reproductivas y la morfología general de los hongos a diferentes aumentos. Los aislados de CP1 mostraron a detalle las estructuras fúngicas, y en consecuencia fue posible proponer una posible identificación del hongo (**Figuras 12 ,13**). Sin embargo, en el aislado CP3 no fue factible visualizar las estructuras reproductivas (**Figura 16**). Por esta razón, no se propuso ninguna identificación morfológica preliminar. El aislado CP2 (**Figuras 14, 15**) y CP4 (**Figuras 17,18**), presentaron conidióforos erectos ramificados, fialidas intercalares, terminando en 1 a 3 fialidas, abundantes microconidios hialinos con 0 a 2 septos elipsoidales a ovalados, producidos individualmente o en falsas cabezas en monofialidas, por lo que se concluyó que estos hongos pertenecían al género *Fusarium* sp.

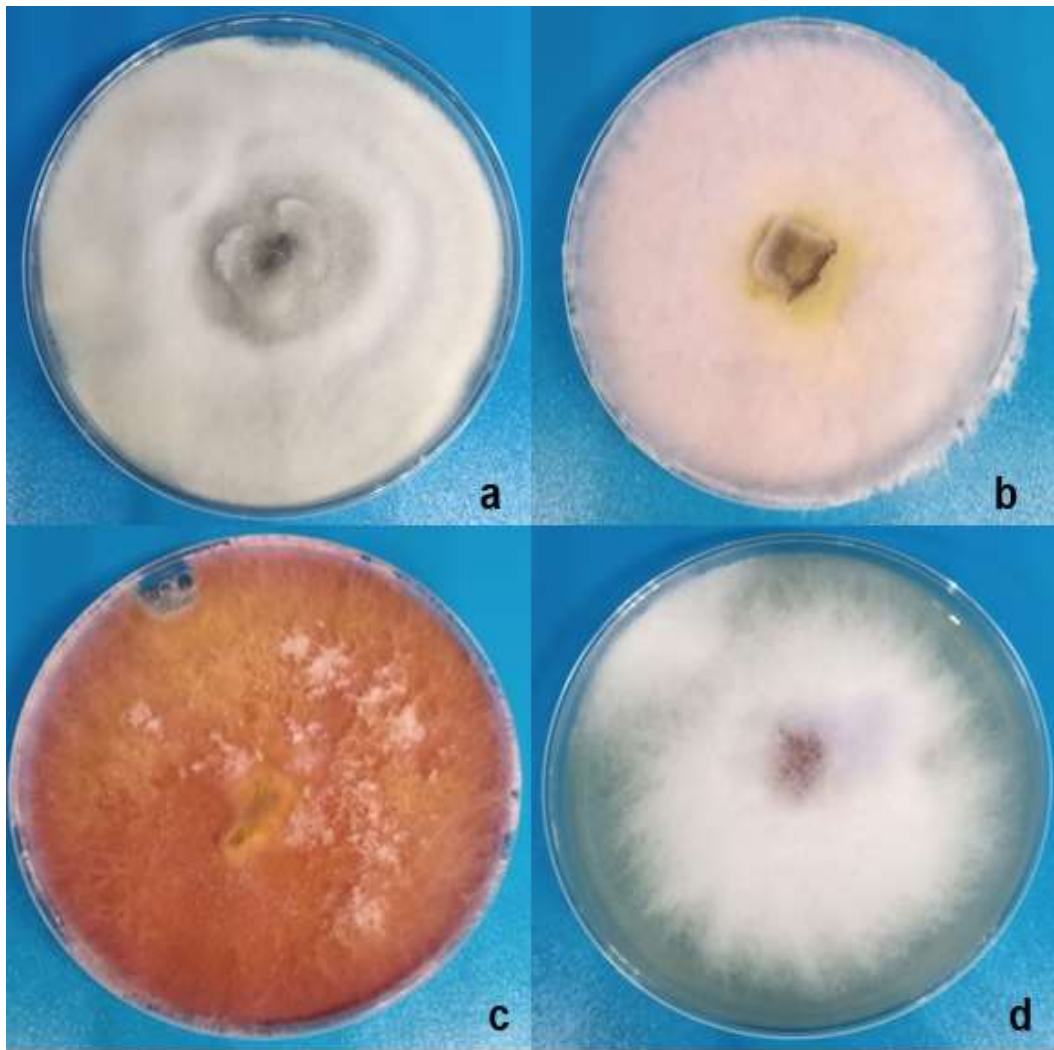


Figura 11. Cepas de hongos fitopatógeno aislados de frutos de chile manzano (*Capsicum pubescens*). a) CP1, micelio blanco con centro ennegrecido. b) CP2, micelio blanco con posterior coloración rosada. c) CP3, micelio anaranjado. d) CP4, micelio blanquecino con coloración purpura en el centro.

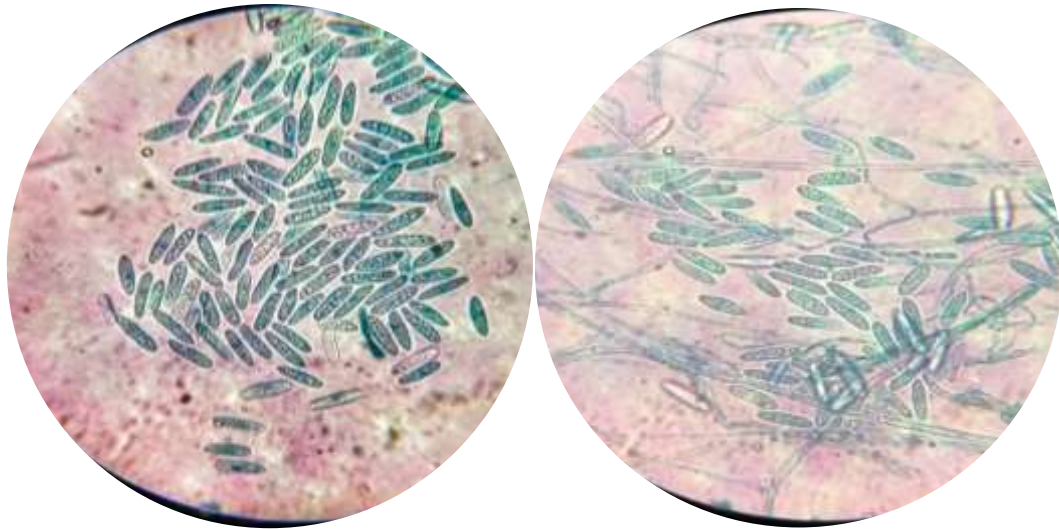


Figura 12. Microscopia de microcultivos pertenecientes al aislado CP1 de *Capsicum pubescens*.
a) conidios obovados. b) conidios cilíndricos con hifas septadas y hialinas.

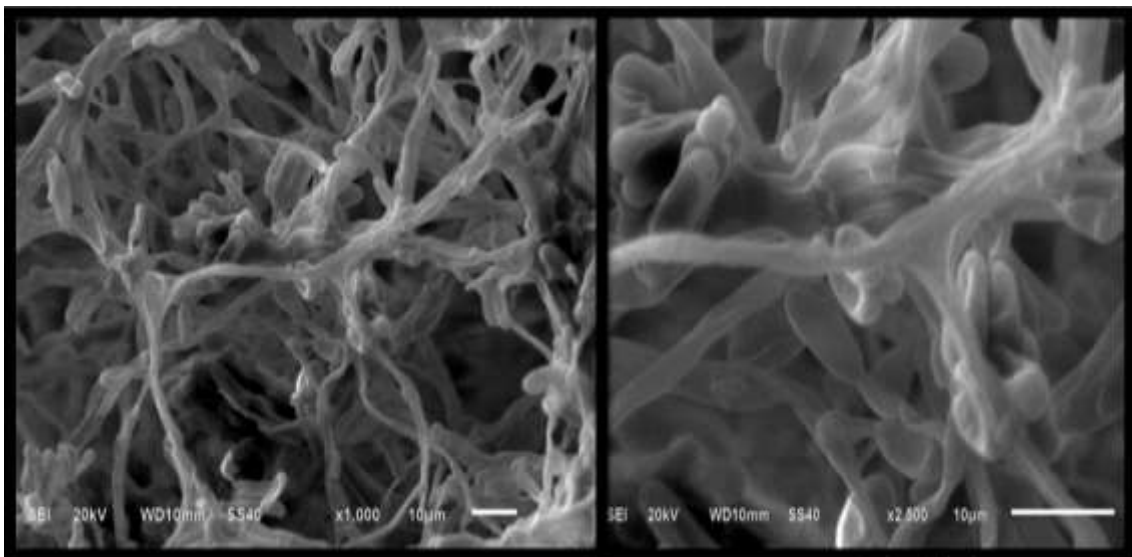


Figura 13. Micrográficas de SEM del aislado CP1. Vistas a 1,000 aumentos y 2,500 aumentos.

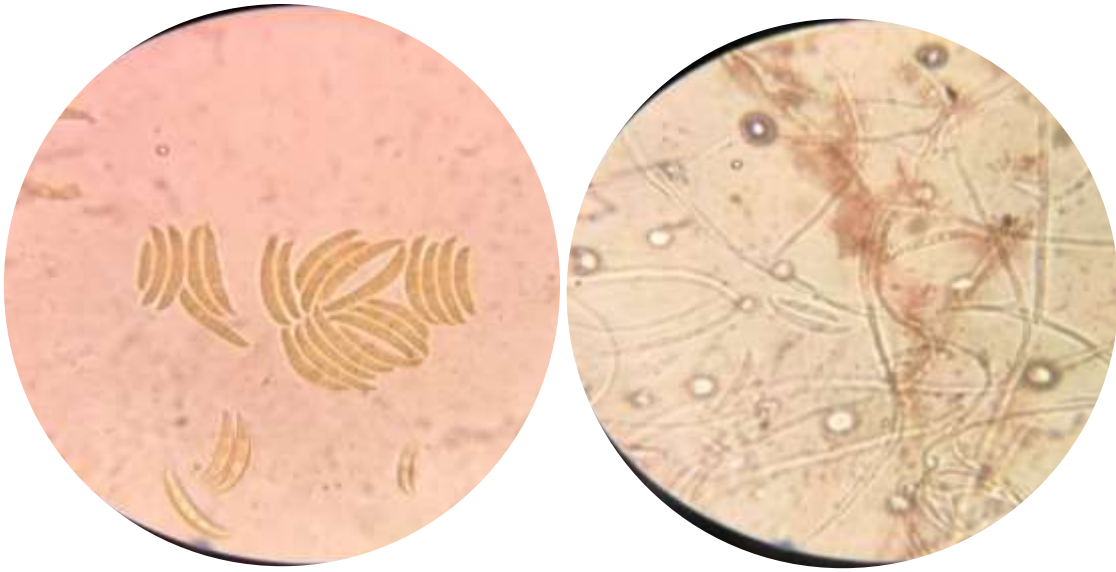


Figura 14. Microscopia de microcultivos pertenecientes al aislado CP2 de *Capsicum pubescens*.
a) microconidias hialinas, elipsoides. b) hifas hialinas y filides largas simples y ramificadas.

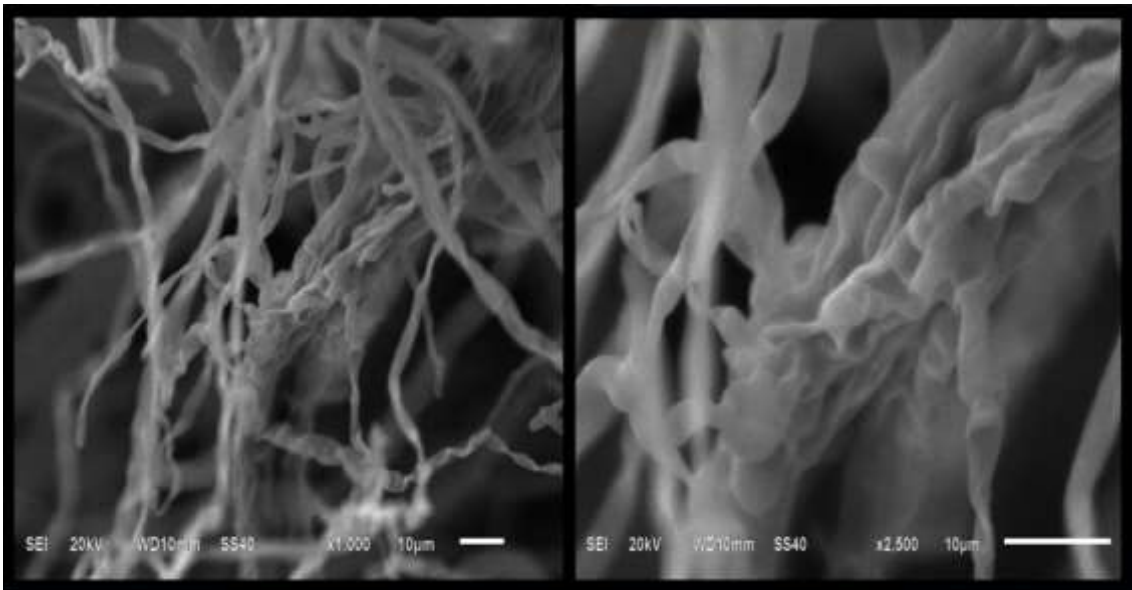


Figura 15. Micrograffías de SEM del aislado CP2. Vistas a 1,000 aumentos y 2,500 aumentos.

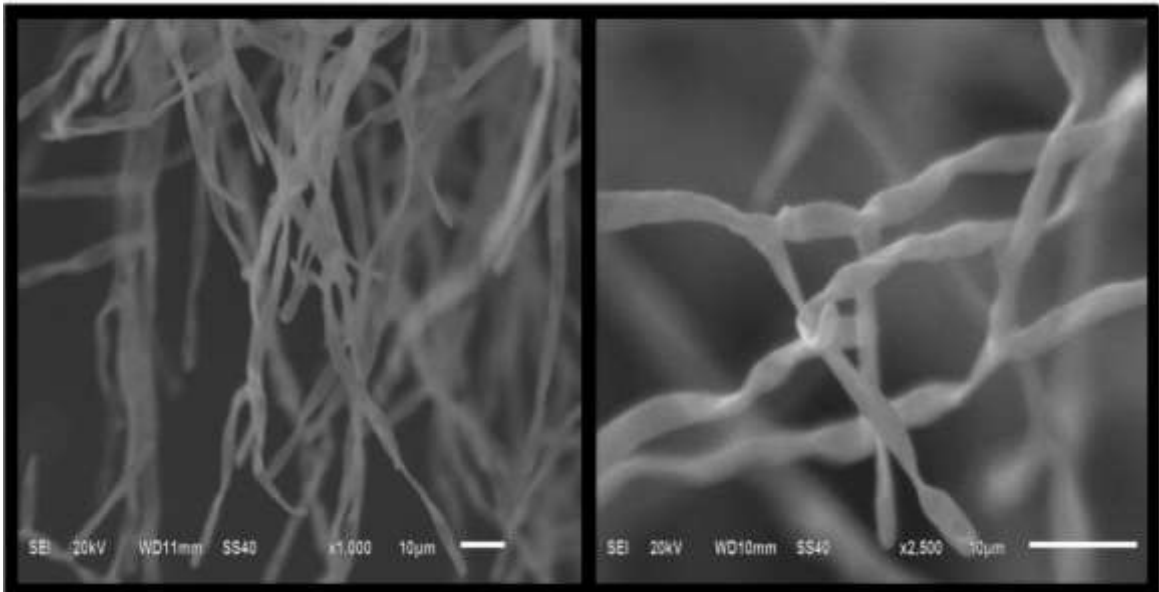


Figura 16. Micrográficas de SEM del aislado CP3. Vistas a 1,000 aumentos y 2,500 aumentos.

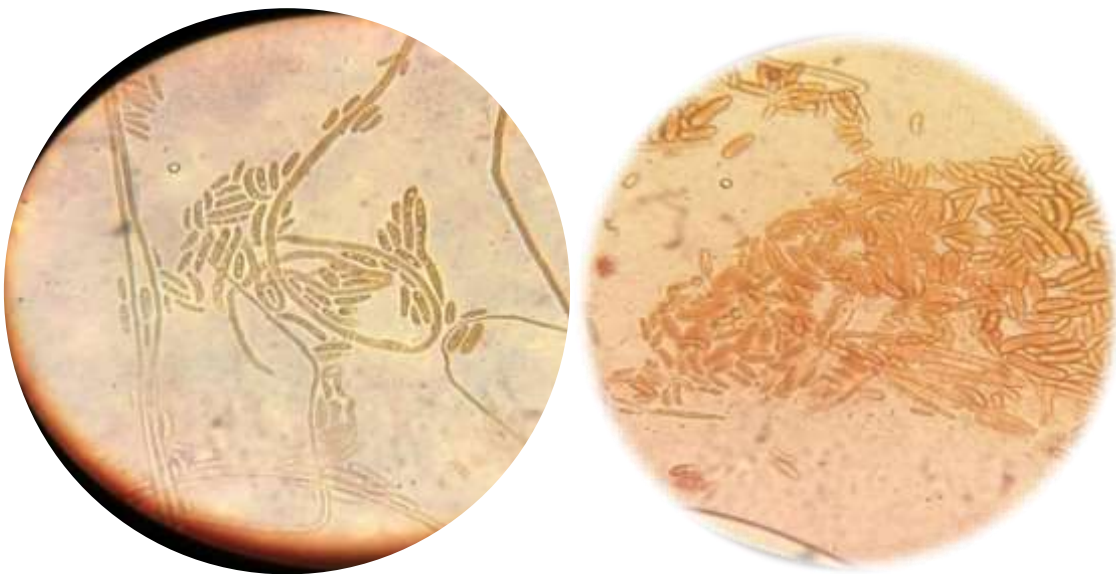


Figura 17. Microscopia de microcultivos pertenecientes al aislado CP4 de *Capsicum pubescens*.

A) hifas alargadas y septadas con conidios elipsoides y cilíndricas. C) conidios obovados y cilíndricos (*Fusarium temperatum*).

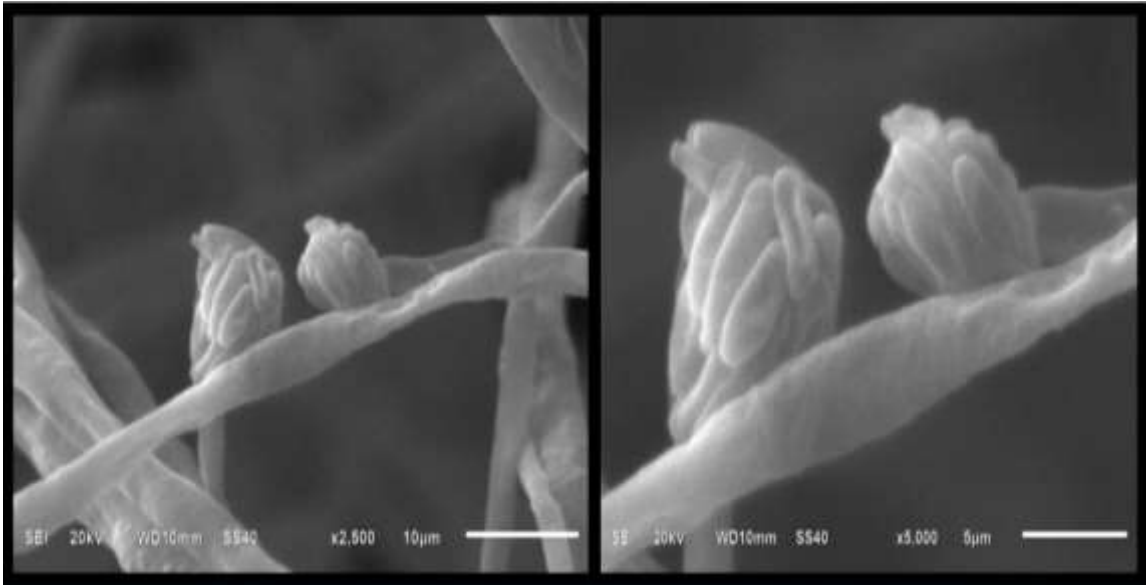


Figura 18. Micrograffías de SEM del aislado CP4. Vistas a 2,500 aumentos y 5,000 aumentos.

7.3 Postulados de Koch

El tratamiento control mostró la consistencia física de los frutos conforme pasan los 12 días de monitoreo. No se aprecia una diferencia notable cuando se compara el día 1 con el día 12, sin embargo, en algunos frutos se pudo observar la aparición de manchas y un micelio incipiente en la parte apical. La aparición de síntomas en el grupo control nos indicó la presencia de hongos patógenos endófitos y que se hacen presentes conforme transcurre la maduración de los frutos (**Figura 19**).

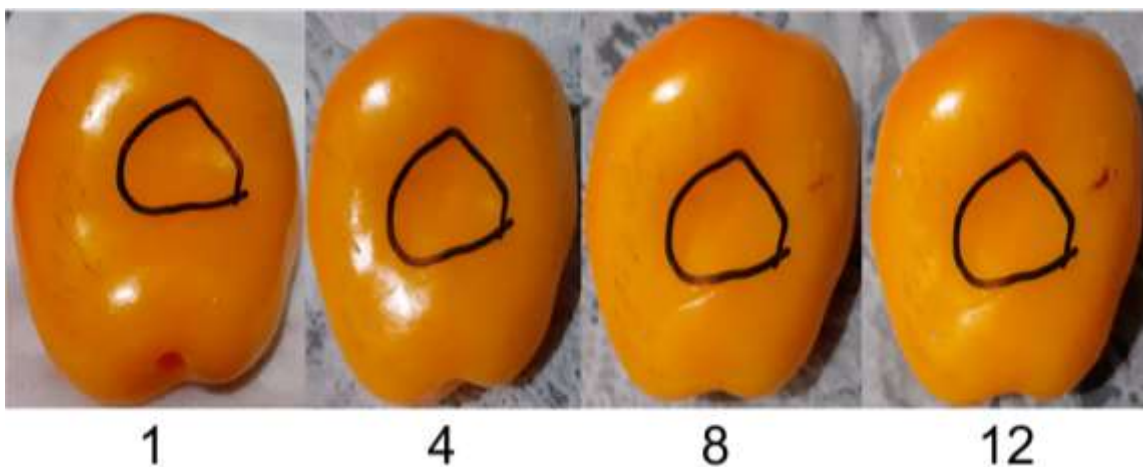


Figura 19. Cinética del crecimiento *in situ*. Grupo control.

El tratamiento hecho con el aislado CP1 mostró la aparición de una pequeña biomasa fúngica desde el primer día del monitoreo, mientras que los síntomas se volvieron notorios hasta el día 7 (**Figura 20**).

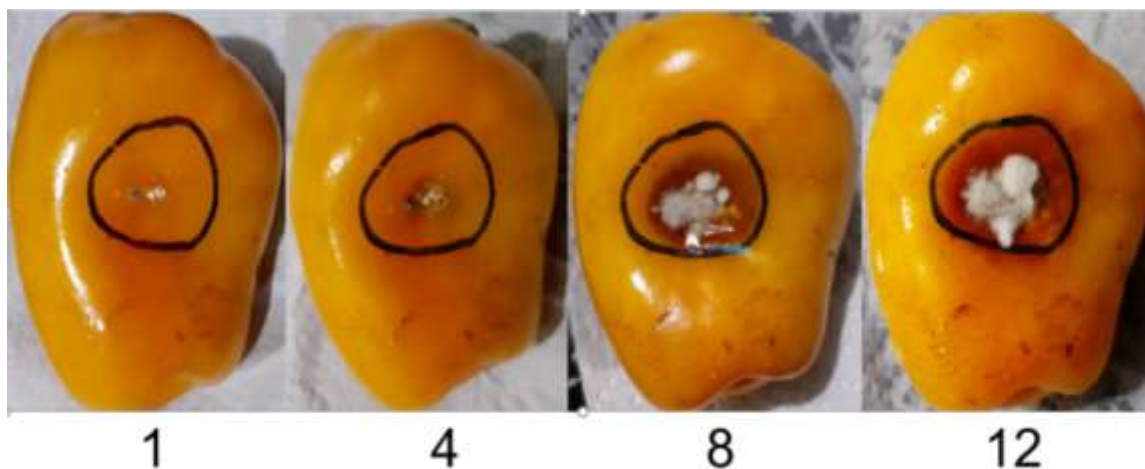


Figura 20. Cinética del crecimiento *in situ* con el aislado CP1.

El aislado CP2 generó una mayor cantidad de biomasa en toda la superficie del chile en comparación con el resto de los tratamientos y pérdida de turgencia al terminar el monitoreo (**Figura 21**).



Figura 21. Cinética del crecimiento *in situ* con el aislado CP2.

El tratamiento hecho con el aislado CP3 mostro una generación de biomasa menor al resto de los tratamientos, además de una pérdida de turgencia más notoria cuando se comparó con los otros tres tratamientos al final del monitoreo (**Figura 22**).

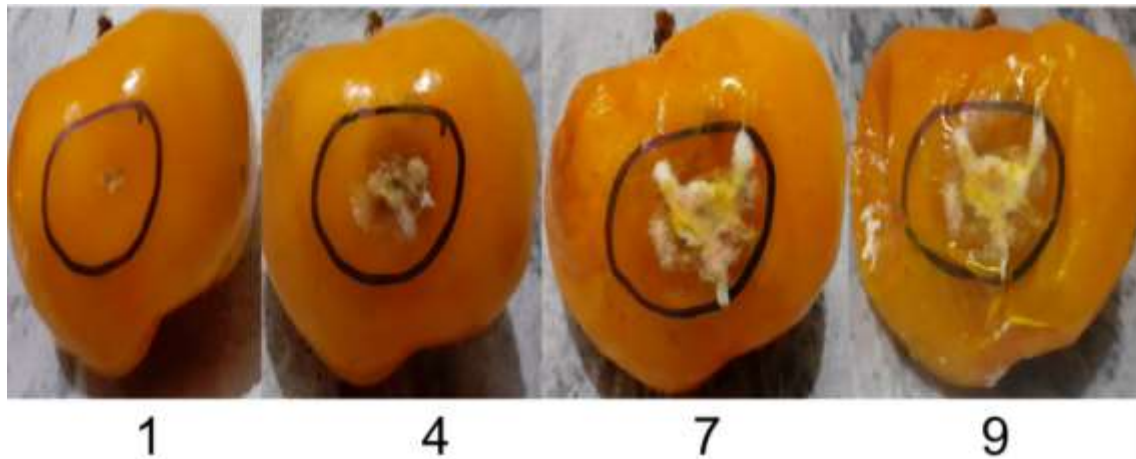


Figura 22. Cinética del crecimiento *in situ* con el aislado CP3.

Con el aislado CP4 actuando sobre los frutos, se pudo observar un crecimiento micelial denso, pero concentrado solamente en la zona de inoculación (centro del círculo). La pérdida de turgencia fue muy evidente al término del monitoreo (**Figura 23**).

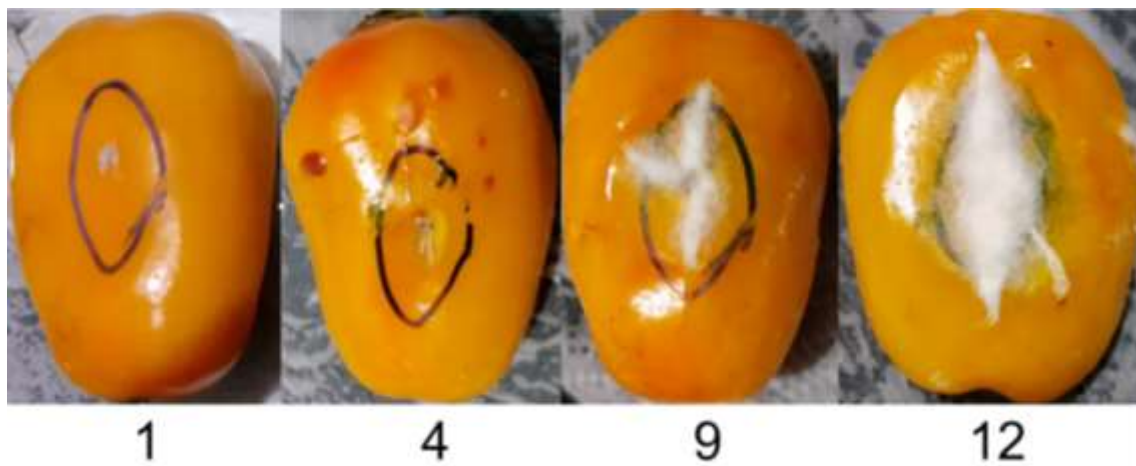


Figura 23. Cinética del crecimiento *in situ* con el aislado CP4.

7.4 Análisis bromatológicos

Factores ambientales como la humedad relativa y la temperatura tienen una profunda influencia en la capacidad invasiva de una gran variedad de hongos (Ibrahim *et al.*, 2012). El gráfico de humedad (**Figura 24**) indicó el efecto que ejercieron las 4 cepas de hongos en comparación con el grupo control. En general las cuatro cepas mostraron una diferencia estadística significativa en

comparación con el grupo control, mostrando una clara humidificación en el medio debido a la presencia del fitopatógeno. En cuanto a la comparación que se realizó entre las cuatro cepas, solamente el aislado CP3 mostró una diferencia significativa con los aislados CP1, CP2 y CP4, y genero un mayor porcentaje de humedad en el medio.

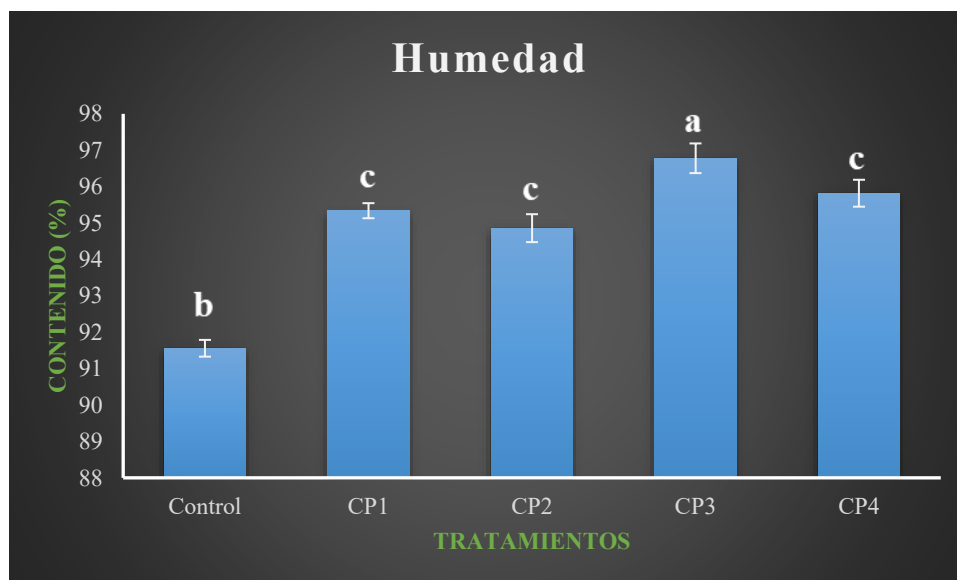


Figura 24. Humedad en frutos chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Las barras de error denotan la desviación estándar de 5 repeticiones y las letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.01$.

La materia seca es la parte que queda de una muestra de forraje fresco a la que se le ha extraído el agua mediante secado forzado. En contraparte con el factor humedad, la materia seca presento su mayor porcentaje en el grupo control, mientras que, en los tratamientos hechos con las cuatro cepas, se redujo dramáticamente el contenido de materia seca. Esta pérdida de materia seca por la infección de los hongos reflejó una pérdida de biomasa en los frutos de chile manzano, producto de la colonización fúngica. Esto último pudo estar relacionado con el consumo de carbohidratos de reserva y estructurales, así como de proteínas (**Figura 25**).

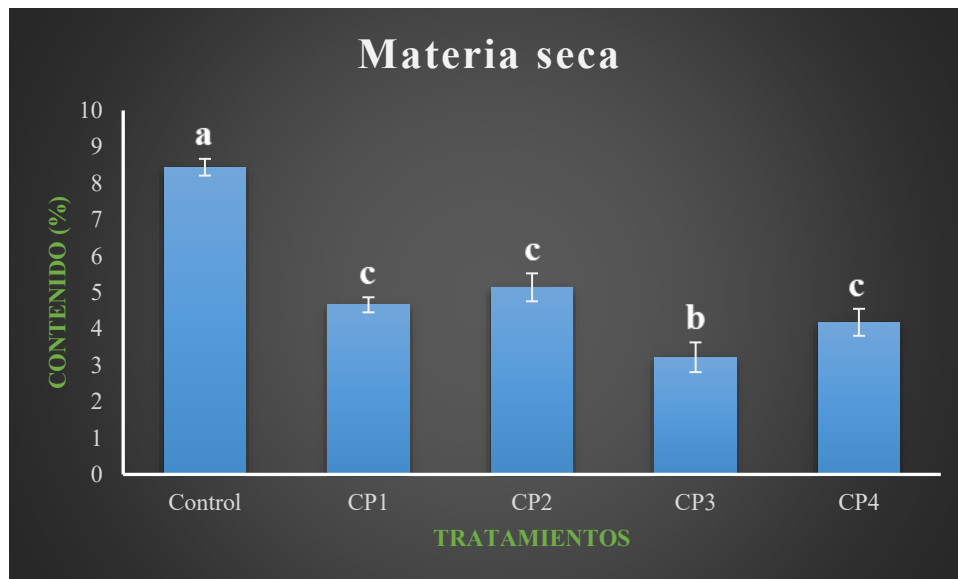


Figura 25. Materia seca en frutos chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Las barras de error denotan la desviación estándar de 5 repeticiones y las letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.01$.

La grasa cruda o los lípidos totales encontrados en un organismo biológico mostraron los porcentajes más altos en el grupo control y más bajos en los chiles infectados con los aislados CP1, CP2 y marcadamente con el aislado CP3. Interesantemente, el aislado CP4 no afecto de gran manera esta variable (**Figura 26**).

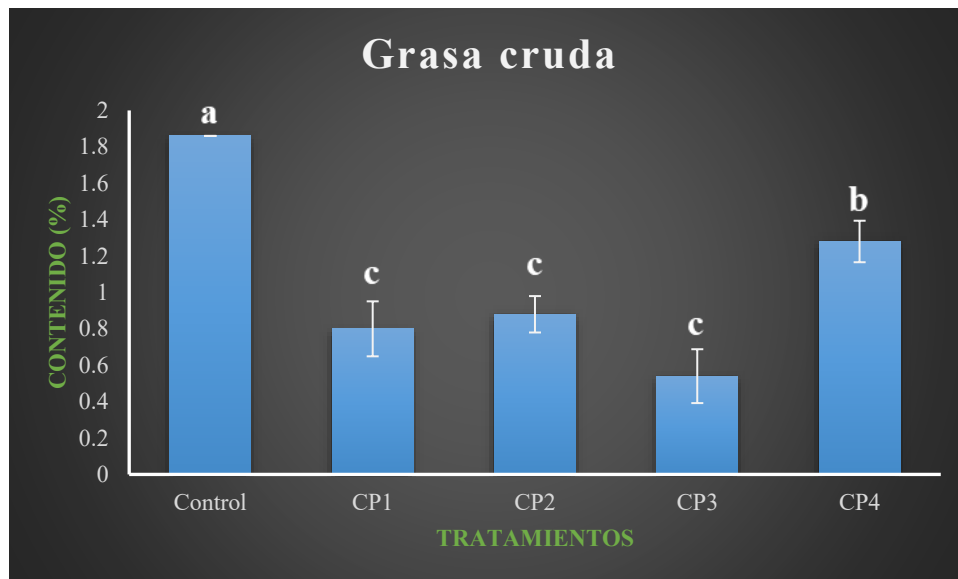


Figura 26. Grasa cruda en frutos chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Las barras de error denotan la desviación estándar de 5 repeticiones y las letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.01$.

En cuanto a la cantidad de proteína cruda (porcentaje de nitrógeno), el porcentaje más alto se obtuvo en el grupo control mientras que en el resto de tratamientos se observó una caída muy acentuada en el porcentaje, sin mostrar ninguna diferencia significativa entre las 4 cepas (**Figura 27**). Esto podría estar relacionado con el déficit de materia seca, producto de la infección y colonización de los hongos.

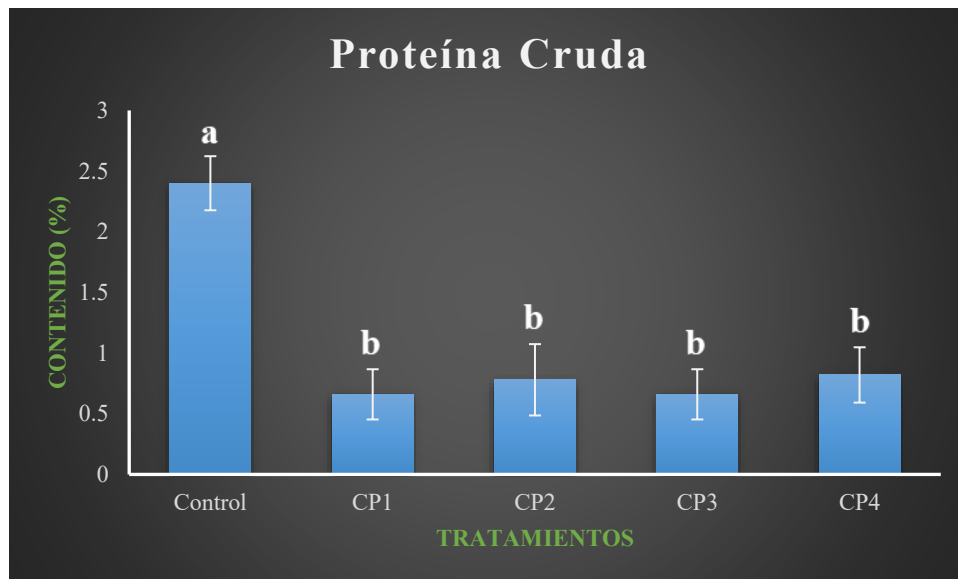


Figura 27. Proteína Cruda en frutos chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Las barras de error denotan la desviación estándar de 5 repeticiones y las letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.01$.

La fibra cruda son componentes de la pared celular, como la celulosa, la hemicelulosa y la peptina. El grupo control, así como los grupos tratados con los aislados CP1 y CP2 no mostraron una diferencia significativa cuando se trató de presencia y consumo de fibra cruda. Sin embargo, en los aislados CP3 y CP4 se redujeron en gran medida los niveles de este factor, indicando una actividad enzimática alta y efectiva por parte de ambas cepas (**Figura 28**).

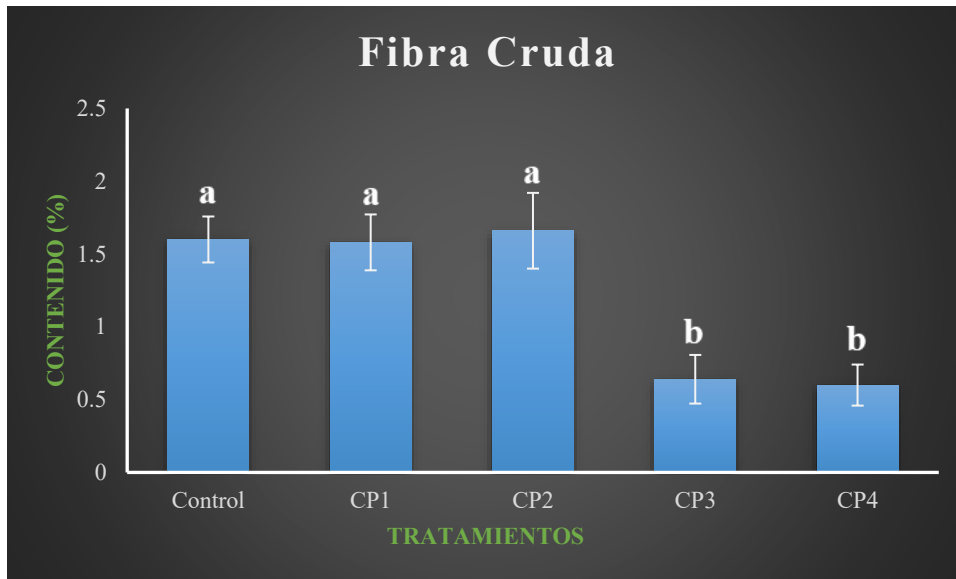


Figura 28. Fibra cruda en frutos chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Las barras de error denotan la desviación estándar de 5 repeticiones y las letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.01$.

La ceniza refleja la cantidad de minerales presentes en una muestra biológica. Son los residuos inorgánicos que resultan después de calcinar la materia orgánica, como los derivados de potasio. La comparación entre las 4 cepas y el grupo control mostró una diferencia significativa en el porcentaje de ceniza perteneciente a los frutos de chile (**Figura 29**).

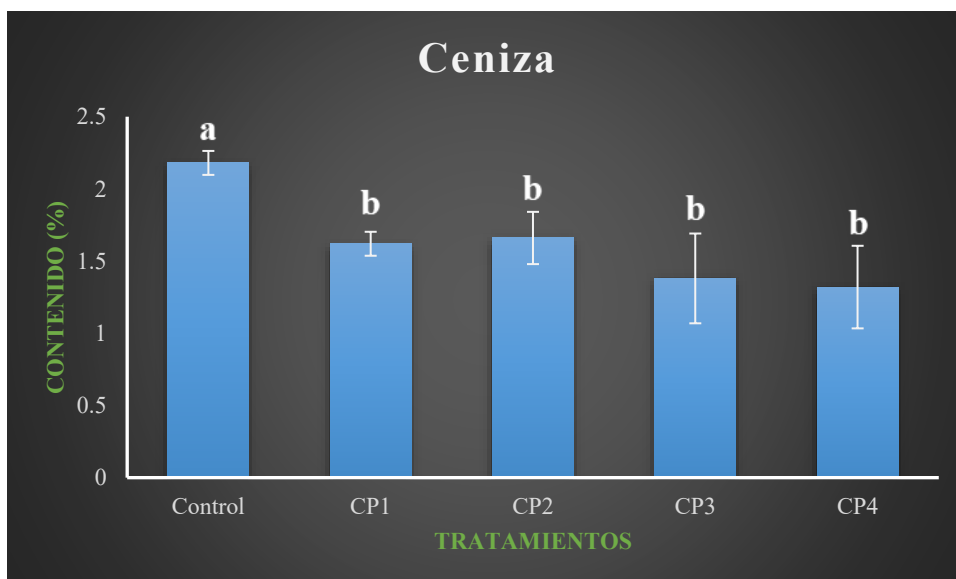


Figura 29. Contenido de ceniza en frutos chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Las barras de error denotan la desviación estándar de 5 repeticiones y las letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.01$.

Las mediciones que fueron hechas para cuantificar el porcentaje de extracto libre de nitrógeno (constituido principalmente por los almidones y azúcares presentes en el organismo biológico), mostraron aquellos compuestos que no pudieron ser clasificados en ninguno de los tópicos anteriores y que corresponden a vitaminas y carbohidratos no estructurales. El grupo control representó el mayor porcentaje, este no supera el 0.5%. De manera remarcable (**Figura 30**), los tratamientos con CP1, CP2, CP3 y CP4 redujeron hasta 0,1% este parámetro.

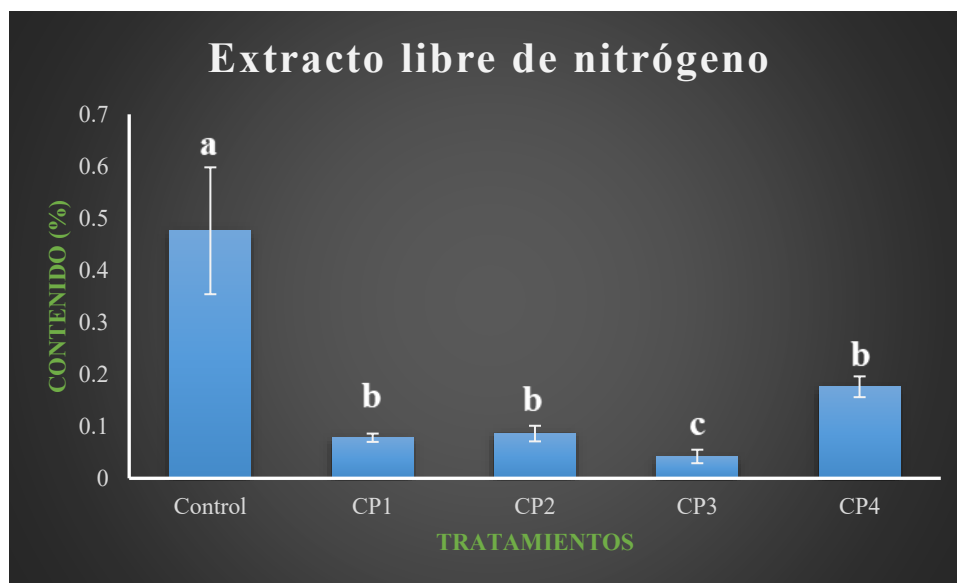


Figura 30. Extracto libre de nitrógeno en frutos chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Las barras de error denotan la desviación estándar de 5 repeticiones y las letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.01$.

Los resultados relacionados a la firmeza en kg/cm^2 (**Figura 31**), mostraron la consistencia física de los frutos de chile al terminar el monitoreo. Los datos indican una pérdida significativa de firmeza al ser comparados con el grupo control, afectando de gran manera la calidad morfológica del fruto.

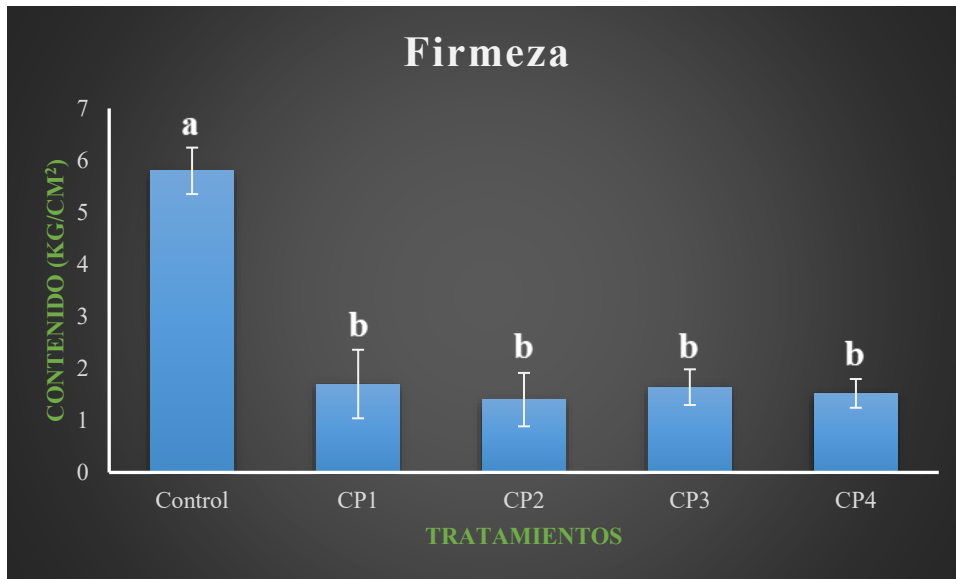


Figura 31. Firmeza en frutos de chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Las barras de error denotan la desviación estándar de 5 repeticiones y las letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.01$.

En cuanto al pH, se pudo observar cómo el proceso infeccioso tiende a causar una reducción en los niveles. Este parámetro se vio afectado principalmente con los aislados CP1, CP2 y CP3 (**Figura 32**).

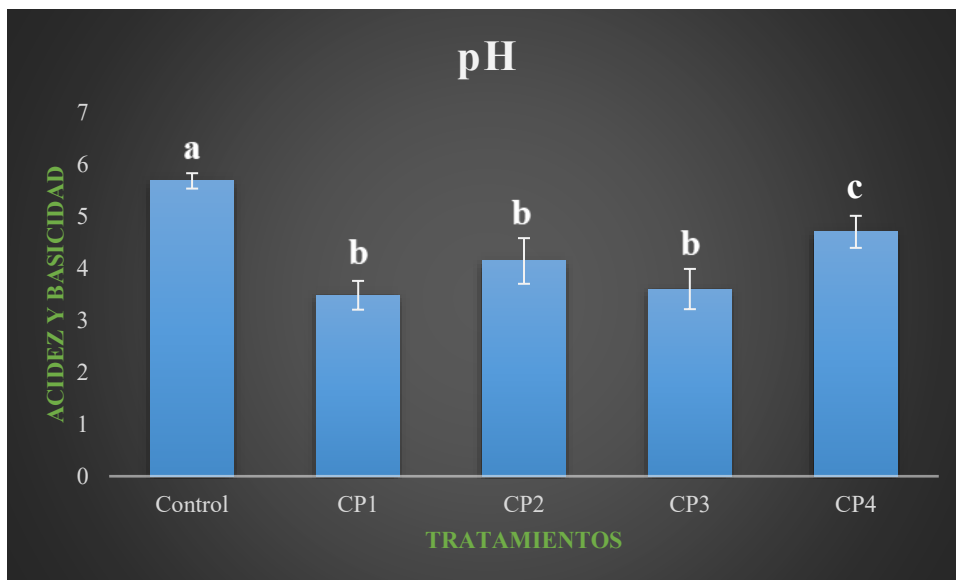


Figura 32. pH en frutos de chile manzano (*Capsicum pubescens*) bajo la influencia de las distintas cepas fúngicas ensayadas. Las barras de error denotan la desviación estándar de 5 repeticiones y las letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.01$.

7.5 Identificación de carotenoides

La **Tabla 1** resume el contenido de carotenoides presentes en el chile manzano colectado en Yaonáhuac, Puebla. De acuerdo a nuestros resultados siete carotenoides principales fueron plenamente determinados por la técnica de HPLC-MS. Dicha identificación, se basó en el espectro de masas y en el espectro luz ultravioleta. Nuestros resultados sugirieron que la coloración amarillo-naranja de estos frutos estuvo relacionada con la presencia de estas moléculas, pero sobre todo con la violaxantina que fue la más abundante en todos los ensayos realizados (**Tabla 2**).

Tabla 1. Compuestos carotenoides e interpretación numérica. *TIEMPO DE RETENCION, *ABSORBANCIA MAXIMA y *MASA.

No. de pico	Compuesto	*TR	*λ _{max} (nm)	*[M+H]
1	Violaxantina	6,1	418, 440, 469	601
2	<i>Cis</i> -violaxantina	7,3	414, 436, 466	601
3	Luteoxantina	8,2	400, 423, 448	601
4	Anteraxantina	10,5	422, 448, 478	585
5	Luteína	11,9	418, 442, 470	569
6	Zeaxantina	15,6	428, 449, 477	569
7	β-Carotene	31,3	427, 452, 487	537

Tabla 2. Porcentaje de los diferentes carotenoides encontrados en las 4 diferentes cepas de hongos actuando sobre frutos de chile manzano.

Compuesto	%				
	Control	CP1*	CP2	CP3	CP4
Violaxantina	50,3	19,1	15,4	12,5	14,5
<i>Cis</i> -violaxantina	19,3	4,2	3,5	5,4	3,9
Luteoxantina	5,2	1,3	0,9	1,7	2,2
Anteraxantina	6,7	2,2	0,5	3,6	4,3
Luteína	2,1	ND	ND	ND	ND
Zeaxantina	4,2	0,5	0,7	0,9	0,4
β-Carotene	10,2	3,5	3,9	4,6	5,8

Los carotenos son los pigmentos con mayor distribución en la naturaleza, pudiéndose llegar a encontrarse en microorganismos, plantas y animales. Dentro de los organismos vegetales se conocen 2 funciones que son de fundamental importancia para la supervivencia de las plantas como lo es el almacenamiento de energía lumínica y la protección ante el estrés lumínico (Young, 1991).

El patrón de elución de estos compuestos reveló una alta eficiencia de separación (**Figuras 33- 37**).

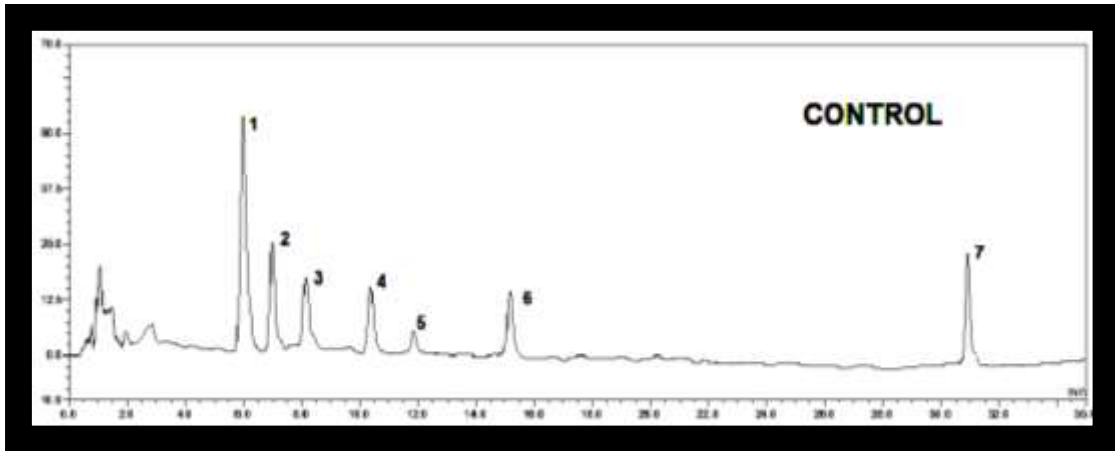


Figura 33. RP-HPLC de los carotenoides *Capsicum pubescens* asintomáticos. 1) Violaxantina, 2) Cis-violaxantina, 3) Luteoxantina, 4) Anteraxantina, 5) Luteína, 6) Zeaxantina y 7) β-Caroteno.

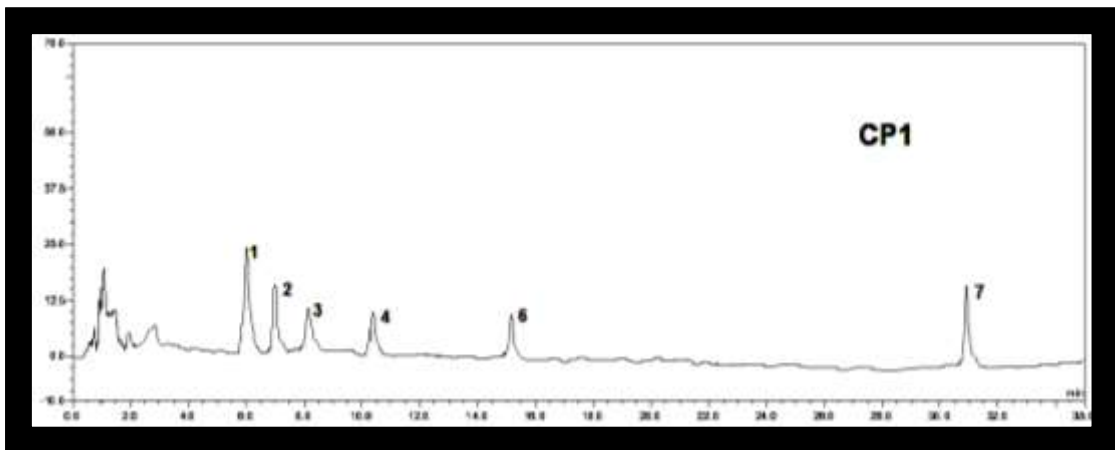


Figura 34. RP-HPLC de los carotenoides de *Capsicum pubescens* infectados con el aislado CP1. 1) Violaxantina, 2) cis-violaxantina, 3) luteoxantina, 4) anteraxantina, 5) luteína, 6) zeaxantina, 7) β-caroteno.

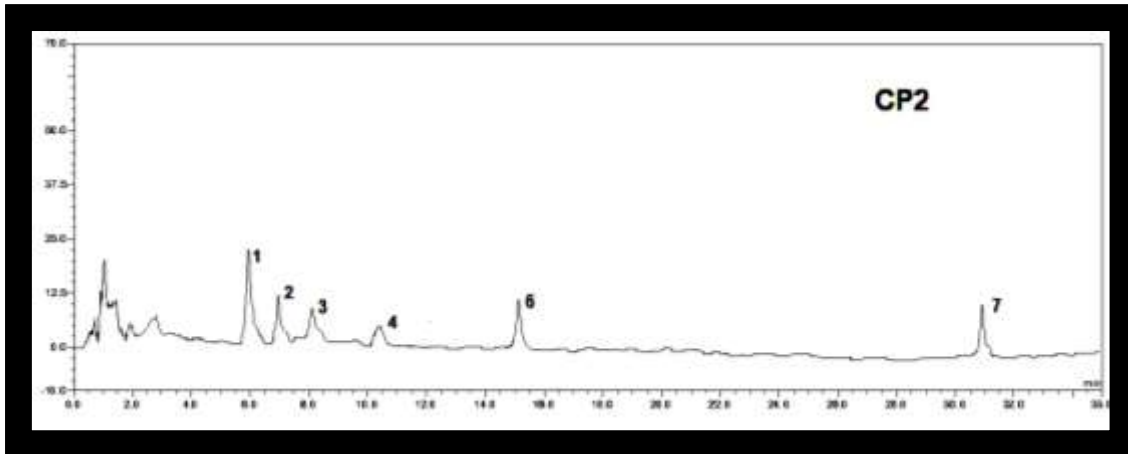


Figura 35. RP-HPLC de los carotenoides de *Capsicum pubescens* infectado con el aislado CP2. 1) Violaxantina, 2) cis-violaxantina, 3) luteoxantina, 4) anteraxantina, 5) luteína, 6) zeaxantina, 7) β-caroteno.

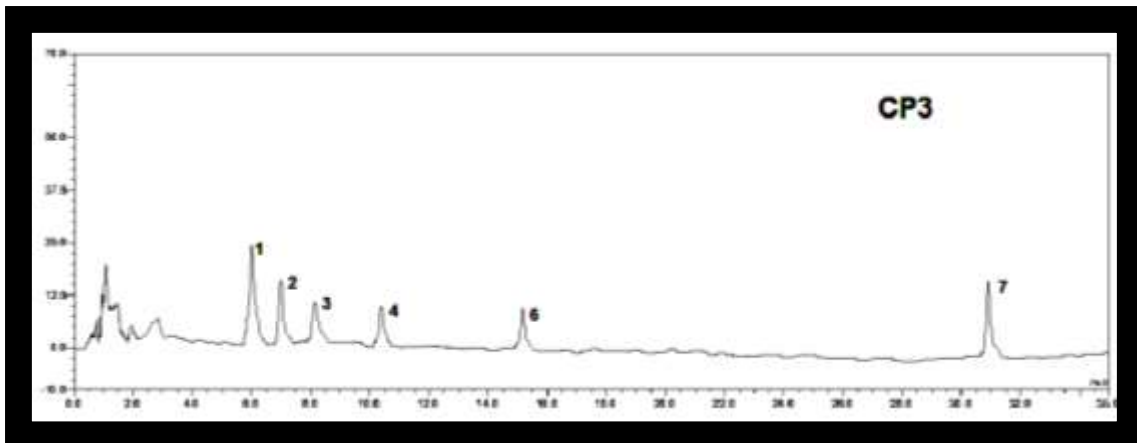


Figura 36. RP-HPLC de los carotenoides de *Capsicum pubescens* infectado con CP3. 1) Violaxantina, 2) cis-violaxantina, 3) luteoxantina, 4) anteraxantina, 5) luteína, 6) zeaxantina, 7) β-caroteno.

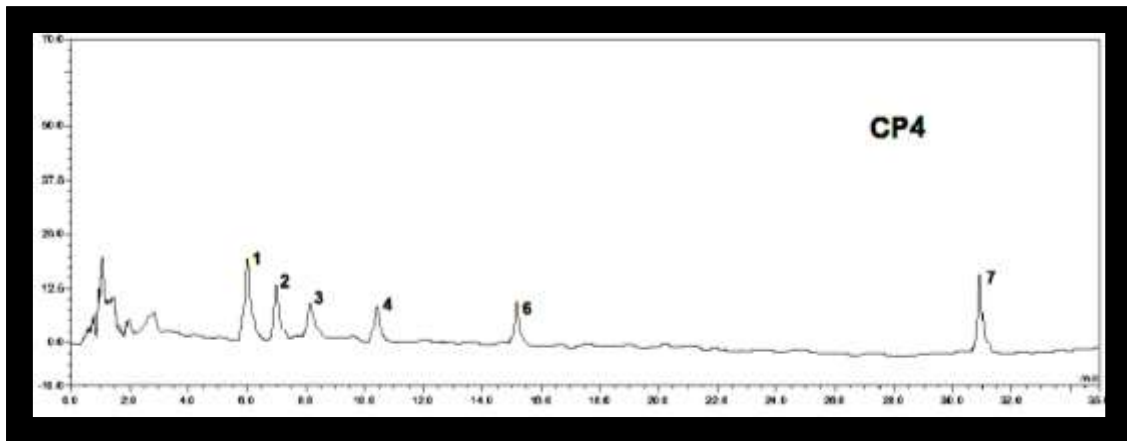


Figura 37. RP-HPLC de los carotenoides de *Capsicum pubescens* infectado con el aislado CP4. 1) Violaxantina, 2) cis-violaxantina, 3) luteoxantina, 4) antheraxantina, 5) luteína, 6) zeaxantina, 7) β-Caroteno.

Una disminución en la cantidad de carotenoides fue cuantificada después de la infección con los aislados fúngicos (**Figuras 38,39**). El aislado CP3 produjo los niveles más bajos de estos compuestos. Un dato interesante fue la completa desaparición de luteína en todos los experimentos de infección.

Kim *et al.* (2005), menciona que la ruta primaria en la síntesis de la luteína, implica la formación de un derivado dihidroxi del α -caroteno, también conocido como xantofila (derivados oxigenados de carotenos). La luteína es uno de los carotenoides más importantes en los tejidos de las plantas fotosintéticas, donde desempeña un papel importante en la estructura y función del complejo II recolector de luz. Razón por la cual, se puede asumir que la falta de este compuesto en un organismo vegetal dificulta el funcionamiento adecuado en el proceso de fotosíntesis.

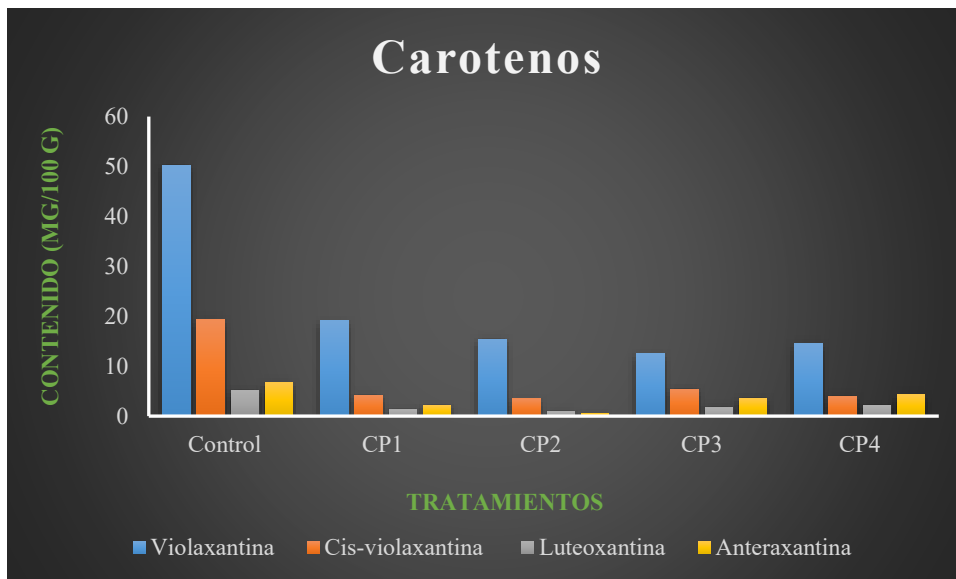


Figura 38. Contenido de Violaxantina, Cis-violaxantina, Luteoxantina y Anteraxantina.

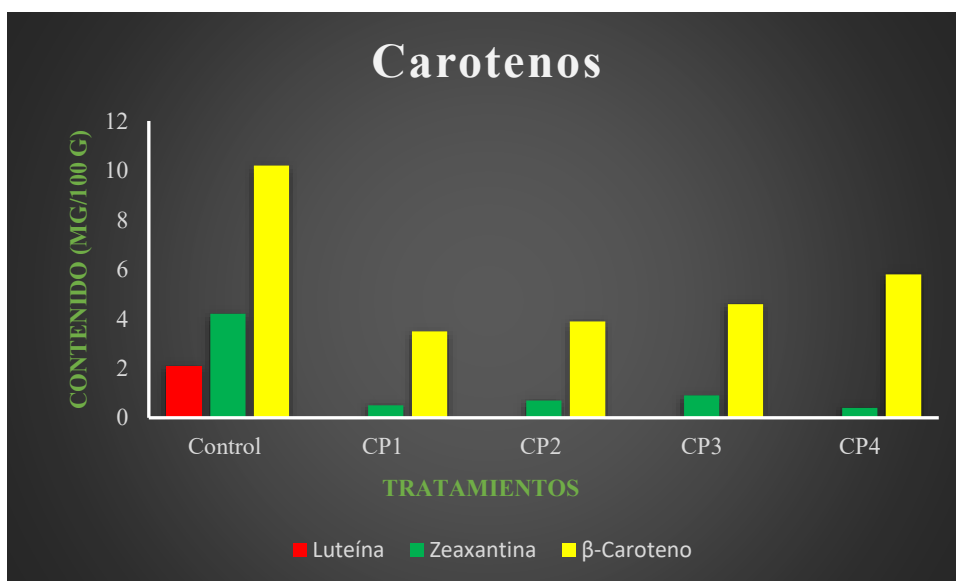


Figura 39. Contenido de Luteína, Zexantina y β-Caroteno.

7.6 Presencia de capsaicina y dihidrocapsaicina

Los capsaicinoides son ácidos amídicos de vanilnamina y cadenas de ácidos grasos ramificados en C9 y C11. Los capsaicinoides incluyen a la capsaicina, dihidrocapsaicina, homocapsaicina y homodihidro-capsaicina, siendo la capsaicina la más abundante, con un 69% (Musfiroh *et al.*, 2012). El contenido y

presencia de los demás capsaicinoides varía de acuerdo a la especie de chile del cual se trate.

La **Figura 40** muestra los estándares de capsaicina y dihidrocapsaicina. De acuerdo con los resultados obtenidos, las 4 cepas fúngicas redujeron los niveles de capsaicina y dihidrocapsaicina de forma notoria respecto al control (**Figura 41,42**). La cepa que consumió en mayor medida estos compuestos fue la CP3 (**Figura 43**).

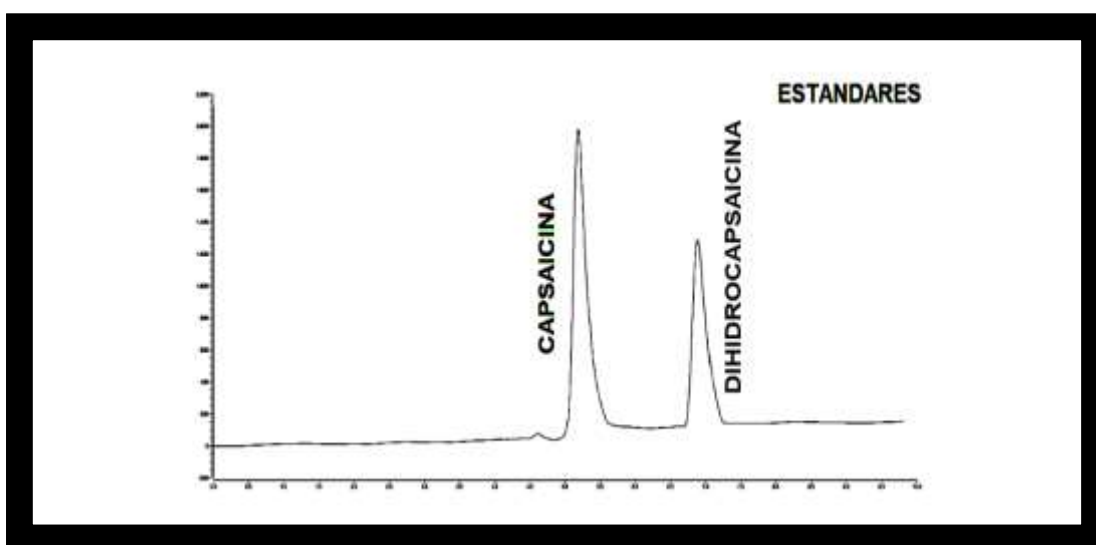


Figura 40. RP-HPLC de estándares para los niveles de capsaicina y dihidrocapsaicina.

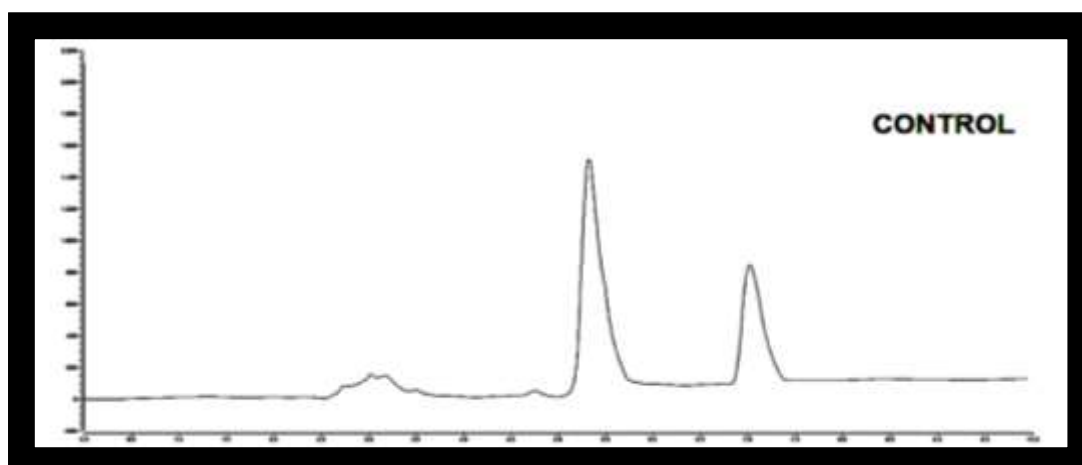


Figura 41. RP-HPLC de capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos de *Capsicum pubescens* asintomáticos.

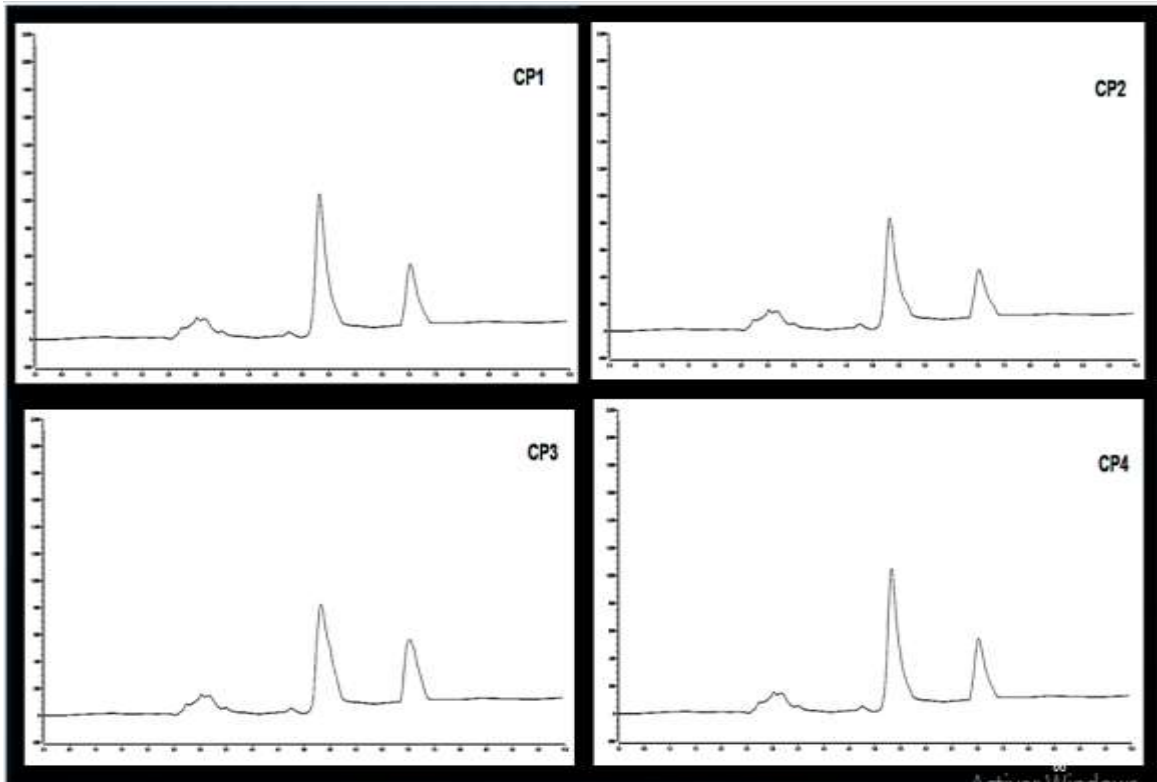


Figura 42. RP-HPLC de capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos de *Capsicum pubescens* infectados con los aislados CP1-CP4.

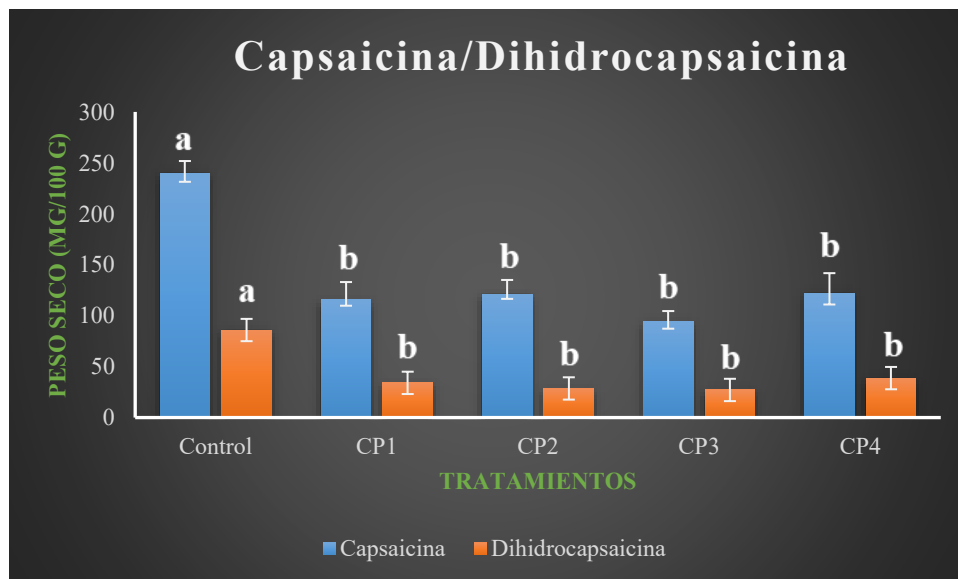


Figura 43. Contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos de chile manzano tratados con los aislados CP1-CP4. Las barras de error representan la desviación estándar de 5 repeticiones. Las letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.01$.

7.7 Contenido de Aflatoxinas

Las aflatoxinas son metabolitos secundarios altamente tóxicos derivados de policétidos producidos por diferentes especies de hongos (Jelinek *et al.*, 1989).

Estos compuestos están incluidos dentro del grupo general de las micotoxinas, por lo que un hongo puede producir o no aflatoxinas, pero, existe la posibilidad que produzca compuestos con actividad tóxica incluidos dentro del grupo de las micotoxinas. En términos globales, estos compuestos pueden generar graves amenazas para la salud humana y animal al causar diversas complicaciones tales como hepatotoxicidad, teratogenicidad e inmunotoxicidad. Las principales aflatoxinas son B1, B2, G1 y G2. Estas pueden intoxicar el cuerpo a través de las vías respiratoria, mucosa o cutánea, provocando una sobreactivación de la respuesta inflamatoria (Kumar *et al.*, 2016). De acuerdo a nuestros resultados, el contenido de aflatoxinas fue nulo. Sin embargo, no se descarta la presencia de otras micotoxinas en los chiles infectados que tendrían que ser identificadas con otros métodos Cromatográficos (**Figura 44**).

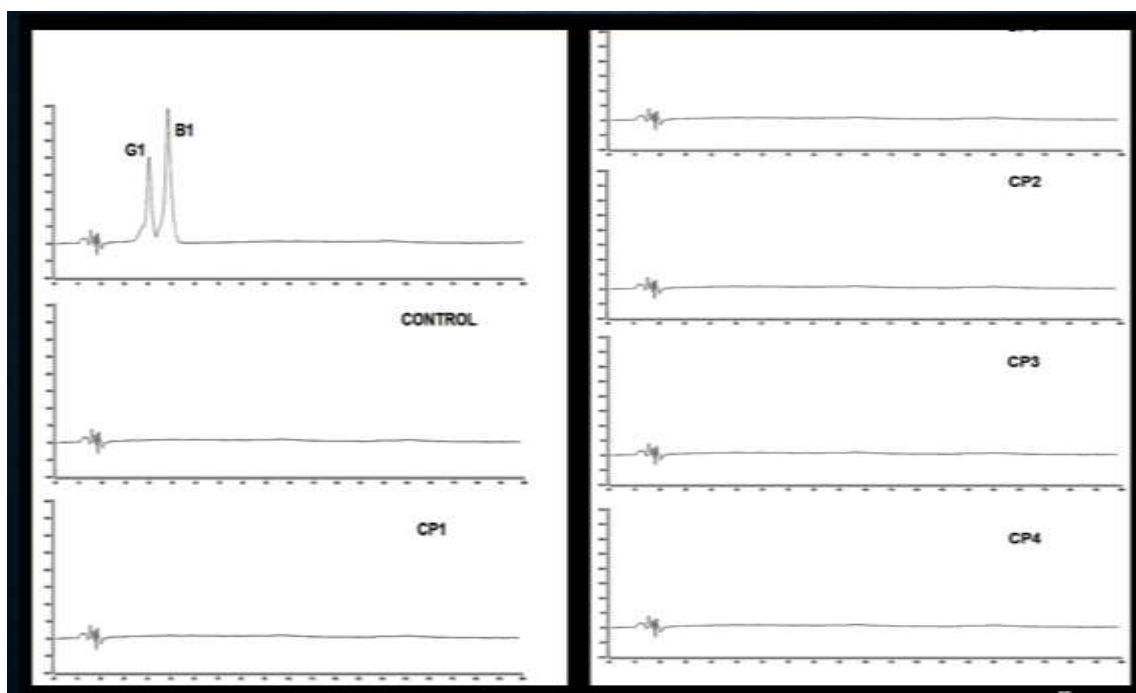


Figura 44. RP-HPLC de aflatoxinas G1 y B1 en frutos de chile manzano. El primer cromatograma de la izquierda muestra los estándares de aflatoxinas G1 y B1 respectivamente.

7.8 Contenido de ácido ascórbico

La vitamina C es un ácido orgánico que se oxida fácilmente y se destruye con oxígeno, álcalis y altas temperaturas. La mayoría de las especies de plantas y animales tienen la capacidad de sintetizar vitamina C a partir de glucosa y galactosa a través de la vía del ácido urónico. Sin embargo, el hombre y otros primates no pueden hacerlo debido a la deficiencia de la enzima gulonolactona oxidasa necesaria para su biosíntesis (Chambial *et al.*, 2013).

La vitamina C cuantificada en los análisis (**Figura 45**), mostro cantidades extremadamente disminuidas en los tratamientos hechos con las 4 cepas fúngicas respecto al grupo control. Los niveles de ascorbato del grupo control superaron por más del triple la cantidad encontrada en los chiles infectados con las cuatro cepas.

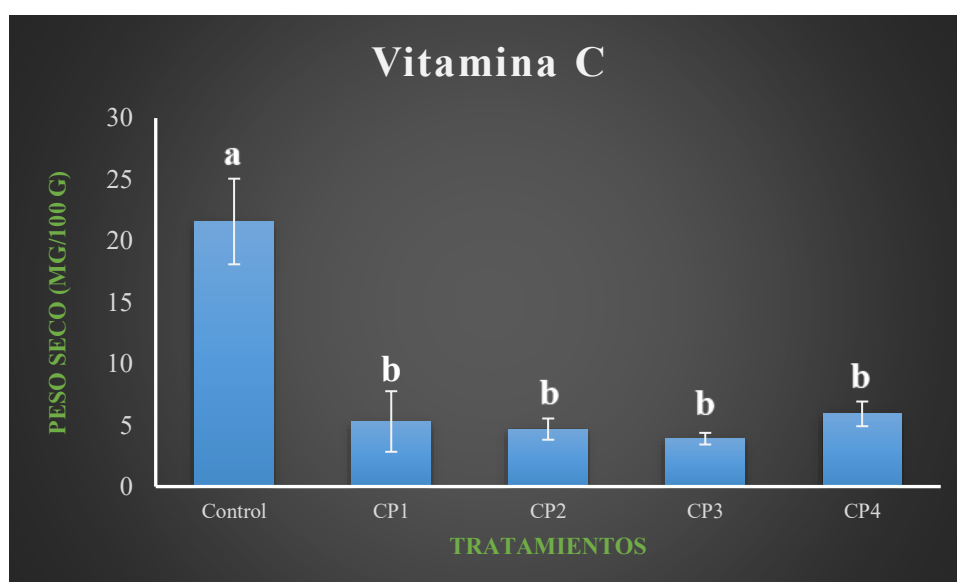


Figura 45. Ácido ascórbico determinado por titulación en frutos de chile manzano. Las barras de error representan la desviación estándar de 5 repeticiones. Las letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.01$.

7.9 Identificación molecular de las cepas fúngicas provenientes de chile manzano

Los servicios de secuenciación revelaron que la identidad de los aislados CP2 y CP4 correspondieron las especies *Fusarium sambucinum* y *F. temperatum*, respectivamente (**Tabla 3**). Dicha identidad fue corroborada mediante las

regiones ITS y TEF (**Anexo 2**). Por lo cual, se determinó continuar trabajando con estos hongos para pruebas posteriores.

Tabla 3. Identificación molecular de los hongos fitopatógenos provenientes de los frutos de chile manzano.

Aislamiento	Identificación	ITS	Tef	tub2
CP01	<i>Cylindrobasidium torrendii</i>	√		
CP02	<i>Fusarium sambucinum</i>	√	√	
CP03	<i>Cylindrobasidium torrendii</i>	√		
CP04	<i>Fusarium temperatum</i>	√	√	

No obstante, la caracterización molecular de los aislados CP1 y CP3 generó controversia, debido a sus características morfológicas. Sin embargo, las pruebas moleculares sostuvieron su identidad con *Cylindrobasidium torrendii*. Teniendo en cuenta que existen diferencias morfológicas sustanciales entre ambas cepas (CP1 y CP3) identificadas como *Cylindrobasidium torrendii*, se mandaron a re-secuenciar de nueva cuenta las dos cepas esta vez al laboratorio Macrogen ubicado en Corea. Los resultados provenientes de Corea identificaron a CP1 como *Colletotrichum gloeosporioides* y la CP4 fue rectificada como *Fusarium temperatum*.

7.10 Actividad antifúngica *in vitro*

Los ensayos con resazurina permitieron determinar la actividad redox de las células con las que entra contacto. Bajo esta premisa, la estabilización dependió de la actividad de enzimas antioxidantes (catalasa, superóxido dismutasa) que una célula viva produce de manera rutinaria. La falta de reacciones redox se tradujo en el paro de las actividades metabólicas y por tanto en muerte celular. De este modo, el cambio en la coloración azul de la resazurina hacia una tonalidad rosácea, determino la viabilidad de la célula (**Figura 46**).

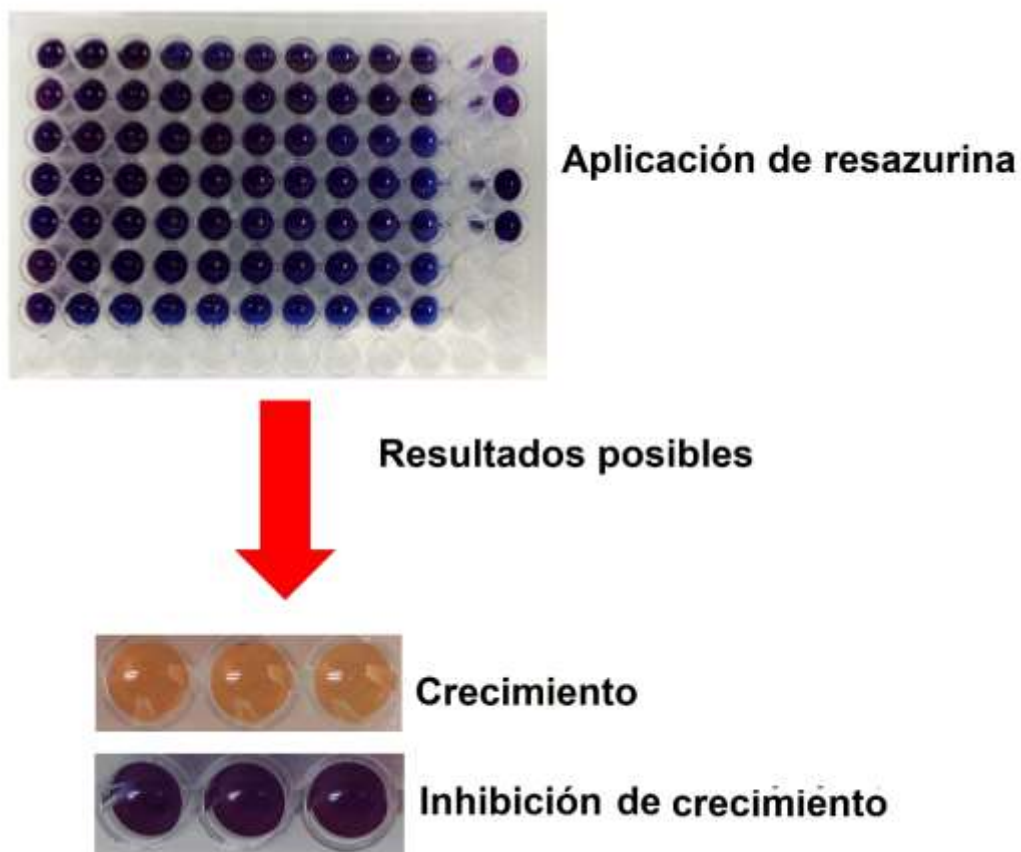


Figura 46. Reacción colorimétrica mediada por la resazurina. La conversión del color azul en un tono rosáceo indica viabilidad celular, mientras que el mantenimiento del color azul indica muerte celular.

Los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis*, *Zanthoxylum limoncello* y *Mentha piperita* fueron probados para observar la presión que estos ejercían sobre la viabilidad hifal de *Fusarium sambucinum* y *Fusarium temperatum* (**Figura 47**). El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* no mostro una concentración mínima inhibitoria en ninguno de los ensayos realizados, razón por la cual fue descartado para pruebas posteriores. No obstante, los aceites esenciales de *Zanthoxylum limoncello* y *Mentha piperita* lograron una concentración mínima inhibitoria en el crecimiento de *Fusarium sambucinum* y *Fusarium temperatum*, aunque de forma separada, ya que el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello*, tuvo una MIC de $70 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ en *Fusarium temperatum*, pero no consiguió resultados inhibitorios con células de *Fusarium sambucinum*, de forma contraria al aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello*, ya que este tuvo una concentración mínima inhibitoria de $150 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ en *Fusarium sambucinum*,

pero al ser probado en células de *Fusarium temperatum*, los resultados mostraron bajos rendimientos de inhibición. Por lo tanto, solo hubo pruebas posteriores con el aceite esencial de *Mentha piperita* y sus compuestos más abundantes en tratamientos hechos sobre células de *Fusarium sambucinum*.

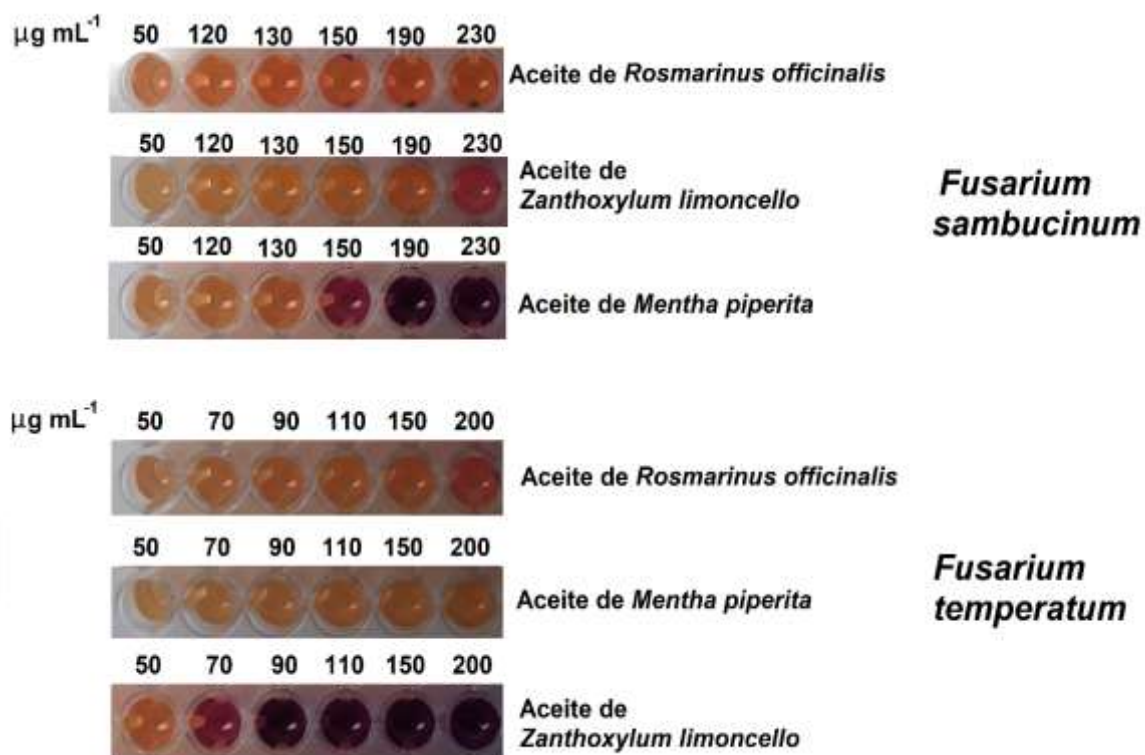


Figura 47. Curvas de dosis respuesta usando los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis*, *Zanthoxylum limoncello* y *Mentha piperita*, sobre *Fusarium sambucinum* y *Fusarium temperatum*.

De acuerdo con los resultados de GC-MS, se identificaron 11 compuestos (**Tabla 4**) que conformaron al aceite esencial de *Mentha piperita* proveniente de muestras que fueron recolectadas en la sierra norte de Puebla. Dentro de los 11 compuestos identificados, 2 resaltaron por su abundancia, como es el caso de la mentona (36,97%) y el mentol (39,15%).

Tabla 4. Identificación de compuestos pertenecientes al aceite esencial de *Mentha Piperita* a través de GC-MS.

Número	Compuesto	Abundancia(%)					Promedio
		IR	Primavera2019	Verano2019	Otoño2019	Invierno2019	
1	Sabinene	969	3.3	4.7	1.2	2.4	2.9
2	1,4-Cineole	1012	0	0.5	1.5	2.1	1.025
3	(5Z)-Octenol	1065	2.8	3.3	2.6	3.9	3.15
4	Linalool	1095	3.7	4.2	2.5	7.6	4.5
5	Menthone	1148	39.7	33.8	35.9	38.5	36.975
6	Menthofuran	1159	1.3	2.9	2.1	0.5	1.7
7	Isomethone	1164	0.8	2.4	1.8	1.1	1.525
8	Menthol	1167	37.2	39.4	41.9	38.1	39.15
9	Isomenthol	1179	3.3	0	2.4	1.1	1.7
10	β -Caryophyllene	1408	3.6	3.1	3.3	1.4	2.85
11	Spathulenol	1577	0	2.4	2.1	1.7	1.55
Total:			95.7	96.7	97.3	98.4	97.025

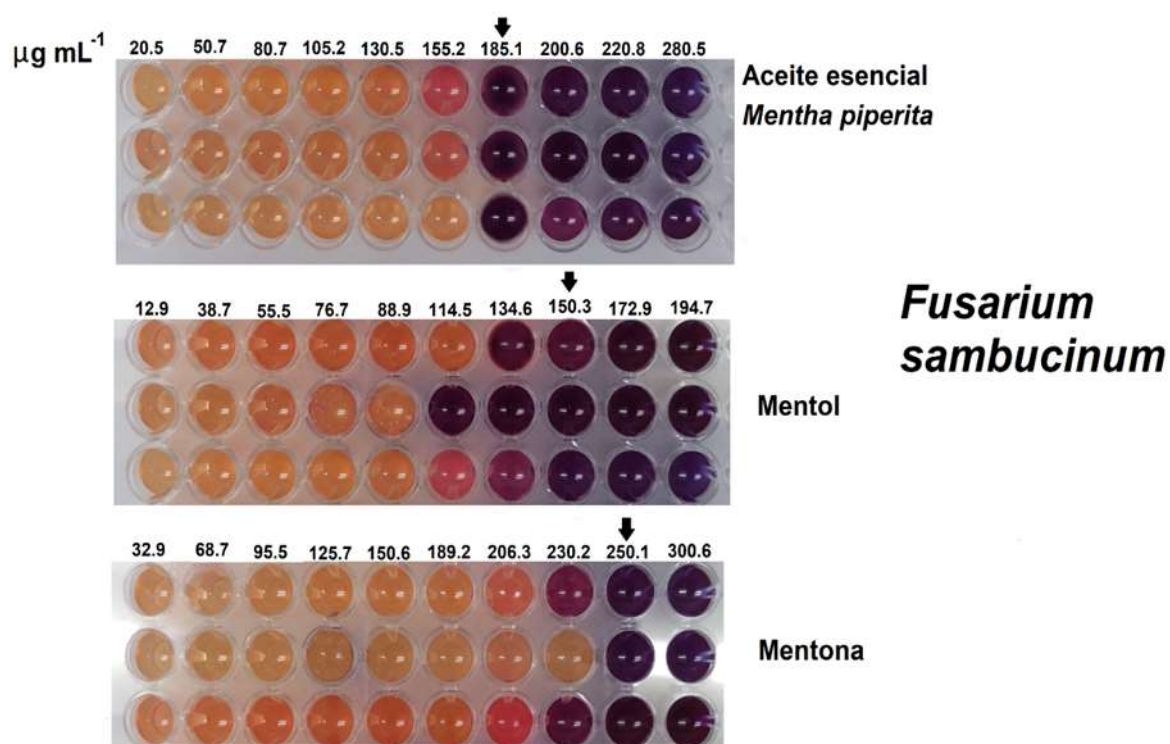


Figura 48. Curvas dosis-respuesta con el aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes, mentol y mentona. La MIC sobre *Fusarium sambucinum*, se encuentra señalada por una pequeña flecha negra.

La MIC alcanzada en los ensayos de actividad antifúngica por parte del aceite esencial de *Mentha piperita* (**Figura 48**), fue de 185.1 $\mu\text{g/mL}$. Mientras que el

compuesto mentona alcanzo una MIC de 250.1 µg/mL al actuar sobre *Fusarium sambucinum*. Sin embargo, la concentración necesaria para inhibir el crecimiento del hongo fue considerablemente mayor a aquellas encontradas en el aceite esencial de *Mentha piperita* y el mentol. Este último solo necesito de una concentración de 150.3 µg/mL, mostrando que este compuesto posee la mayor capacidad antifúngica contra *Fusarium sambucinum* (Figuras 49-51).

Las **Tablas 5-7** indican las absorbancias obtenidas a 630 nm, a partir de las cuales fue calculada la MIC de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes, que se puede observar en las **Tablas 8-10**.

Tabla 5. Valores de Absorbancia a 630 nm obtenidos por la incubación del aceite esencial *Mentha piperita* con *Fusarium sambucinum*.

Aceite esencial <i>Mentha piperita</i>										
Concentración vs absorbancia (630 nm)										
Repetición	20.5 µg/mL	50.7 µg/mL	80.7 µg/mL	105.2 µg/mL	130.5 µg/mL	155.2 µg/mL	185.1 µg/mL	200.6 µg/mL	220.8 µg/mL	280.5 µg/mL
R1	0,58	0,93	1,32	1,55	1,82	2,19	2,48	2,45	2,47	2,49
R2	0,63	1,1	1,21	1,62	1,92	2,28	2,49	2,48	2,48	2,51
R3	0,57	0,84	1,38	1,48	1,76	2,25	2,47	2,49	2,52	2,54
R4	0,56	0,91	1,42	1,36	1,85	2,29	2,48	2,47	2,51	2,48
R5	0,79	0,89	1,23	1,67	1,88	2,16	2,49	2,47	2,49	2,47
R6	0,59	0,77	1,17	1,65	1,91	2,29	2,49	2,46	2,48	2,55
R7	0,66	0,83	1,32	1,54	1,86	2,16	2,46	2,45	2,45	2,51
R8	0,61	0,94	1,45	1,49	1,84	2,21	2,44	2,48	2,47	2,52
R9	0,59	0,95	1,23	1,58	1,95	2,23	2,45	2,48	2,49	2,46
R10	0,57	1,1	1,41	1,44	1,87	2,18	2,49	2,49	2,48	2,52
Promedio	0,615	0,926	1,314	1,538	1,866	2,224	2,474	2,472	2,484	2,505

Tabla 6. Valores de Absorbancia a 630 nm obtenidos por la incubación del Mentol con *Fusarium sambucinum*.

Mentol										
Concentración vs absorbancia (630 nm)										
Repetición	12.9 µg/mL	38.7 µg/mL	55.5 µg/mL	76.7 µg/mL	88.9 µg/mL	114.5 µg/mL	134.6 µg/mL	150.3 µg/mL	172.9 µg/mL	194.7 µg/mL
R1	0,69	0,76	0,75	0,82	0,96	1,76	2,24	2,51	2,53	2,45
R2	0,59	0,69	0,83	0,89	0,93	1,81	2,17	2,49	2,48	2,42
R3	0,57	0,73	0,77	0,91	0,9	1,79	2,21	2,48	2,46	2,59
R4	0,65	0,58	0,79	0,86	0,88	1,73	2,33	2,53	2,55	2,51
R5	0,62	0,63	0,82	0,94	0,92	1,84	2,19	2,5	2,49	2,56
R6	0,64	0,66	0,79	0,88	0,93	1,88	2,18	2,54	2,51	2,55
R7	0,56	0,74	0,81	0,82	0,97	1,87	2,32	2,42	2,45	2,59
R8	0,66	0,62	0,75	0,83	0,95	1,92	2,37	2,49	2,5	2,48
R9	0,59	0,69	0,84	0,85	0,87	1,94	2,19	2,46	2,52	2,48
R10	0,56	0,72	0,82	0,95	0,96	1,75	2,22	2,49	2,54	2,49
Promedio	0,613	0,682	0,797	0,875	0,927	1,829	2,242	2,491	2,503	2,512

Tabla 7. Valores de Absorbancia a 630 nm obtenidos por la incubación de la Mentona con *Fusarium sambucinum*.

Mentona										
Concentración vs absorbancia (630 nm)										
Repetición	32.9 µg/mL	68.7 µg/mL	95.5 µg/mL	125.7 µg/mL	150.6 µg/mL	189.2 µg/mL	206.3 µg/mL	230.2 µg/mL	250.1 µg/mL	300.6 µg/mL
R1	0,57	0,72	0,66	0,7	0,84	1,1	1,64	1,93	2,45	2,53
R2	0,61	0,83	0,59	0,73	0,87	0,95	1,67	1,97	2,59	2,47
R3	0,63	0,58	0,73	0,69	0,79	0,99	1,58	1,82	2,48	2,49
R4	0,64	0,59	0,69	0,65	0,82	1,3	1,72	1,99	2,51	2,67
R5	0,71	0,61	0,67	0,71	0,75	1,36	1,59	2,11	2,56	2,64
R6	0,58	0,7	0,63	0,64	0,86	1,29	1,63	1,89	2,43	2,5
R7	0,72	0,75	0,71	0,77	0,81	1,24	1,75	2,18	2,59	2,59
R8	0,72	0,63	0,61	0,74	0,77	0,98	1,53	1,95	2,61	2,61
R9	0,69	0,62	0,74	0,75	0,85	1,35	1,84	2,2	2,55	2,53
R10	0,59	0,66	0,71	0,79	0,83	1,17	1,73	1,83	2,47	2,55
Promedio	0,646	0,669	0,674	0,717	0,819	1,173	1,668	1,987	2,524	2,558

Tabla 8. Porcentaje de inhibición del aceite esencial de *Mentha piperita* sobre el hongo *Fusarium sambucinum*.

Aceite esencia del <i>Mentha piperita</i>								
Concentración vs porcentaje de inhibición								
Repetición	20.5 µg/mL	50.7 µg/mL	80.7 µg/mL	105.2 µg/mL	130.5 µg/mL	155.2 µg/mL	185.1 µg/mL	200.6 µg/mL
R1	1.35	19.48	39.69	51.61	65.60	84.77	99.79	98.24
R2	3.94	28.29	33.99	55.23	70.78	89.43	100.31	99.79
R3	0.83	14.82	42.80	47.98	62.49	87.88	99.27	100.31
R4	0.31	18.45	44.87	41.76	67.15	89.95	99.79	99.27
R5	12.23	17.41	35.03	57.82	68.70	83.21	100.31	99.27
R6	1.87	11.19	31.92	56.79	70.26	89.95	100.31	98.76
R7	5.49	14.30	39.69	51.09	67.67	83.21	98.76	98.24
R8	2.90	20.00	46.42	48.50	66.63	85.80	97.72	99.79
R9	1.87	20.52	35.03	53.16	72.33	86.84	98.24	99.79
R10	0.83	28.29	44.35	45.91	68.19	84.25	100.31	100.31
Promedio	3.16	19.27	39.38	50.98	67.98	86.53	99.48	99.38

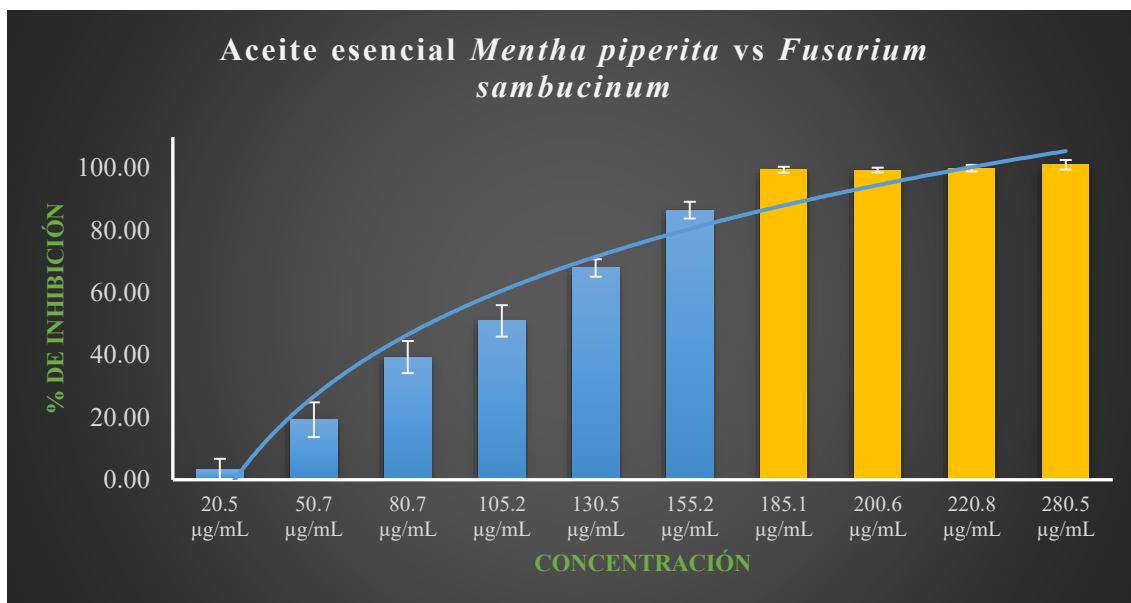


Figura 49. Porcentaje de inhibición obtenido a través de una curva-dosis respuesta con el aceite esencial de *Mentha piperita*, contra *Fusarium sambucinum*. Las barras de error representan la desviación estándar de 10 repeticiones.

Tabla 9. Porcentaje de inhibición del Mentol de *Mentha piperita* sobre el hongo *Fusarium sambucinum* (*MIC).

Mentol										
Concentración vs porcentaje de inhibición										
Repeticiones	12.9 µg/mL	38.7 µg/mL	55.5 µg/mL	76.7 µg/mL	88.9 µg/mL	114.5 µg/mL	134.6 µg/mL	150.3 µg/mL	172.9 µg/mL	194.7 µg/mL
R1	7.05	10.67	10.16	13.78	21.04	62.49	87.36	101.35	102.38	98.24
R2	1.87	7.05	14.30	17.41	19.48	65.08	83.73	100.31	99.79	96.68
R3	0.83	9.12	11.19	18.45	17.93	64.04	85.80	99.79	98.76	105.49
R4	4.97	1.35	12.23	15.85	16.89	60.93	92.02	102.38	103.42	101.35
R5	3.42	3.94	13.78	20.00	18.96	66.63	84.77	100.83	100.31	103.94
R6	4.46	5.49	12.23	16.89	19.48	68.70	84.25	102.90	101.35	103.42
R7	0.31	9.64	13.26	13.78	21.55	68.19	91.50	96.68	98.24	105.49
R8	5.49	3.42	10.16	14.30	20.52	70.78	94.09	100.31	100.83	99.79
R9	1.87	7.05	14.82	15.34	16.37	71.81	84.77	98.76	101.87	99.79
R10	0.31	8.60	13.78	20.52	21.04	61.97	86.32	100.31	102.90	100.31
Promedio	3.06	6.63	12.59	16.63	19.33	66.06	87.46	100.36	100.98	101.45

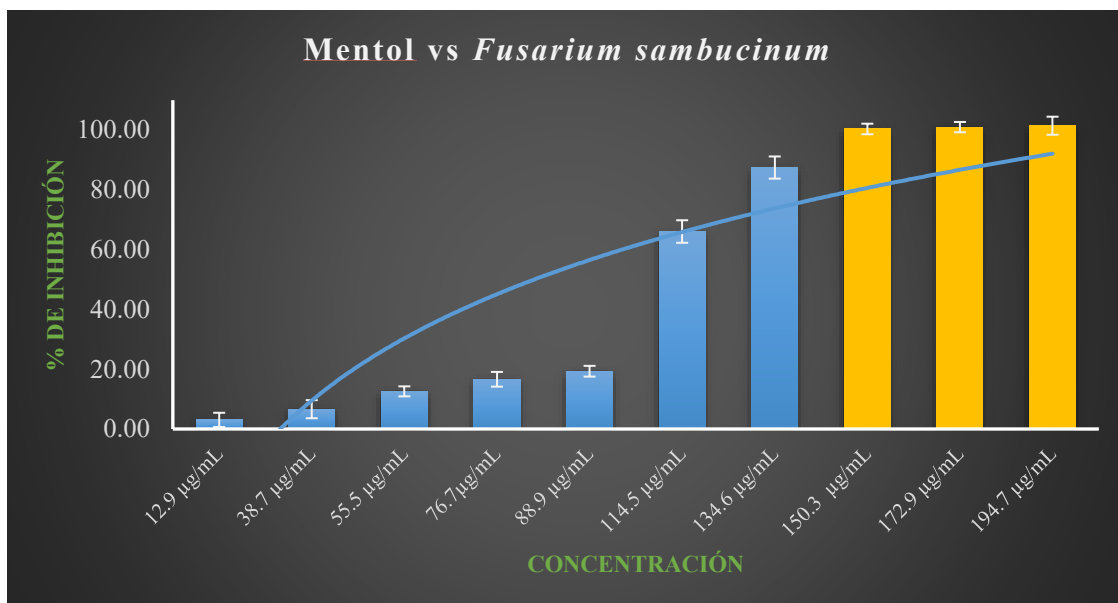


Figura 50. Porcentaje de inhibición obtenido a través de una curva-dosis respuesta con mentol contra *Fusarium sambucinum*. Las barras de error representan la desviación estándar de 10 repeticiones.

Tabla 10. Porcentaje de inhibición de la Mentona sobre el hongo *Fusarium sambucinum* (*MIC).

Mentona										
Concentración vs porcentaje de inhibición										
Repetición	32.9 µg/mL	68.7 µg/mL	95.5 µg/mL	125.7 µg/mL	150.6 µg/mL	189.2 µg/mL	206.3 µg/mL	230.2 µg/mL	250.1 µg/mL	300.6 µg/mL
R1	0.83	8.60	5.49	7.56	14.82	28.29	56.27	71.30	98.24	102.38
R2	2.90	14.30	1.87	9.12	16.37	20.52	57.82	73.37	105.49	99.27
R3	3.94	1.35	9.12	7.05	12.23	22.59	53.16	65.60	99.79	100.31
R4	4.46	1.87	7.05	4.97	13.78	38.65	60.41	74.40	101.35	109.64
R5	8.08	2.90	6.01	8.08	10.16	41.76	53.68	80.62	103.94	108.08
R6	1.35	7.56	3.94	4.46	15.85	38.13	55.75	69.22	97.20	100.83
R7	8.60	10.16	8.08	11.19	13.26	35.54	61.97	84.25	105.49	105.49
R8	8.60	3.94	2.90	9.64	11.19	22.07	50.57	72.33	106.53	106.53
R9	7.05	3.42	9.64	10.16	15.34	41.24	66.63	85.28	103.42	102.38
R10	1.87	5.49	8.08	12.23	14.30	31.92	60.93	66.11	99.27	103.42
Promedio	4.77	5.96	6.22	8.45	13.73	32.07	57.72	74.25	102.07	103.83

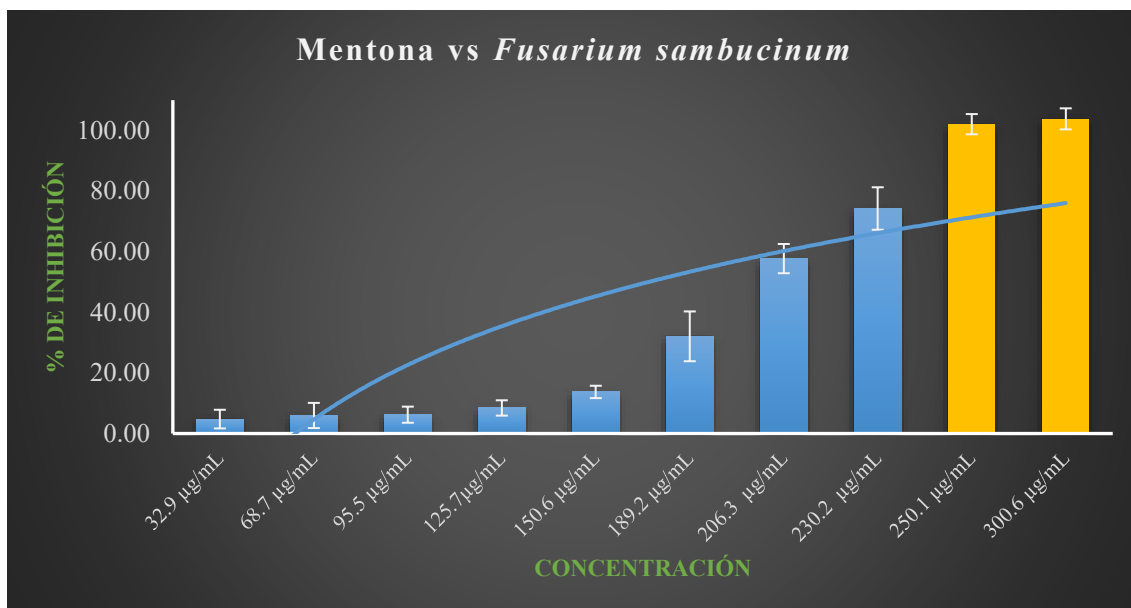


Figura 51. Porcentaje de inhibición obtenido a través de una curva-dosis respuesta con mentona contra *Fusarium sambucinum*.

Por último, las MIC de cada tratamiento fueron comparadas entre sí, al realizarse una prueba Tukey con un nivel de significancia al 95%, obteniéndose una diferencia estadísticamente significativa entre la mentona y los otros 2 tratamientos. El volátil mentona fue el menos efectivo ya que se utilizó una dosis más alta que para el aceite esencial de *Mentha piperita* y el mentol (**Figura 52**).

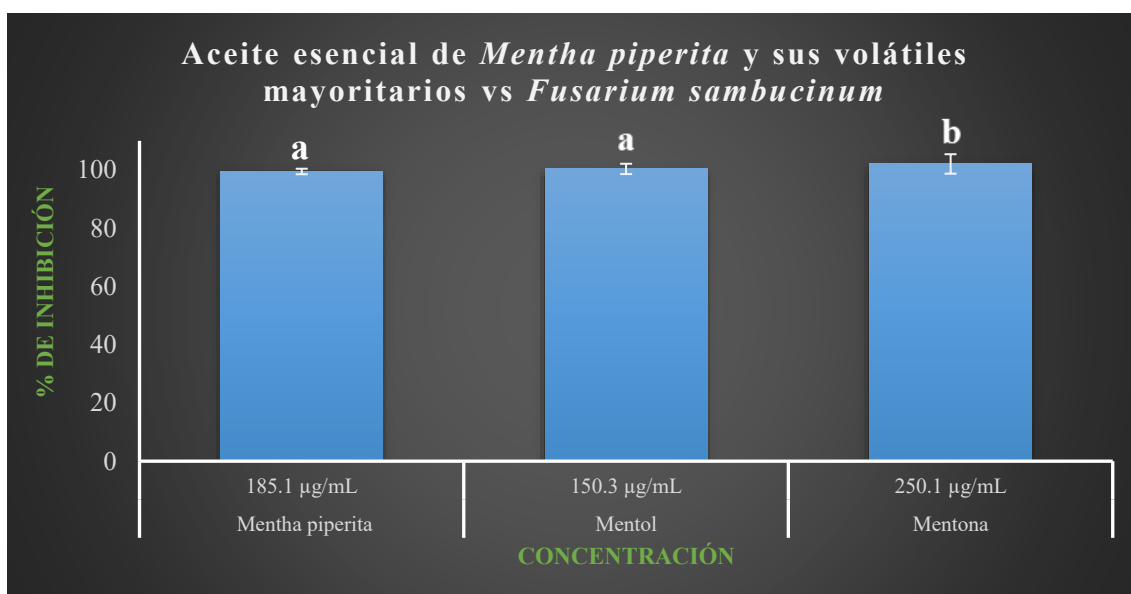


Figura 52. Comparación de concentraciones mínimas inhibitorias correspondientes al aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes.

Los ensayos de microtitulación con resazurina fueron realizados de igual forma con el aceite de *Zanthoxylum limoncello* y sus compuestos más abundantes (**Figura 53**). La identificación de volátiles se realizó a través de LC-MS/MS (**Tabla 11**). Los resultados indicaron que los compuestos 2-undecanona (MIC=135.1 $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$), 2-undecenal (MIC=218.3 $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$) y 2-dodecenal (MIC=126.8 $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$), mostraron en efecto antifúngico menos efectivo (en actividad antifúngica) que el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* (MIC=104.6 $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$).

Tabla11. Identificación de compuestos pertenecientes al aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* a través de GC-MS.

Número	Compuesto	IR	AE2015	AE2016	AE2017	AE2018	Promedio
1	1-Hexenol	867	0.8	4.5	0	0.9	1.6
2	Camphene	952	1.2	2.2	3.7	4.7	3.0
3	1-Octanal	1003	2.4	1.8	1.8	1.6	1.9
4	β -Ocimene, (E)-	1042	3.3	3.8	3.2	0	2.6
5	2-Nonanone	1093	1.9	6.3	0	3.5	2.9
6	Linalool	1095	2.2	0	2.4	1.8	1.6
7	1-Nonanal	1102	2.8	4.7	0	3.2	2.7
8	2-decanone	1190	1.5	0.8	1.9	0	1.1
9	1-Decanal	1206	0.7	4.6	2.9	3.1	2.8
10	2-Decenal, (Z)-	1252	0.9	0	0	4.2	1.3
11	2-Undecanone	1292	36.8	34.8	31.6	36.8	35.0
12	Undecanal	1306	2.4	0	1.5	3.5	1.9
13	2-Undecenal	1365	26.6	25.1	35.7	28.5	29.0
14	2-Dodecenal (E)-	1454	8.5	2.4	6.9	3.9	5.4
15	2-Tridecanone	1493	2.2	3.1	3.7	0	2.3
Total			94.2	94.1	95.3	95.7	94.825

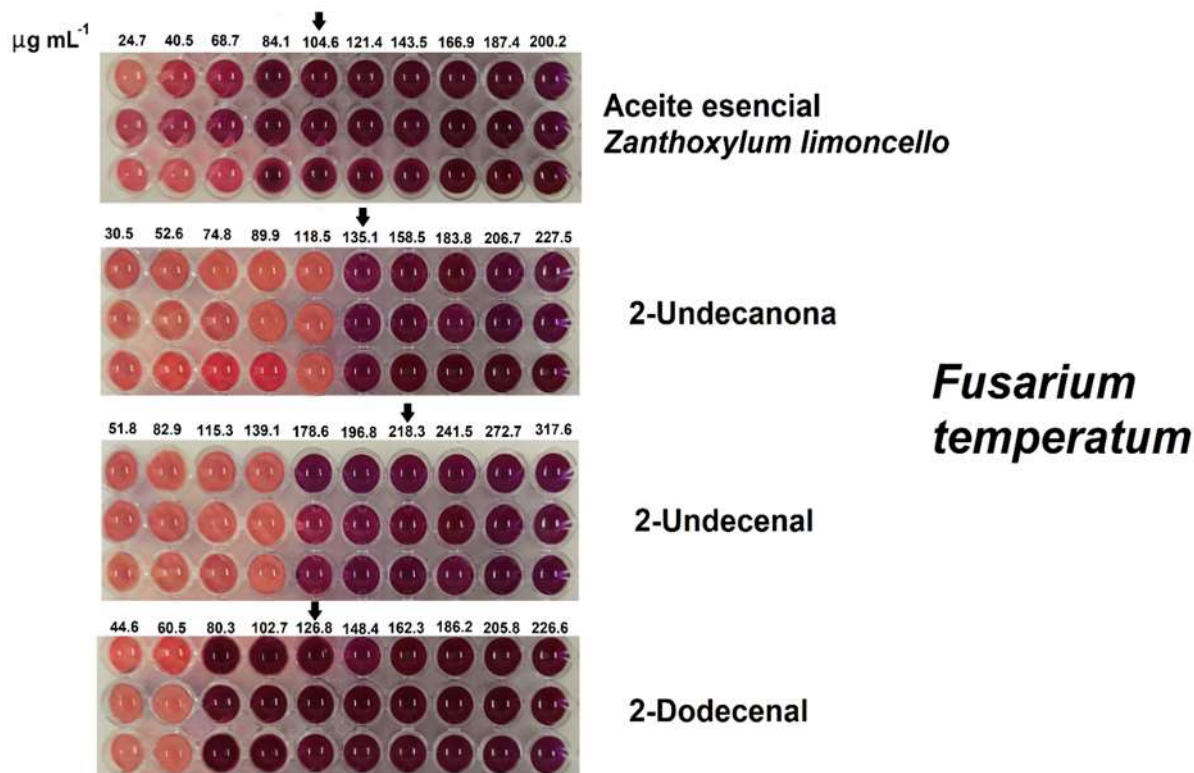


Figura 53. Curvas dosis-respuesta con el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes, mentol y mentona. La MIC sobre *Fusarium temperatum*, se encuentra señalada por una pequeña flecha negra.

Los datos de las **Tablas 12-15** representan los datos primarios que fueron obtenidos en las lecturas a 630nm. Estos datos, a su vez fueron procesados para obtener los porcentajes de inhibición de cada aceite esencial y sus volátiles más abundantes.

Mientras que las **Figuras 54-57** representan el porcentaje de inhibición (MIC) obtenido a través de una curva-dosis respuesta.

Tabla 12. Valores de absorbancia a 630 nm obtenidos por la incubación del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* con *Fusarium temperatum*.

Aceite esencial <i>Zanthoxylum limoncello</i>										
Concentración vs absorbancia (630 nm)										
Repetición	24.7 µg/mL	40.5 µg/mL	68.7 µg/mL	84.1 µg/mL	104.6 µg/mL	121.4 µg/mL	143.5 µg/mL	166.9 µg/mL	187.4 µg/mL	200.2 µg/mL
R1	0,93	1,23	1,58	2,23	2,51	2,55	2,61	2,59	2,53	2,64
R2	1,21	1,32	1,65	2,27	2,64	2,59	2,63	2,65	2,58	2,59
R3	0,95	1,26	1,69	2,36	2,55	2,61	2,65	2,57	2,64	2,63
R4	0,92	1,39	1,57	2,31	2,58	2,66	2,59	2,62	2,59	2,54
R5	1,25	1,23	1,62	2,29	2,62	2,63	2,63	2,66	2,61	2,56
R6	0,99	1,28	1,68	2,25	2,6	2,6	2,58	2,62	2,61	2,62
R7	1,1	1,34	1,73	2,39	2,61	2,67	2,54	2,64	2,63	2,65
R8	1,17	1,25	1,67	2,33	2,59	2,62	2,65	2,63	2,57	2,59
R9	1,14	1,37	1,55	2,21	2,64	2,64	2,59	2,55	2,65	2,66
R10	1,22	1,38	1,68	2,39	2,67	2,69	2,66	2,52	2,59	2,53
Promedio	1,088	1,305	1,642	2,303	2,601	2,626	2,613	2,605	2,6	2,601

Tabla 13. Valores de absorbancia a 630 nm obtenidos por la incubación de la 2-Undecanona con *Fusarium temperatum*.

2-Undecanona										
Concentración vs absorbancia (630 nm)										
Repetición	30.5 µg/mL	52.6 µg/mL	74.8 µg/mL	89.9 µg/mL	118.5 µg/mL	135.1 µg/mL	158.5 µg/mL	183.8 µg/mL	206.7 µg/mL	227.5 µg/mL
R1	0,62	0,85	0,86	1,21	1,37	2,45	2,47	2,65	2,55	2,62
R2	0,59	0,94	0,84	1,28	1,38	2,48	2,61	2,58	2,59	2,51
R3	0,67	0,83	0,91	0,98	1,22	2,54	2,64	2,54	2,56	2,58
R4	0,58	0,87	0,96	1,23	1,48	2,61	2,59	2,61	2,62	2,53
R5	0,59	0,96	0,88	1,31	1,32	2,74	2,66	2,67	2,67	2,64
R6	0,57	0,81	0,91	1,27	1,43	2,69	2,6	2,63	2,56	2,58
R7	0,64	0,92	0,85	1,34	1,32	2,62	2,64	2,65	2,5	2,68
R8	0,61	0,96	0,97	1,29	1,17	2,59	2,58	2,59	2,69	2,67
R9	0,65	0,89	0,87	1,26	1,29	2,63	2,59	2,69	2,61	2,64
R10	0,66	0,87	0,92	0,99	1,33	2,54	2,64	2,67	2,69	2,63
Promedio	0,618	0,89	0,897	1,216	1,331	2,589	2,602	2,628	2,604	2,608

Tabla 14. Valores de absorbancia a 630 nm obtenidos por la incubación del 2-Undecenal con *Fusarium temperatum*.

2-Undecenal										
Concentración vs absorbancia (630 nm)										
Repetición	51.8 µg/mL	82.9 µg/mL	115.3 µg/mL	139.1 µg/mL	178.6 µg/mL	196.8 µg/mL	218.3 µg/mL	241.5 µg/mL	272.7 µg/mL	317.6 µg/mL
R1	0,98	0,95	1,42	1,58	1,85	2,3	2,65	2,58	2,49	2,64
R2	0,94	0,97	1,39	1,52	1,74	2,21	2,58	2,63	2,61	2,62
R3	0,89	0,9	1,33	1,68	1,81	2,32	2,62	2,59	2,67	2,65
R4	0,93	1,14	1,45	1,64	1,77	2,29	2,55	2,59	2,44	2,69
R5	0,96	1,23	1,23	1,5	1,8	2,33	2,63	2,57	2,57	2,59
R6	0,91	1,18	1,44	1,66	1,82	2,42	2,61	2,61	2,63	2,63
R7	0,88	1,21	1,39	1,53	1,78	2,21	2,59	2,64	2,65	2,55
R8	0,94	0,99	1,45	1,67	1,93	2,48	2,63	2,69	2,69	2,51
R9	0,95	0,95	1,38	1,64	1,85	2,43	2,71	2,59	2,62	2,59
R10	0,99	0,96	1,39	1,53	1,72	2,32	2,73	2,62	2,67	2,64
Promedio	0,937	1,048	1,387	1,595	1,807	2,331	2,63	2,611	2,604	2,611

Tabla 15. Valores de Absorbancia a 630 nm obtenidos por la incubación del 2-Dodecenal con *Fusarium temperatum*.

2-Dodecenal										
Concentración vs absorbancia 630 nm										
Repetición	44.6 µg/mL	60.5 µg/mL	80.3 µg/mL	102.7 µg/mL	126.8 µg/mL	148.4 µg/mL	162.3 µg/mL	186.2 µg/mL	205.8 µg/mL	226.6 µg/mL
R1	1,23	1,67	1,96	2,47	2,62	2,66	2,59	2,61	2,66	2,73
R2	1,32	1,76	2,2	2,48	2,64	2,61	2,61	2,63	2,71	2,64
R3	1,27	1,63	2,25	2,54	2,64	2,63	2,63	2,66	2,59	2,65
R4	1,11	1,78	2,28	2,49	2,64	2,55	2,64	2,75	2,64	2,68
R5	1,17	1,55	1,84	2,51	2,71	2,69	2,68	2,69	2,65	2,71
R6	1,24	1,62	2,13	2,57	2,59	2,63	2,67	2,54	2,64	2,64
R7	1,28	1,77	2,22	2,48	2,67	2,68	2,7	2,66	2,76	2,66
R8	1,31	1,62	2,18	2,54	2,69	2,59	2,63	2,51	2,65	2,53
R9	1,33	1,69	2,39	2,61	2,58	2,52	2,67	2,66	2,64	2,71
R10	1,32	1,75	2,11	2,59	2,62	2,71	2,64	2,41	2,73	2,72
Promedio	1,258	1,684	2,156	2,528	2,64	2,627	2,646	2,612	2,667	2,667

Las **Tablas 16-19** de igual forma que con el aceite esencial de *Mentha piperita*, indicaron las MIC del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus compuestos más abundantes.

Tabla 16. Porcentaje de inhibición del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* sobre *Fusarium temperatum* (*MIC).

Aceite esencial de <i>Zanthoxylum limoncello</i>										
Concentración vs porcentaje de inhibición										
Repetición	24.7 µg/mL	40.5 µg/mL	68.7 µg/mL	84.1 µg/mL	104.6 µg/mL	121.4 µg/mL	143.5 µg/mL	166.9 µg/mL	187.4 µg/mL	200.2 µg/mL
R1	17.60	32.35	49.56	81.51	95.28	103.42	106.53	105.49	102.38	108.08
R2	31.37	36.77	53.00	83.48	101.67	105.49	107.56	108.60	104.97	105.49
R3	18.58	33.82	54.97	87.91	97.25	106.53	108.60	104.46	108.08	107.56
R4	17.11	40.22	49.07	85.45	98.72	109.12	105.49	107.05	105.49	102.90
R5	33.33	32.35	51.52	84.46	100.69	107.56	107.56	109.12	106.53	103.94
R6	20.55	34.81	54.47	82.50	99.71	106.01	104.97	107.05	106.53	107.05
R7	25.96	37.76	56.93	89.38	100.20	109.64	102.90	108.08	107.56	108.60
R8	29.40	33.33	53.98	86.43	99.21	107.05	108.60	107.56	104.46	105.49
R9	27.93	39.23	48.08	80.53	101.67	108.08	105.49	103.42	108.60	109.12
R10	31.86	39.72	54.47	89.38	103.15	110.67	109.12	101.87	105.49	102.38
Promedio	25.37	36.04	52.61	85.10	99.75	107.36	106.68	106.27	106.01	106.06

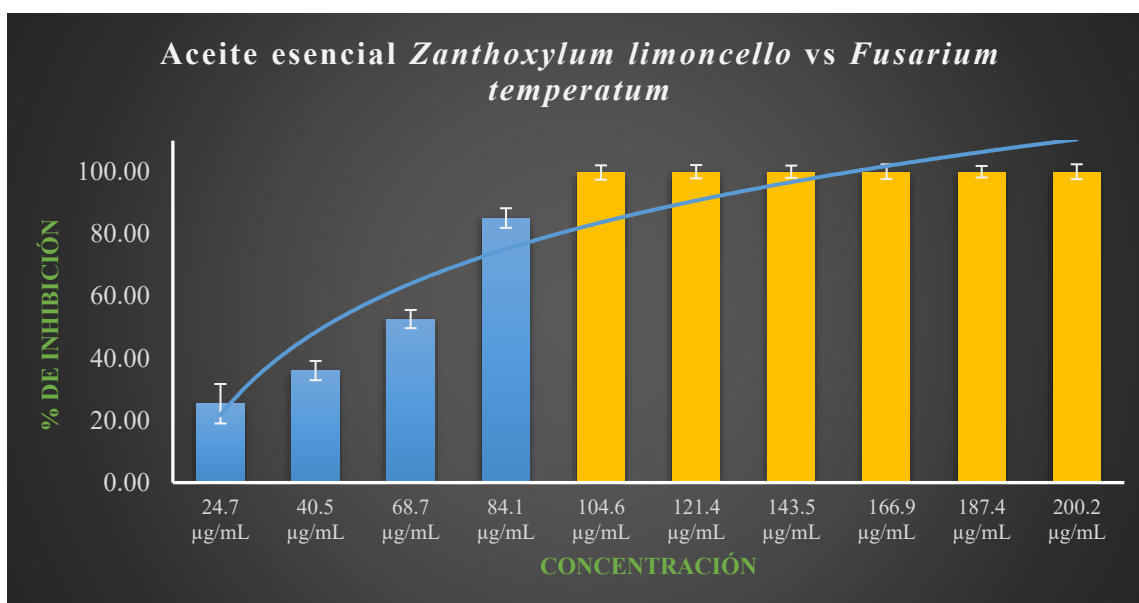


Figura 54. Porcentaje de inhibición obtenido a través de una curva-dosis respuesta con el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* contra *Fusarium temperatum*. Las barras de error representan la desviación estándar de 10 repeticiones.

Tabla 17. Porcentaje de inhibición de la 2-Undecanona sobre *Fusarium temperatum* (*MIC).

2-Undecanona										
Concentración vs porcentaje de inhibición										
Repetición	30.5 µg/mL	52.6 µg/mL	74.8 µg/mL	89.9 µg/mL	118.5 µg/mL	*135.1 µg/mL	158.5 µg/mL	183.8 µg/mL	206.7 µg/mL	227.5 µg/mL
R1	2,36	13,67	14,16	31,37	39,23	92,33	93,31	102,16	97,25	100,69
R2	0,88	18,09	13,18	34,81	39,72	93,81	100,20	98,72	99,21	95,28
R3	4,82	12,68	16,62	20,06	31,86	96,76	101,67	96,76	97,74	98,72
R4	0,39	14,65	19,08	32,35	44,64	100,20	99,21	100,20	100,69	96,26
R5	0,88	19,08	15,14	36,28	36,77	106,59	102,65	103,15	103,15	101,67
R6	-0,10	11,70	16,62	34,32	42,18	104,13	99,71	101,18	97,74	98,72
R7	3,34	17,11	13,67	37,76	36,77	100,69	101,67	102,16	94,79	103,64
R8	1,87	19,08	19,57	35,30	29,40	99,21	98,72	99,21	104,13	103,15
R9	3,83	15,63	14,65	33,82	35,30	101,18	99,21	104,13	100,20	101,67
R10	4,33	14,65	17,11	20,55	37,27	96,76	101,67	103,15	104,13	101,18
Promedio	2,26	15,63	15,98	31,66	37,32	99,16	99,80	101,08	99,90	100,10

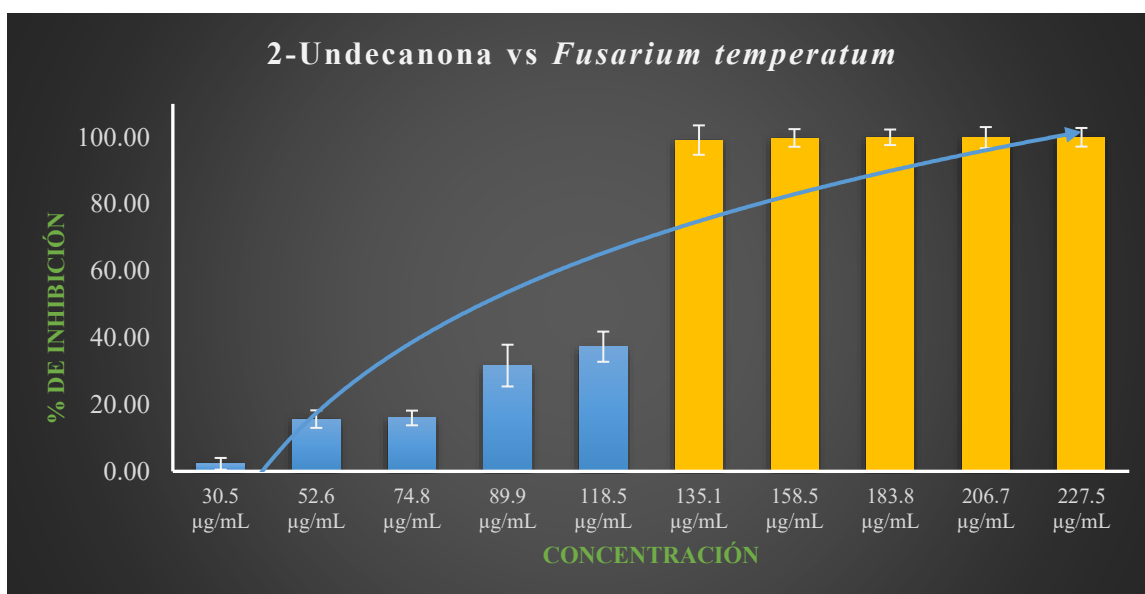


Figura 55. Porcentaje de inhibición obtenido a través de una curva-dosis respuesta con la 2-Undecanona contra *Fusarium temperatum*. Las barras de error representan la desviación estándar de 10 repeticiones.

Tabla 18. Porcentaje de inhibición del 2-Undecenal sobre *Fusarium temperatum* (*MIC).

2-Undecenal										
Concentración vs porcentaje de inhibición										
Repetición	51.8 µg/mL	82.9 µg/mL	115.3 µg/mL	139.1 µg/mL	178.6 µg/mL	196.8 µg/mL	218.3 µg/mL	241.5 µg/mL	272.7 µg/mL	317.6 µg/mL
R1	20,06	18,58	41,69	49,56	62,83	84,96	102,16	98,72	94,30	101,67
R2	18,09	19,57	40,22	46,61	57,42	80,53	98,72	101,18	100,20	100,69
R3	15,63	16,13	37,27	54,47	60,87	85,94	100,69	99,21	103,15	102,16
R4	17,60	27,93	43,17	52,51	58,90	84,46	97,25	99,21	91,84	104,13
R5	19,08	32,35	32,35	45,62	60,37	86,43	101,18	98,23	98,23	99,21
R6	16,62	29,89	42,67	53,49	61,36	90,86	100,20	100,20	101,18	101,18
R7	15,14	31,37	40,22	47,10	59,39	80,53	99,21	101,67	102,16	97,25
R8	18,09	20,55	43,17	53,98	66,76	93,81	101,18	104,13	104,13	95,28
R9	18,58	18,58	39,72	52,51	62,83	91,35	105,11	99,21	100,69	99,21
R10	20,55	19,08	40,22	47,10	56,44	85,94	106,10	100,69	103,15	101,67
Promedio	17,94	23,40	40,07	50,29	60,72	86,48	101,18	100,25	99,90	100,25

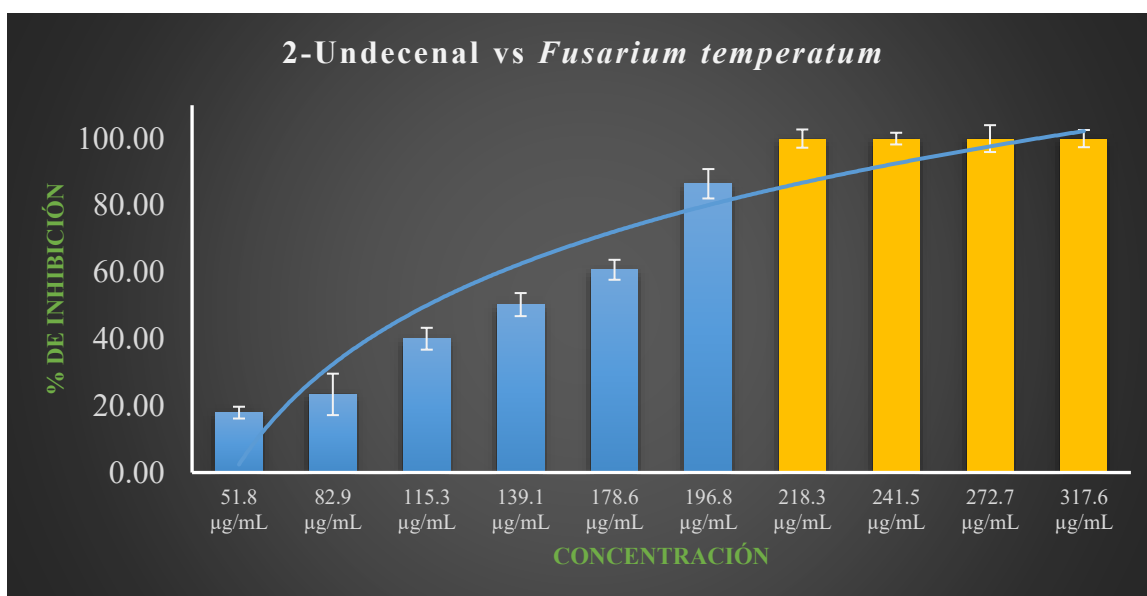


Figura 56. Porcentaje de inhibición obtenido a través de una curva-dosis respuesta con el 2-Undecenal contra *Fusarium temperatum*. Las barras de error representan la desviación estándar de 10 repeticiones.

Tabla 19. Porcentaje de inhibición del 2-Dodecenal sobre *Fusarium temperatum* (*MIC).

2-Dodecenal										
Concentración vs porcentaje de inhibición										
Repetición	44.6 µg/mL	60.5 µg/mL	80.3 µg/mL	102.7 µg/mL	*126.8 µg/mL	148.4 µg/mL	162.3 µg/mL	186.2 µg/mL	205.8 µg/mL	226.6 µg/mL
R1	32,35	53,98	68,24	93,31	100,69	102,65	99,21	100,20	102,65	106,10
R2	36,77	58,41	80,04	93,81	101,67	100,20	100,20	101,18	105,11	101,67
R3	34,32	52,02	82,50	96,76	101,67	101,18	101,18	102,65	99,21	102,16
R4	26,45	59,39	83,97	94,30	101,67	97,25	101,67	107,08	101,67	103,64
R5	29,40	48,08	62,34	95,28	105,11	104,13	103,64	104,13	102,16	105,11
R6	32,84	51,52	76,60	98,23	99,21	101,18	103,15	96,76	101,67	101,67
R7	34,81	58,90	81,02	93,81	103,15	103,64	104,62	102,65	107,57	102,65
R8	36,28	51,52	79,06	96,76	104,13	99,21	101,18	95,28	102,16	96,26
R9	37,27	54,97	89,38	100,20	98,72	95,77	103,15	102,65	101,67	105,11
R10	36,77	57,92	75,61	99,21	100,69	105,11	101,67	90,36	106,10	105,60
Promedio	33,73	54,67	77,88	96,17	101,67	101,03	101,97	100,29	103,00	103,00

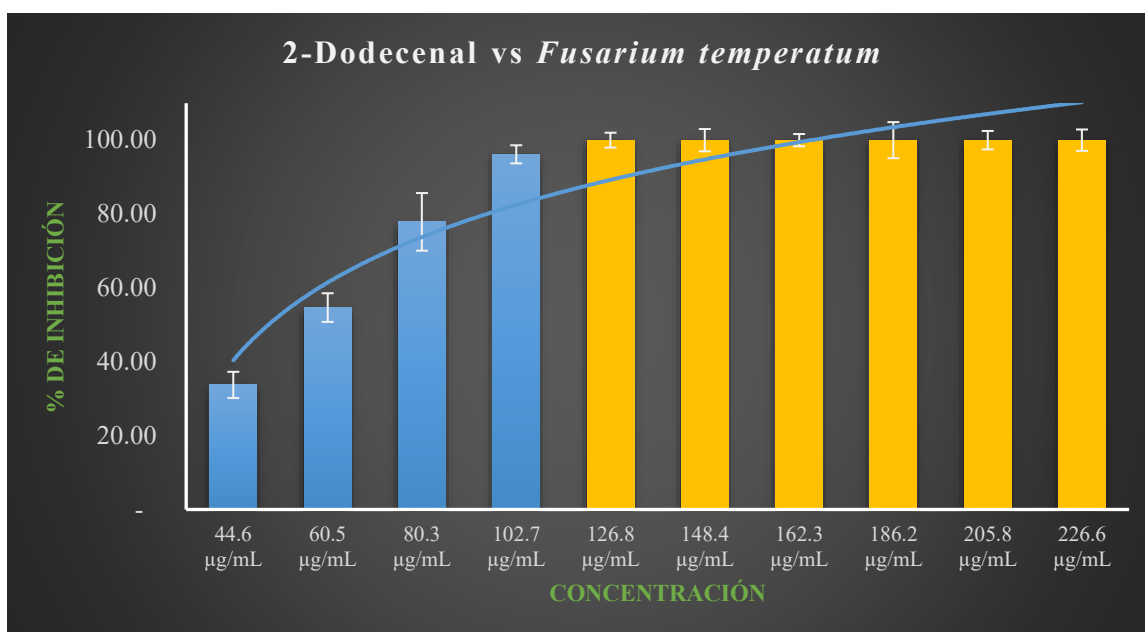


Figura 57 Porcentaje de inhibición obtenido a través de una curva-dosis respuesta con el 2-dodecenal contra *Fusarium temperatum*. Las barras de error representan la desviación estándar de 10 repeticiones.

El análisis estadístico entre las MIC del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus compuestos más abundantes, no mostraron diferencia estadísticamente significativa de acuerdo la prueba Tukey que se realizó a un nivel de significancia al 95%. A pesar de lo anterior, se requiere una menor dosis del aceite esencial que de los volátiles individuales para ejercer un efecto antifúngico sobre *F. temperatum* (**Figura 58**).

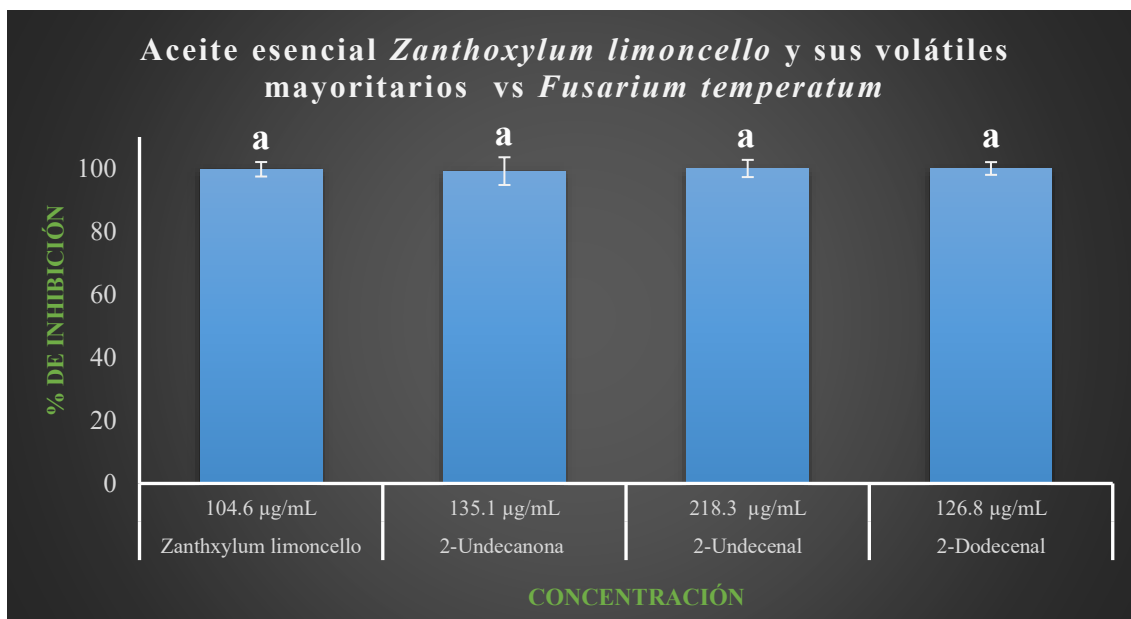


Figura 58. Comparación de concentraciones mínimas inhibitorias correspondientes al aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes.

7.11 Pruebas de microdilución en agar sobre lentes de contacto suaves

Las pruebas cualitativas que se realizaron en lentes de contacto suaves permitieron capturar el efecto inhibitorio del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* (junto con sus volátiles mayoritarios) así como en el de *Mentha piperita* (junto con sus volátiles mayoritarios) en el desarrollo de las estructuras reproductivas de los hongos *Fusarium temperatum* y *Fusarium sambucinum*, respectivamente.

En la **Figura 59** se muestra un crecimiento hifal prolífico de *Fusarium sambucinum* en los grupos controles (sin la presión del aceite o volátiles). Sin embargo, en las imágenes B, C, D se puede observar un claro efecto inhibitorio del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles mayoritarios en la germinación de las estructuras reproductivas. Aunque estas pudieron germinar, la presión del aceite y volátiles produjo un colapso generalizado. Un caso similar se observó para el caso de las estructuras reproductivas de *Fusarium temperatum*, y el efecto del aceite de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles mayoritarios (**Figura 60**). Este hecho sugirió que el efecto de los aceites esenciales y volátiles no solamente fue fungistático si no fungicida. Los ensayos de microdilución con rezasurina podrían reforzar este hecho, ya que la ausencia

de metabolismo redox en las células da por entendido que su metabolismo ha cesado.

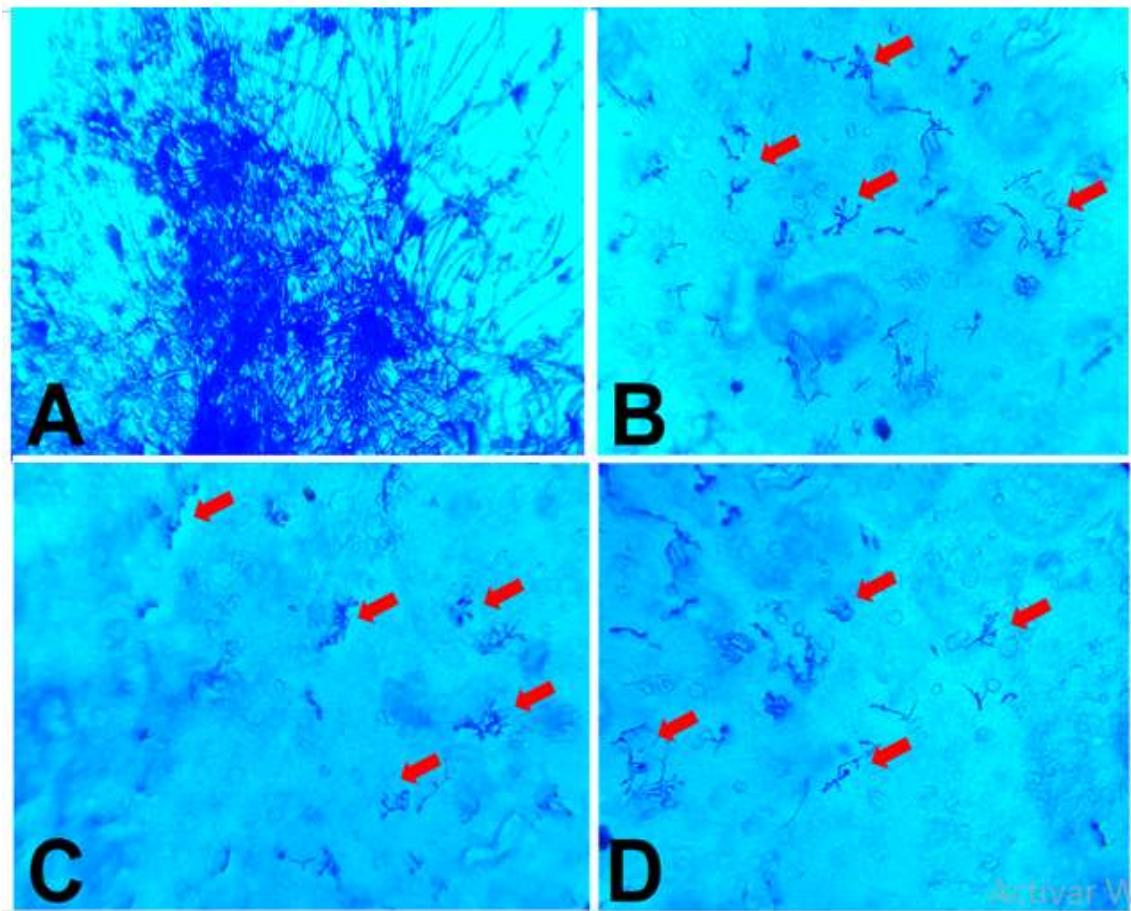


Figura 59. Germinación de conidios de *Fusarium sambucinum* en lentes de contacto suaves conteniendo el aceite esencial de *Mentha piperita* y sus principales volátiles. A, germinación sin la presión de alguna sustancia; B, aceite esencial ($180 \mu\text{g mL}^{-1}$); C, mentol ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$); D, mentona ($250 \mu\text{g mL}^{-1}$). Vistas obtenidas a 40X, bajo previa tinción con azul de algodón.

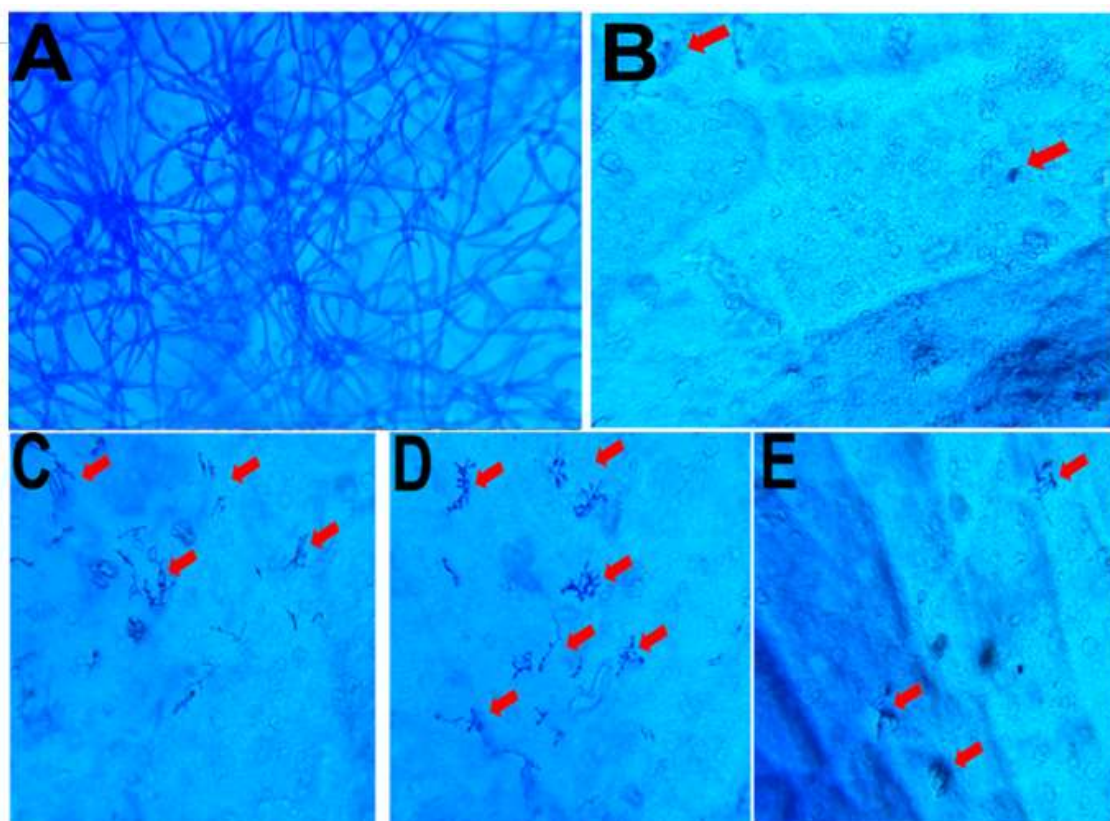


Figura 60. Germinación de conidios de *Fusarium temperatum* en lentes de contacto suaves conteniendo el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles principales. A, germinación sin la presión de alguna sustancia; B, aceite esencial ($120 \mu\text{g mL}^{-1}$); C, 2-undecanona ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$); D, 2-undecenal ($220 \mu\text{g mL}^{-1}$); E, 2-dodecenal ($130 \mu\text{g mL}^{-1}$). Vistas obtenidas a 40X, bajo previa tinción con azul de algodón.

7.12 Pruebas antifúngicas *in situ* con aceites esenciales y volátiles individuales

La presión ejercida por los aceites esenciales sobre los hongos fitopatógenos del chile manzano fue documentada con la finalidad de demostrar su efecto antifúngico en las muestras del tejido vegetal que fue recolectado en Yaonáhuac (municipio ubicado en la Sierra norte de Puebla). El monitoreo de las pruebas consistió en un grupo control y los tratamientos hechos con los aceites esenciales de *Mentha piperita* y *Zanthoxylum limoncello* además de sus volátiles más abundantes durante un periodo de 16 días, por cada tratamiento.

El grupo control de *Fusarium sambucinum* presentó una biomasa fúngica creciendo en la superficie del fruto durante el día 4. Una vez llegado el día siete, empezaron los primeros síntomas relacionados con la pérdida de turgencia,

empeorando de tal forma que, para el día 16 los frutos de chile manzano mostraron una pérdida total de firmeza. El AE de *Mentha piperita* mostró resultados alentadores en cuanto al retraso de la aparición de síntomas. La vida de anaquel fue aumentada 4 días con el aceite esencial, siendo este asperjado sobre la superficie de los frutos (**Figura 61**).

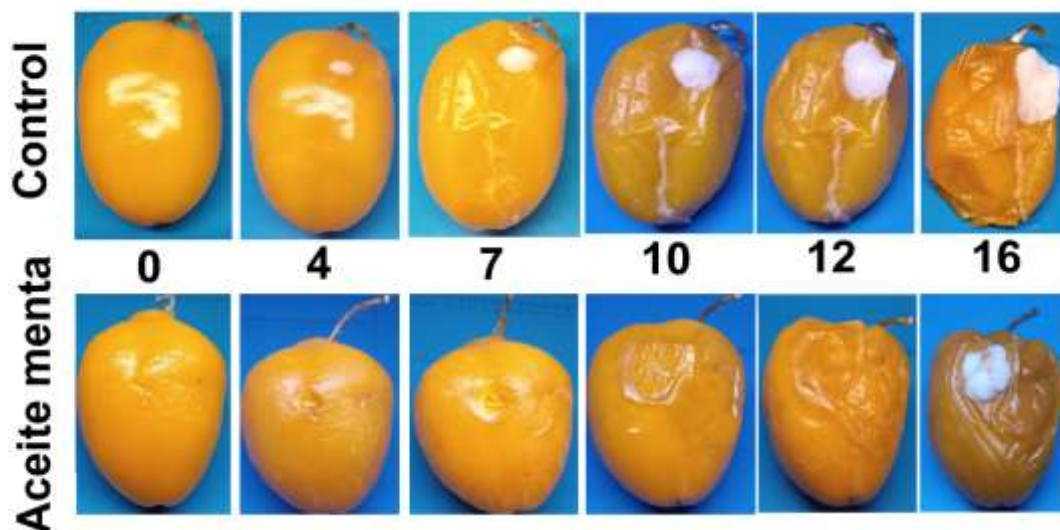


Figura 61. Cinética comparativa de chile manzano inoculado con *Fusarium sambucinum* (control) y de chile manzano inoculado con el mismo hongo bajo el efecto del aceite esencial.

La mentona mantuvo la calidad del fruto durante 5 días extra, en comparación con el grupo control (**Figura 62**).

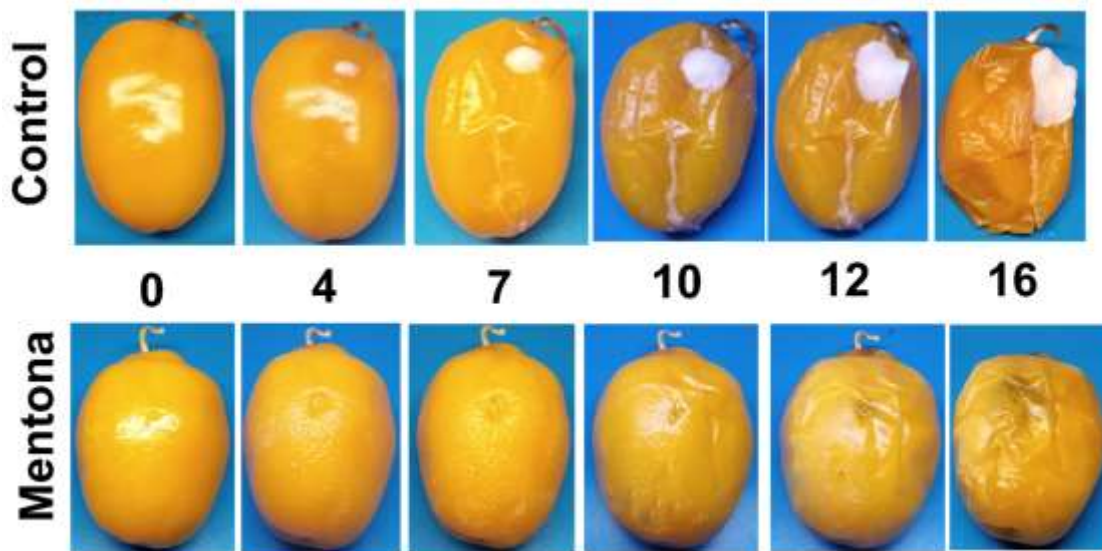


Figura 62. Cinética comparativa de chile manzano inoculado con *Fusarium sambucinum* (control) y de chile manzano inoculado con el mismo hongo bajo el efecto de la mentona.

El volátil mentol, presentó el mismo comportamiento inhibitorio con el hongo *Fusarium sambucinum*. El cual, no exhibió daños a la firmeza del fruto o muestras de crecimiento de micelio durante 10 días (Figura 63).

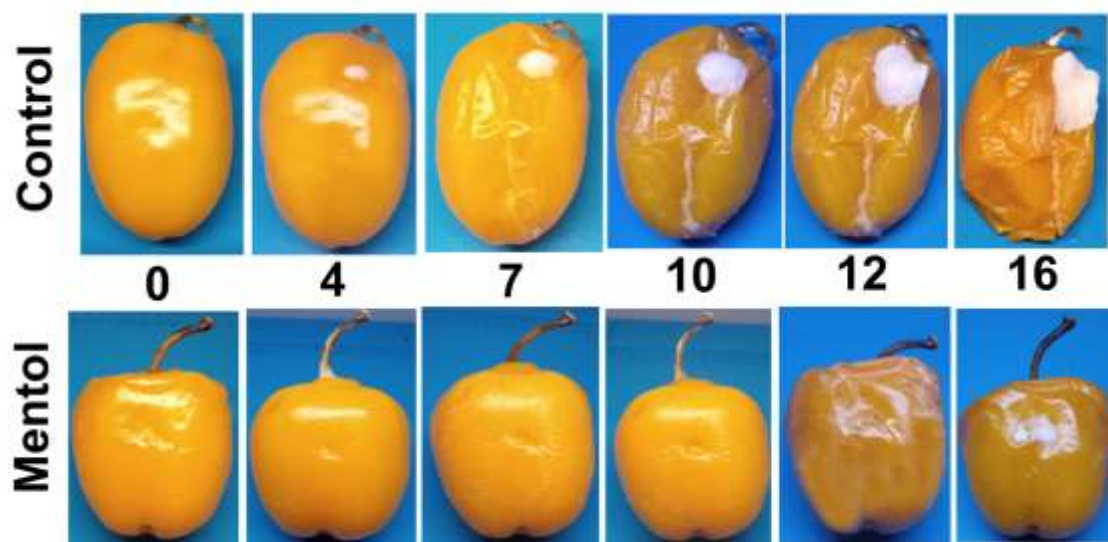


Figura 63. Cinética comparativa de chile manzano inoculado con *Fusarium sambucinum* (control) y de chile manzano inoculado con el mismo hongo bajo el efecto del mentol.

La **Figura 64** muestra las diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los tratamientos hechos con el aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes, durante todo el monitoreo hecho para apreciar la aparición de síntomas. Los tratamientos hechos con mentol y mentona mostraron los mejores rendimientos para retrasar la aparición de síntomas de enfermedad, siendo el mentol ligeramente más efectivo.

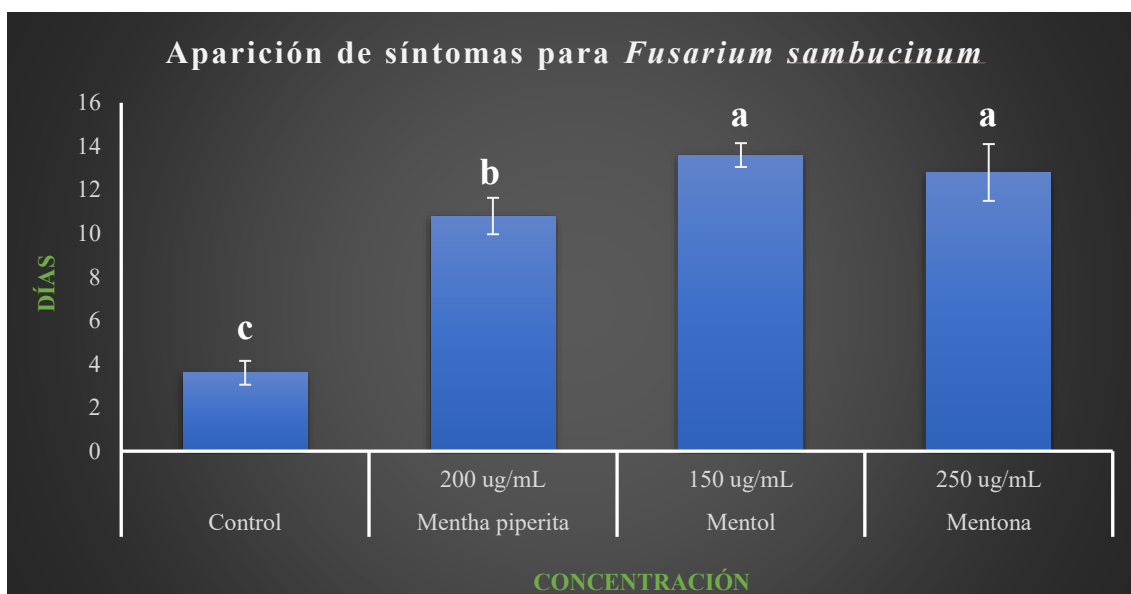


Figura 64. Cinética para la aparición y retraso de síntomas en chile manzano causados por el efecto de *Fusarium sambucinum* y el aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

7.13 Análisis moleculares

7.13.1 Mentha Piperita vs Fusarium sambucinum

Los chiles fueron sometidos a análisis bromatológicos que se llevaron a cabo para definir su valor nutricional después de haber sufrido los efectos de los hongos fitopatógenos. Dentro de los factores químicos evaluados que se pudieron observar en la **Figura 65** y la **Tabla 20**, la humedad experimentó aumentos en los diferentes tratamientos. El grupo control tuvo el índice más alto de humedad debido a la actividad *Fusarium sambucinum*, que logra humidificar el medio casi al 100% una vez terminado el monitoreo. El tratamiento hecho con el AE de *Mentha Piperita* mostró una tendencia a crecer en sus porcentajes de humedad, mientras que sus volátiles mentol y mentona, exhibieron una caída en

los niveles de humedad constante, hasta llegar el día 10, día en el cual los volátiles dejaron de surtir un efecto antifúngico y por ende los niveles de humedad crecieron.

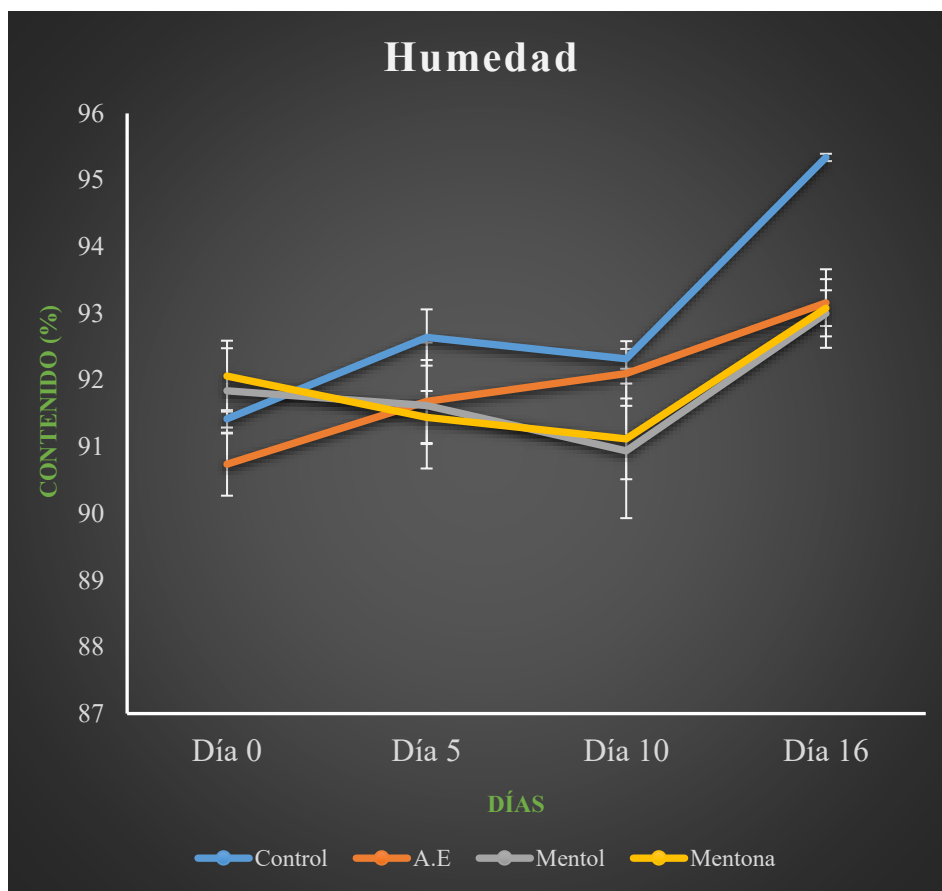


Figura 65. Cinética para la concentración de Humedad en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 20. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la variable humedad. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p < 0.05).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	91,4 ± 0,13 ^a	92,6 ± 0,42 ^b	92,3 ± 0,15 ^b	95,3 ± 0,05 ^c
A.E.	90,7 ± 0,47 ^a	91,7 ± 0,62 ^{ab}	92,1 ± 0,48 ^b	93,2 ± 0,50 ^c
Mentol	91,8 ± 0,64 ^a	91,6 ± 0,94 ^a	90,9 ± 1,01 ^{ab}	93,0 ± 0,51 ^{ac}
Mentona	92,1 ± 0,53 ^a	91,4 ± 0,40 ^{ab}	91,1 ± 0,61 ^b	93,1 ± 0,27 ^c

La materia seca presentó una caída marcada en el grupo control. Mientras que el tratamiento que fue hecho con el aceite esencial, tendió a mostrar una caída constante pero lenta. En contraparte, los tratamientos correspondientes al mentol y la mentona tendieron a subir sus porcentajes casi de la misma forma y al mismo tiempo hasta el día 10, que es cuando empezaron a decaer de forma lenta en comparación a la caída abrupta que sufrió el grupo control en el día 10 (Figura 66), (Tabla 21).

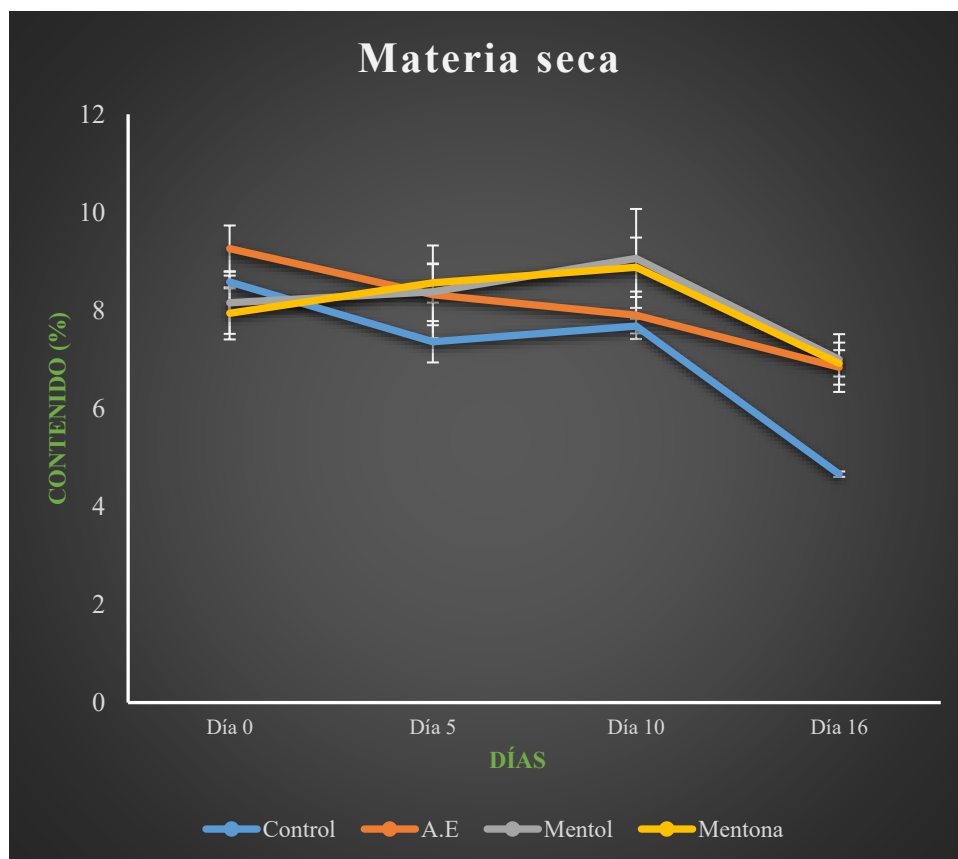


Figura 66. Cinética para la concentración de Materia seca en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 21. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la variable materia seca. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	8,6 ± 0,13 ^a	7,4 ± 0,42 ^b	7,7 ± 0,15 ^{ab}	4,7 ± 0,05 ^c
A.E	9,3 ± 0,47 ^a	8,3 ± 0,62 ^{ab}	7,9 ± 0,48 ^b	6,8 ± 0,50 ^c
Mentol	8,2 ± 0,64 ^a	8,4 ± 0,94 ^a	9,1 ± 1,01 ^{ab}	7,0 ± 0,51 ^{ac}
Mentona	7,9 ± 0,53 ^a	8,6 ± 0,40 ^{ab}	8,9 ± 0,61 ^b	6,9 ± 0,27 ^c

La **Figura 67** y la **Tabla 22** exhiben una caída casi por completo en los porcentajes de grasa cruda (lípidos) que se dio en el grupo control. El tratamiento hecho con el AE de *Mentha piperita*, siguió mostrando una tendencia a caer constantemente, indicando diferencias estadísticamente significativas en todos los días. Mientras, el volátil mentol exhibió una tendencia irregular al decaer ligeramente en el día 5, para volver a subir y, se mantuvo nuevamente en el porcentaje inicial del monitoreo hasta el día 10, dando paso nuevamente, a una caída tenue. La mentona mantuvo estable los niveles de materia seca hasta el día 5. Sin embargo, cayó de forma constante pero lenta una vez pasado este umbral. El AE y el mentol mostraron así, un mejor rendimiento en comparación a la mentona.

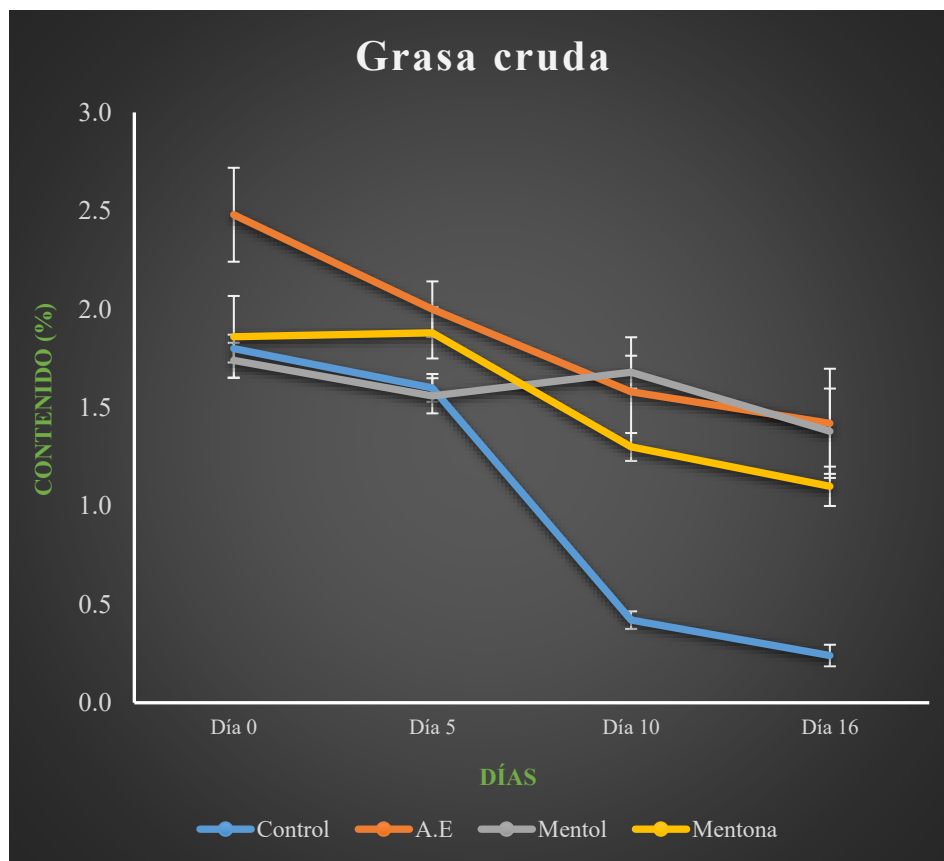


Figura 67. Cinética para la concentración de Grasa Cruda en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 22. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la variable grasa cruda. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p < 0.05).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	1,8 ± 0,07 ^a	1,6 ± 0,07 ^b	0,4 ± 0,04 ^c	0,2 ± 0,05 ^d
A.E.	2,5 ± 0,24 ^a	2,0 ± 0,14 ^b	1,6 ± 0,28 ^{bc}	1,4 ± 0,28 ^c
Mentol	1,7 ± 0,09 ^a	1,6 ± 0,09 ^{ab}	1,7 ± 0,08 ^a	1,4 ± 0,22 ^b
Mentona	1,9 ± 0,21 ^a	1,9 ± 0,13 ^a	1,3 ± 0,07 ^b	1,1 ± 0,10 ^b

El factor, proteína cruda en la **Figura 68** y la **Tabla 23**, mostró la caída más notoria de este factor en el grupo control. Los tratamientos correspondientes al aceite esencial y la mentona cayeron de forma constante durante todo el monitoreo, sin haber alcanzado los niveles del grupo control. El tratamiento que

contenía el mentol se mantuvo estable hasta el día 5, posteriormente, subió ligeramente para caer de forma repentina llegado el día 10.

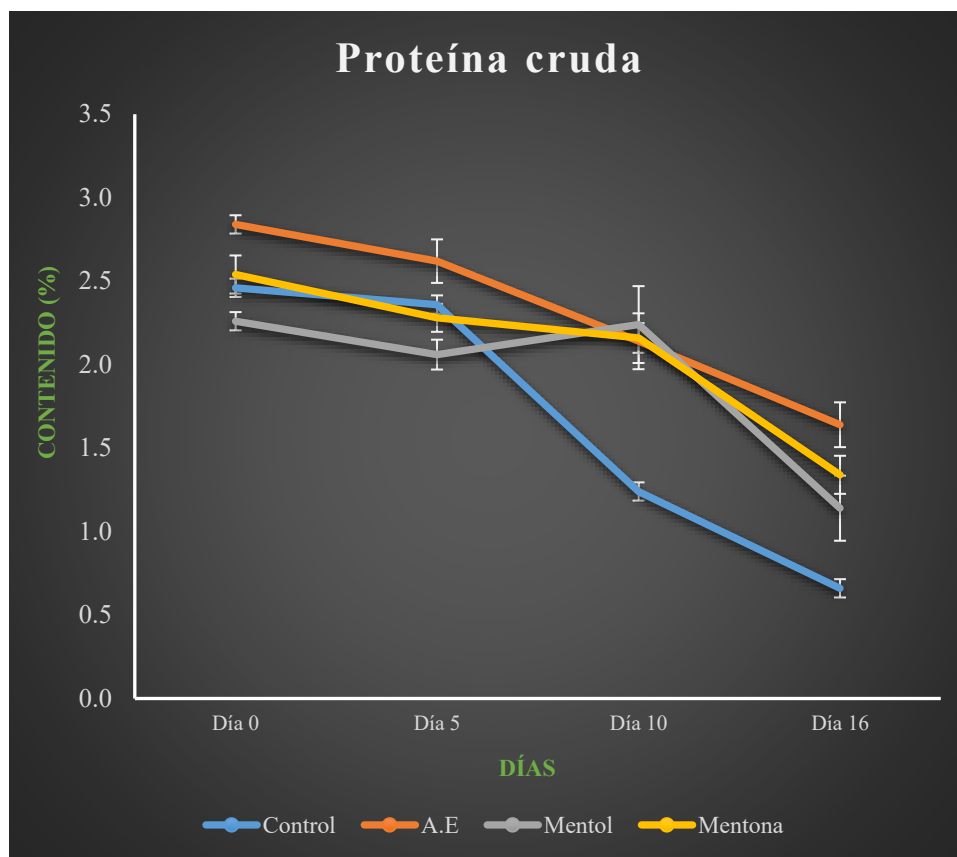


Figura 68. Cinética para la concentración de Fibra Cruda en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 23. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la variable proteína cruda. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	2,5 ± 0,05 ^a	2,4 ± 0,05 ^b	1,2 ± 0,05 ^c	0,7 ± 0,05 ^d
A.E.	2,8 ± 0,05 ^a	2,6 ± 0,13 ^{ab}	2,1 ± 0,17 ^c	1,6 ± 0,13 ^d
Mentol	2,3 ± 0,05 ^a	2,1 ± 0,09 ^a	2,2 ± 0,23 ^a	1,1 ± 0,19 ^b
Mentona	2,5 ± 0,11 ^a	2,3 ± 0,08 ^b	2,2 ± 0,09 ^{bc}	1,3 ± 0,11 ^d

La fibra cruda (carbohidratos estructurales), conto con una estabilidad durante el día 0 al 5 en el grupo control. Sin embargo, después de este día, cayó a niveles

ínfimos. El aceite esencial y la mentona se comportaron de manera similar al haber contrarrestado la pérdida de fibra cruda, con niveles que caían de forma constante, sin haber alcanzado los mismos niveles del grupo control. El tratamiento que fue hecho con mentol mostró un comportamiento interesante, ya que cayó ligeramente entre el día 0 y 5. No obstante, la fibra cruda experimentó un aumento en sus niveles de contenido después del día 5, con diferencias estadísticamente significativas entre este día y el día 10. Posterior al día 10, los niveles cayeron de forma clara, siendo este compuesto el que mejor pudo conservar esta propiedad (**Figura 69**), (**Tabla 24**).

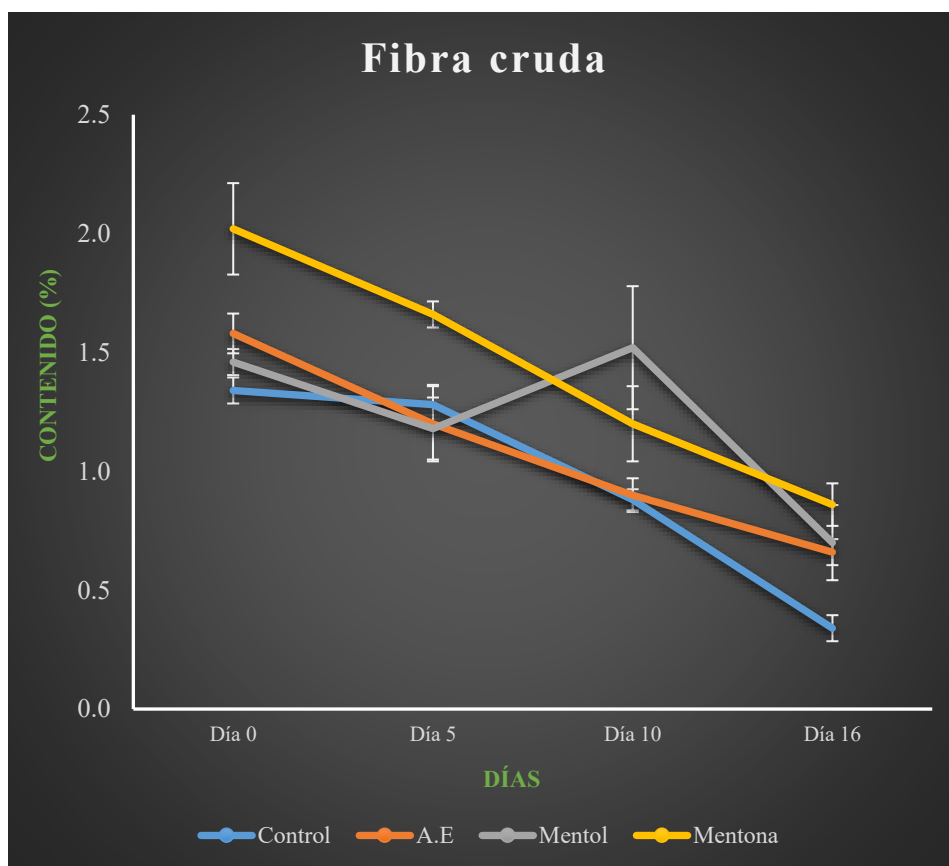


Figura 69. Cinética para la concentración de Fibra Cruda en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 24. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la variable fibra cruda. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	1,3 ± 0,05 ^a	1,3 ± 0,08 ^a	0,9 ± 0,04 ^b	0,3 ± 0,05 ^c
A.E	1,6 ± 0,08 ^a	1,2 ± 0,16 ^b	0,9 ± 0,07 ^c	0,7 ± 0,05 ^d
Mentol	1,5 ± 0,05 ^a	1,2 ± 0,13 ^a	1,5 ± 0,26 ^{ab}	0,7 ± 0,16 ^a
Mentona	2,0 ± 0,19 ^a	1,7 ± 0,05 ^b	1,2 ± 0,16 ^c	0,9 ± 0,09 ^d

Los datos concernientes a la ceniza (minerales), que se encuentran representados en la **Figura 70** y **Tabla 25**, exhibieron a un grupo control en caída constante durante todo el monitoreo. El AE y la mentona tuvieron un comportamiento similar, sin presentar diferencias significativas entre ellos y tendiendo siempre a caer en los niveles de ceniza. El tratamiento mentol mantuvo los niveles de ceniza de forma estable hasta el día 5, para después tener un aumento porcentual significativo hasta el día 10, ya que después de este día los niveles cayeron nuevamente.

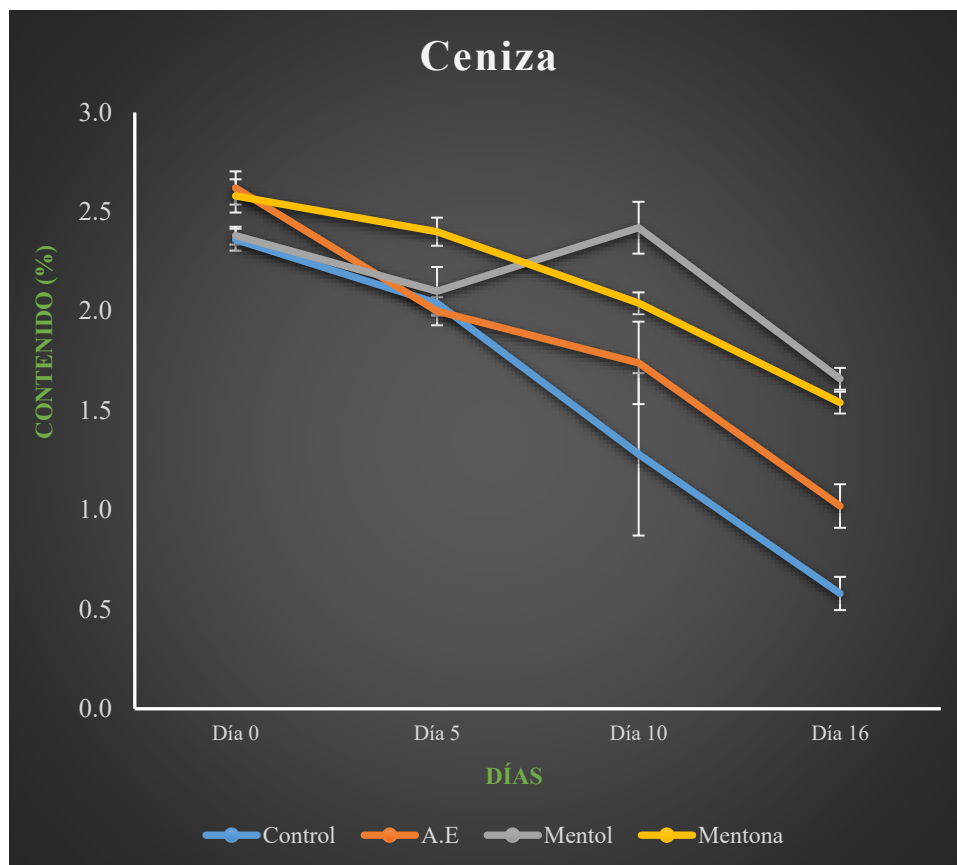


Figura 70. Cinética para la concentración de Ceniza en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 25. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la variable ceniza. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	2,4 ± 0,05 ^a	2,0 ± 0,05 ^a	1,3 ± 0,41 ^b	0,6 ± 0,08 ^c
A.E	2,6 ± 0,08 ^a	2,0 ± 0,07 ^b	1,7 ± 0,21 ^c	1,0 ± 0,11 ^d
Mentol	2,4 ± 0,04 ^a	2,1 ± 0,12 ^b	2,4 ± 0,13 ^a	1,7 ± 0,05 ^c
Mentona	2,6 ± 0,08 ^a	2,4 ± 0,07 ^b	2,0 ± 0,05 ^c	1,5 ± 0,05 ^d

El Extracto Libre de Nitrógeno (carbohidratos solubles), conservo sus niveles estables en el grupo control hasta el día 5, día en el cual la actividad fúngica de *Fusarium sambucinum* empezó a desarrollarse hasta el punto de hacer decaer este factor a niveles casi nulos. Los tratamientos que contenían al AE y el volátil

mentol, tuvieron comportamientos similares al haber mantenido los niveles de ELN relativamente estables durante todo el monitoreo. Mientras que, la mentona mostró diferencias estadísticamente significativas entre todos los días, ya que presentó caídas severas (Figura 71), (Tabla 26).

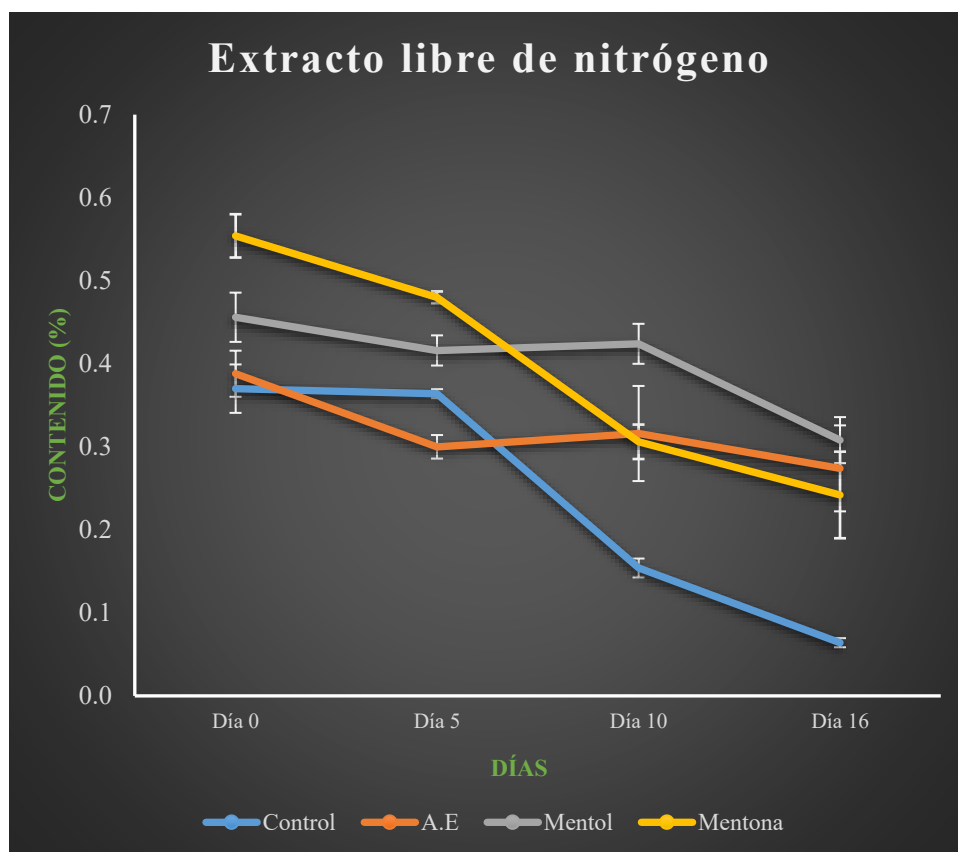


Figura 71. Cinética para la concentración de extracto libre de nitrógeno en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 26. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la variable extracto libre de nitrógeno. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	0,4 ± 0,03 ^a	0,4 ± 0,01 ^{ab}	0,2 ± 0,01 ^c	0,1 ± 0,01 ^d
A.E	0,4 ± 0,03 ^a	0,3 ± 0,01 ^{bc}	0,3 ± 0,06 ^{abc}	0,3 ± 0,05 ^c
Mentol	0,5 ± 0,03 ^a	0,4 ± 0,02 ^a	0,4 ± 0,02 ^a	0,3 ± 0,03 ^b
Mentona	0,6 ± 0,03 ^a	0,5 ± 0,01 ^b	0,3 ± 0,02 ^c	0,2 ± 0,05 ^d

En la parte correspondiente al contenido de carotenos, se realizaron análisis moleculares que mostraron como el hongo fitopatógeno afecto la presencia de estos compuestos vegetales que ayudan a la planta en el proceso de fotosíntesis y que poseen propiedades para proteger a esta del exceso de luz lumínica.

El caroteno violaxantina cayó casi por completo en el grupo control. Mientras que el tratamiento con AE empezó manteniendo altos niveles de violaxantina, la caída fue marcada partir del día 10 que es cuando mostro una diferencia estadísticamente significativa (**Tabla 26**). El mentol y la mentona mantuvieron la presencia de este carotenoide de forma constante hasta el día 10 y se pudo observar un punto de bifurcación (**Figura 72**), teniendo a la mentona con una caída estrepitosa y al mentol con mejores propiedades para conservar el compuesto violaxantina.

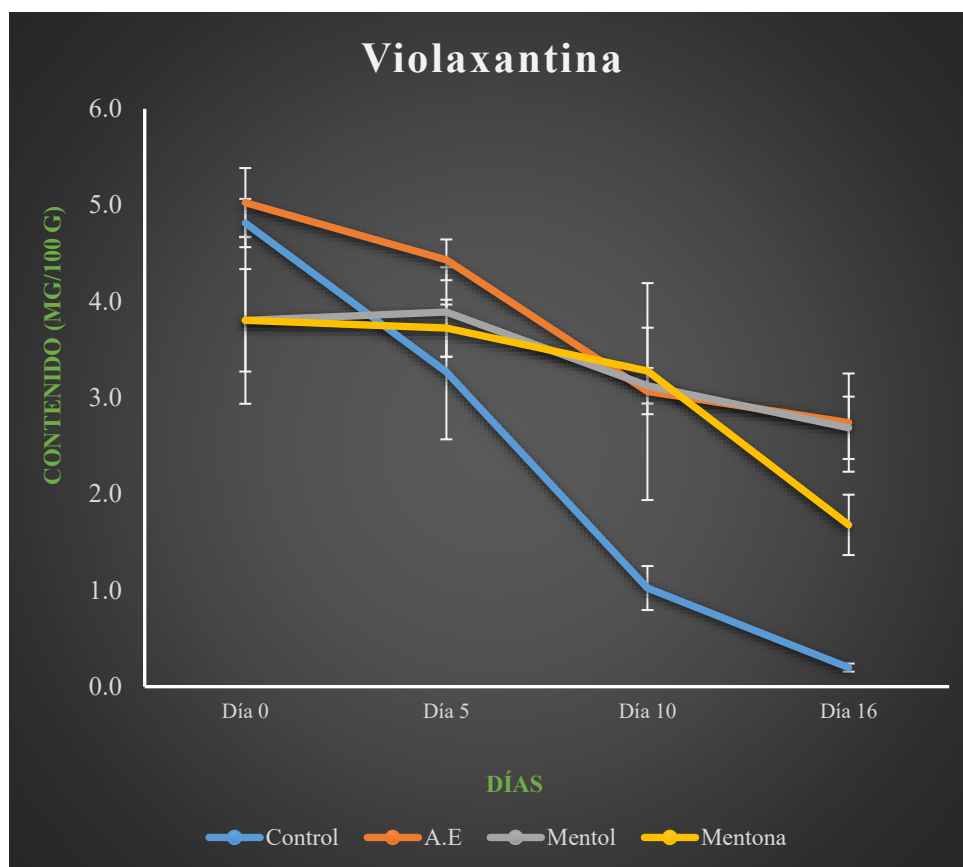


Figura 72. Cinética para la concentración de Violaxantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 27. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes al caroteno violaxantina. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	4,8 ± 0,25 ^a	3,3 ± 0,70 ^b	1,0 ± 0,23 ^c	0,2 ± 0,04 ^d
A.E	5,0 ± 0,36 ^a	4,4 ± 0,21 ^a	3,1 ± 1,13 ^b	2,7 ± 0,51 ^b
Mentol	3,8 ± 0,53 ^a	3,9 ± 0,46 ^a	3,1 ± 0,18 ^{ab}	2,7 ± 0,32 ^b
Mentona	3,8 ± 0,87 ^a	3,7 ± 0,30 ^a	3,3 ± 0,45 ^a	1,7 ± 0,31 ^b

La cis-violaxantina se presentó en el grupo control como un caroteno que se vio muy afectado por *Fusarium sambucinum* y que cayó súbitamente desde el día 0 para terminar desapareciendo completamente llegado el día 16 y que mostro diferencias estadísticamente significativas durante todo el proceso. Hubo caídas sustanciales en los tratamientos hechos con el AE, el mentol y la mentona que conservaron sus niveles de cis-violaxantina de forma estable, hasta llegar al día 10, que es cuando los niveles empezaron a caer de forma notoria y en el caso de la mentona ocurrió de forma agresiva (**Figura 73**), (**Tabla 28**).

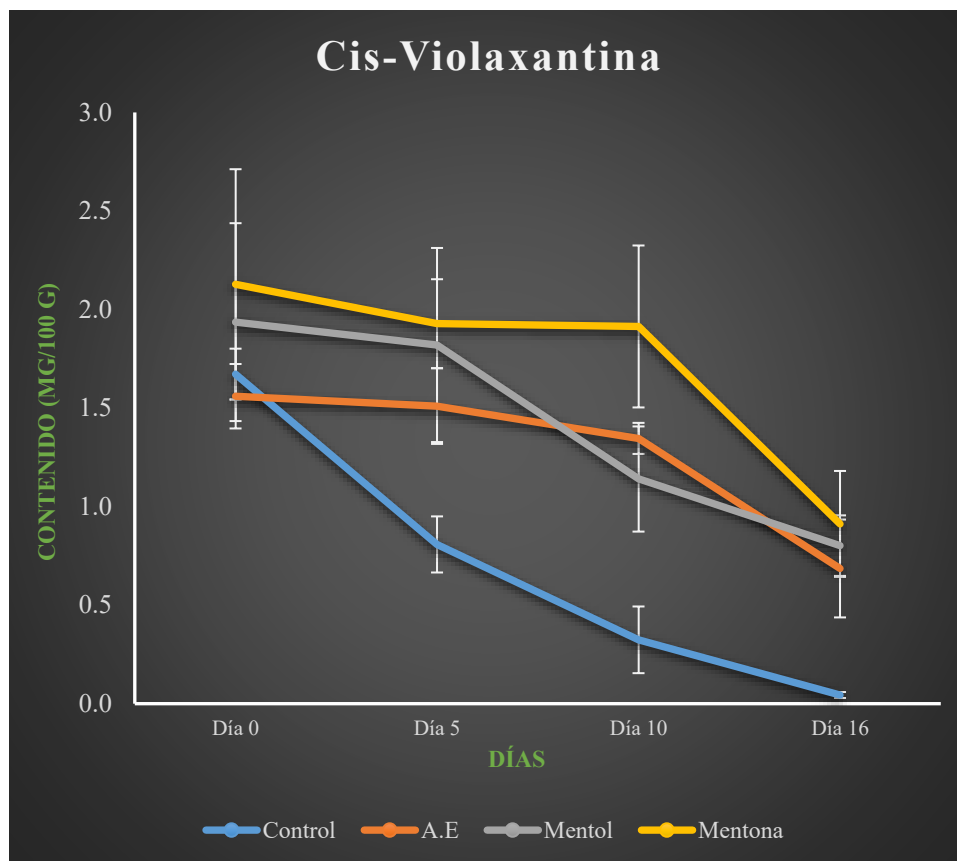


Figura 73. Cinética para la concentración de Cis-Violaxantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 28. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes al caroteno cis-violaxantina. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	1,7 ± 0,13 ^a	0,8 ± 0,14 ^b	0,3 ± 0,17 ^c	0,0 ± 0,02 ^d
A.E	1,6 ± 0,16 ^a	1,5 ± 0,19 ^a	1,3 ± 0,08 ^a	0,7 ± 0,25 ^b
Mentol	1,9 ± 0,50 ^a	1,8 ± 0,49 ^{ab}	1,1 ± 0,27 ^{cb}	0,8 ± 0,15 ^{cd}
Mentona	2,1 ± 0,58 ^a	1,9 ± 0,23 ^a	1,9 ± 0,41 ^b	0,9 ± 0,27 ^b

En la **Figura 74** y **Tabla 29** se pudo observar la caída de la anteraxantina a niveles casi nulos en el grupo control. Mientras que el AE y el mentol conservaron los niveles del carotenoide sin ningún tipo de diferencias notables entre sí,

aunque el volátil mentona indicó una caída marcada durante todos los días, presentando diferencias estadísticas durante todo el experimento.

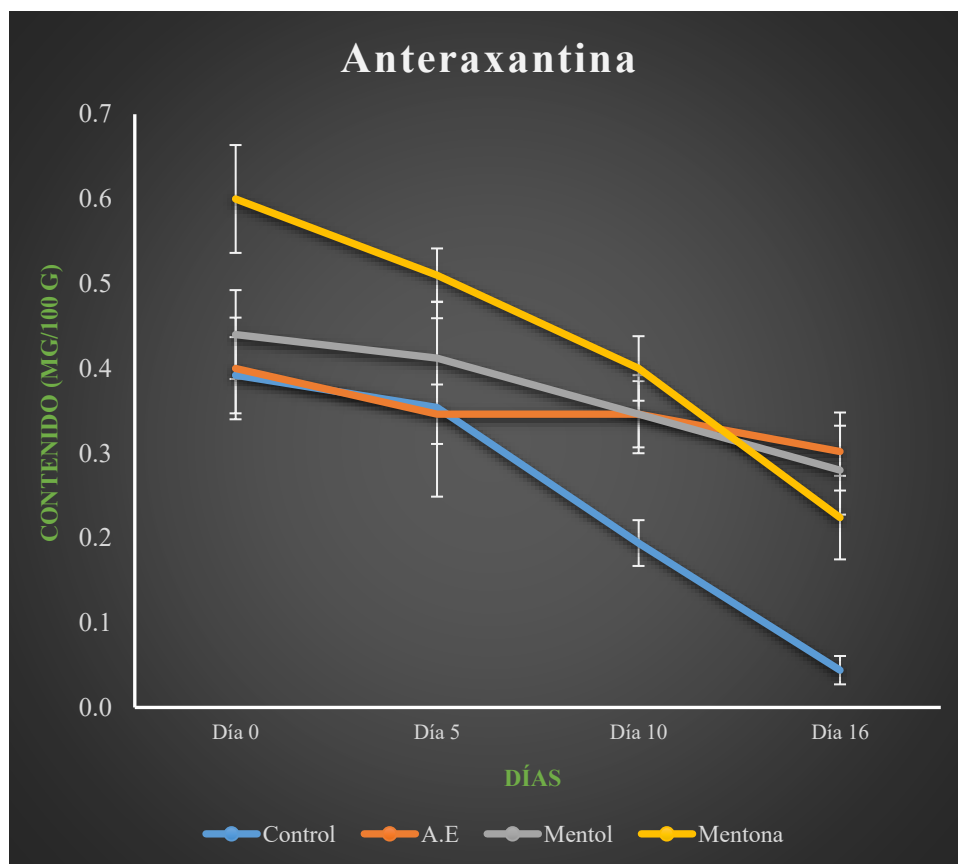


Figura 74. Cinética para la concentración de Anteraxantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 29. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes al caroteno anteraxantina. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	0,4 ± 0,04 ^a	0,4 ± 0,11 ^a	0,2 ± 0,03 ^b	0,0 ± 0,02 ^c
A.E	0,4 ± 0,06 ^a	0,3 ± 0,04 ^a	0,3 ± 0,05 ^a	0,3 ± 0,05 ^b
Mentol	0,4 ± 0,05 ^a	0,4 ± 0,07 ^a	0,3 ± 0,04 ^{ab}	0,3 ± 0,05 ^b
Mentona	0,6 ± 0,06 ^a	0,5 ± 0,03 ^b	0,4 ± 0,04 ^c	0,2 ± 0,05 ^d

La luteína es uno de los carotenos que se presentaron en niveles de contenido muy bajos, razón por la cual el grupo control solo tuvo que esperar hasta el día 10 para que el patógeno consumiera completamente este compuesto. No se presentaron diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos hechos con el AE, el mentol y la mentona. Sin embargo, vale la pena señalar que el compuesto mentona tendió a la ineficacia cuando se trata de conservar un compuesto carotenoide (**Figura 75**), (**Tabla 30**).

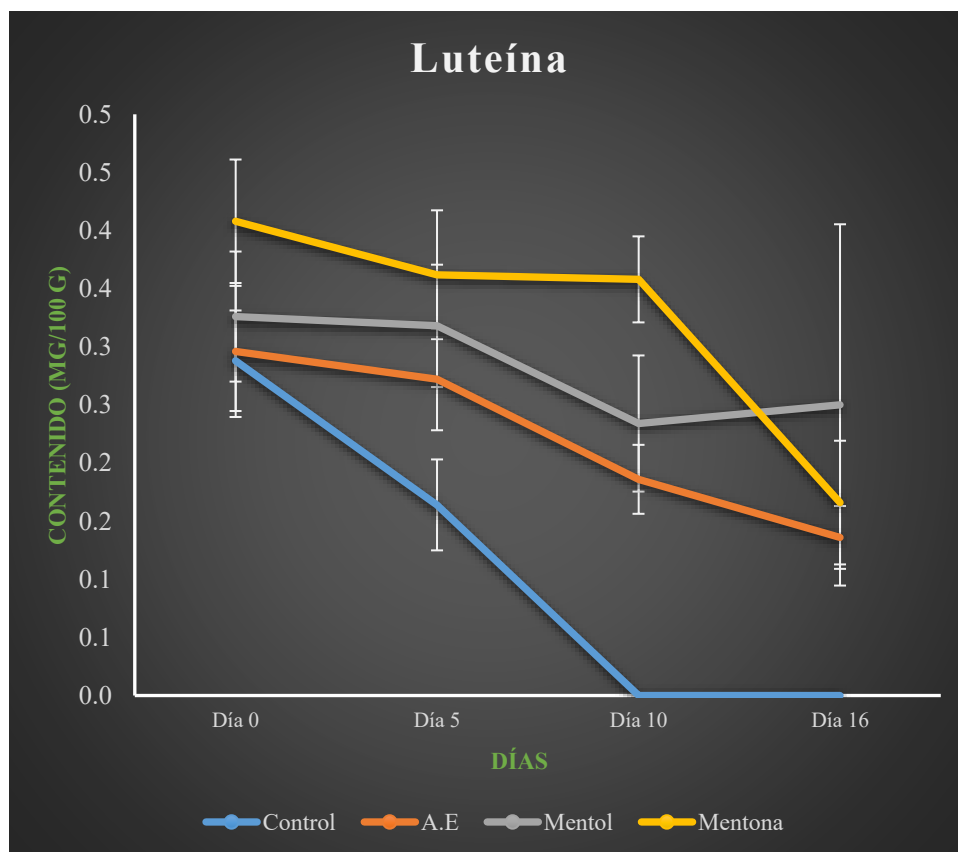


Figura 75. Cinética para la concentración de Luteína en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 30. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes al caroteno luteína. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Day 0	Day 5	Day 10	Day 16
Control	0,3 ± 0,04 ^a	0,2 ± 0,04 ^c	0,0 ± 0,00 ^b	0,0 ± 0,00 ^b
A.E	0,3 ± 0,06 ^a	0,3 ± 0,04 ^a	0,2 ± 0,03 ^b	0,1 ± 0,03 ^b
Mentol	0,3 ± 0,06 ^a	0,3 ± 0,05 ^a	0,2 ± 0,06 ^a	0,3 ± 0,16 ^a
Mentona	0,4 ± 0,05 ^a	0,4 ± 0,06 ^a	0,4 ± 0,04 ^a	0,2 ± 0,05 ^b

Los niveles de luteoxantina que se pueden observar en la **Figura 76** y **Tabla 31**, exhibieron de nueva cuenta niveles ínfimos de este carotenoide desde el día uno, hasta que disminuyo para casi desaparecer. El resto de los tratamientos se comportaron de forma similar con excepción de la mentona que cayo agresivamente desde el día 5.

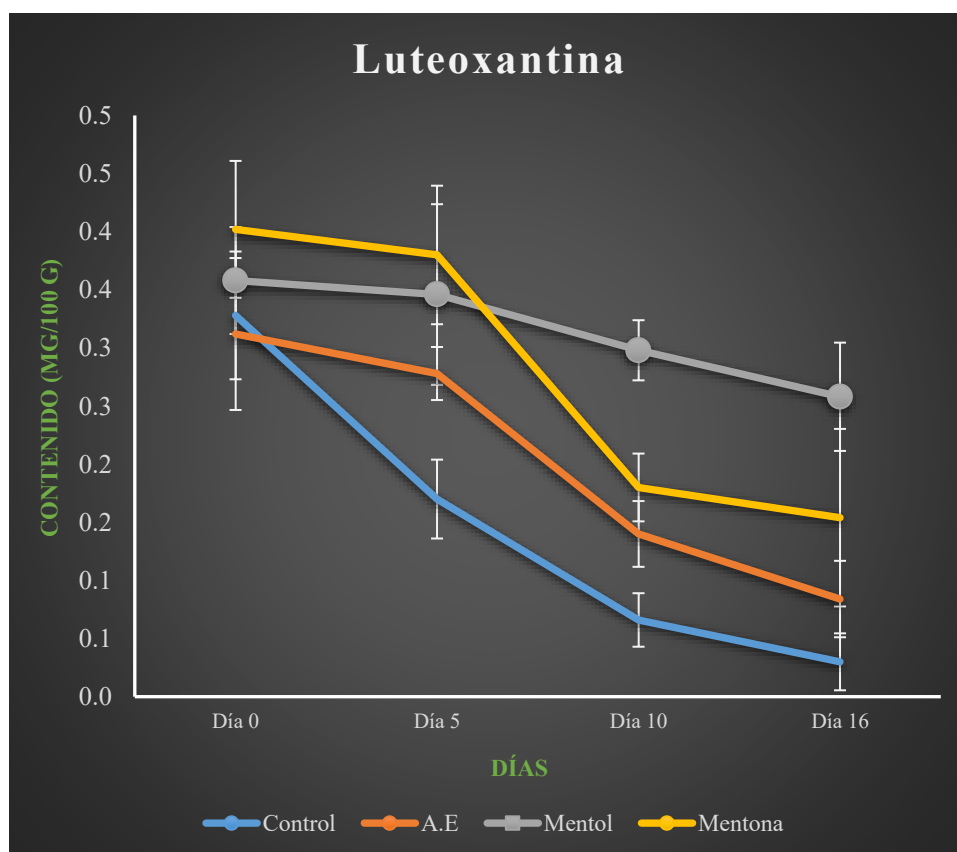


Figura 76. Cinética para la concentración de Luteoxantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 31. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes al caroteno luteoxantina. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	0,3 ± 0,05 ^a	0,2 ± 0,03 ^c	0,1 ± 0,02 ^b	0,0 ± 0,02 ^b
A.E	0,3 ± 0,07 ^a	0,3 ± 0,02 ^a	0,1 ± 0,03 ^b	0,1 ± 0,03 ^b
Mentol	0,4 ± 0,05 ^a	0,3 ± 0,08 ^{ab}	0,3 ± 0,03 ^{ab}	0,3 ± 0,05 ^b
Mentona	0,4 ± 0,06 ^a	0,4 ± 0,06 ^a	0,2 ± 0,03 ^b	0,2 ± 0,08 ^b

La **Figura 77** y **Tabla 32** muestran los datos relacionados a los contenidos de zexantina. Se pudo observar un comportamiento dispar al resto de los carotenoides en el grupo control, ya que, si bien el comportamiento fue normal hasta el día 5, se pudo notar un aumento bastante atenuado hasta el día 10, después, los niveles se desplomaron. Esto probablemente pudo darse debido a una reacción de defensa por parte del tejido vegetal en contra del fitopatógeno ya que algunos carotenoides pueden tener este tipo de actividad. En cuanto al resto de tratamientos, se observó un comportamiento similar a excepción del tratamiento mentol, que mostro una caída significativa después del día 10 en los niveles de zexantina.

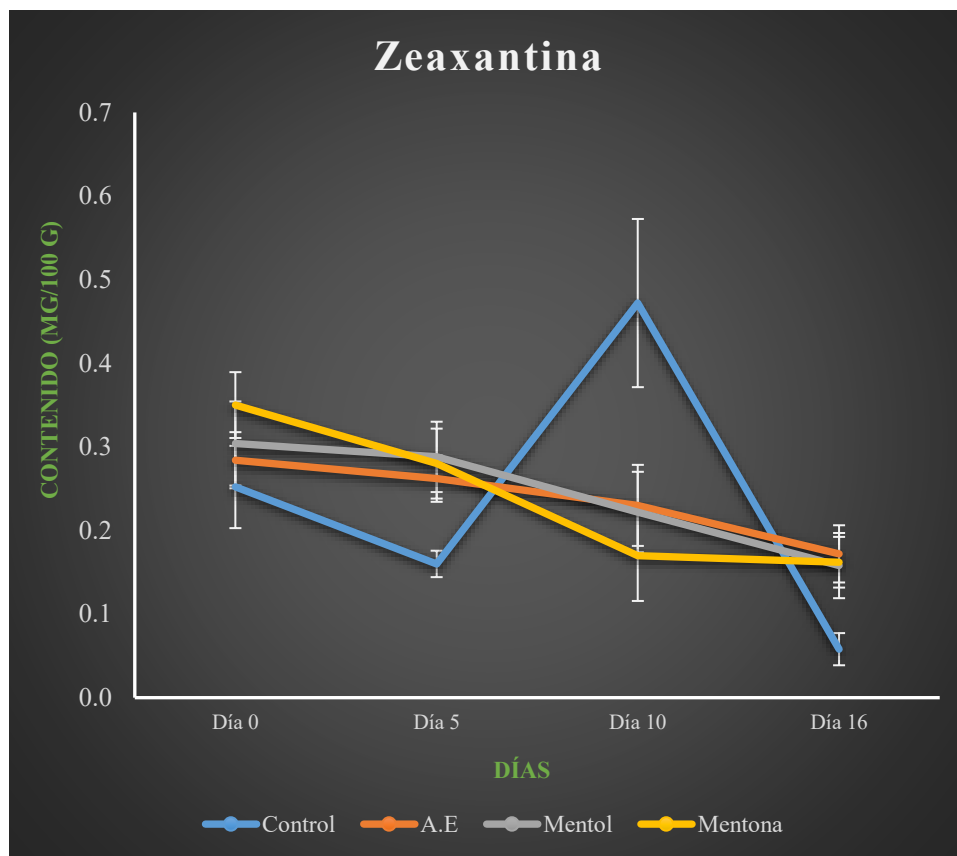


Figura 77. Cinética para la concentración de Zexantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 32. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes al caroteno zexantina. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	0,3 ± 0,05 ^a	0,2 ± 0,02 ^{ac}	0,5 ± 0,10 ^b	0,1 ± 0,02 ^c
A.E	0,3 ± 0,03 ^a	0,3 ± 0,03 ^a	0,2 ± 0,05 ^{ab}	0,2 ± 0,03 ^b
Mentol	0,3 ± 0,05 ^a	0,3 ± 0,04 ^{ab}	0,2 ± 0,05 ^{bc}	0,2 ± 0,04 ^c
Mentona	0,4 ± 0,04 ^a	0,3 ± 0,04 ^a	0,2 ± 0,05 ^b	0,2 ± 0,03 ^b

Los datos de β -Caroteno indicaron una tendencia a disminuir que se encontró marcada por el tratamiento mentol, el cual disminuyó sus niveles de este carotenoide de forma dramática, después del día 5 (**Figura 78**), (**Tabla 33**).

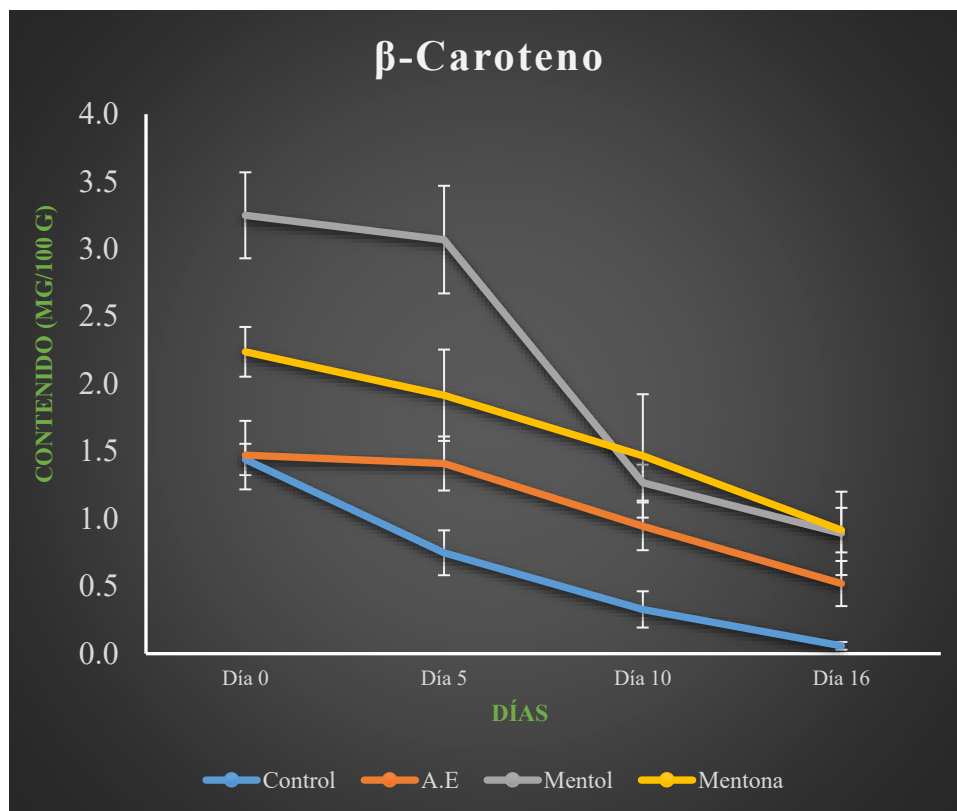


Figura 78. Cinética para la concentración de β -Caroteno en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 33. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes al compuesto carotenoide β -Caroteno. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	1,4 ± 0,12 ^a	0,7 ± 0,17 ^b	0,3 ± 0,13 ^c	0,1 ± 0,03 ^d
A.E	1,5 ± 0,25 ^a	1,4 ± 0,20 ^a	0,9 ± 0,18 ^b	0,5 ± 0,17 ^c
Mentol	3,3 ± 0,32 ^a	3,1 ± 0,40 ^a	1,3 ± 0,13 ^b	0,9 ± 0,31 ^b
Mentona	2,2 ± 0,18 ^a	1,9 ± 0,34 ^{ab}	1,5 ± 0,46 ^{bc}	0,9 ± 0,17 ^c

Los datos mostrados en la **Figura 79** y **Tabla 34**, indicaron una tendencia por parte del fitopatógeno (*Fusarium sambucinum*) a acidificar el medio de todos los tratamientos, siendo el tratamiento mentona el que mayores diferencias estadísticamente significativas mostro.

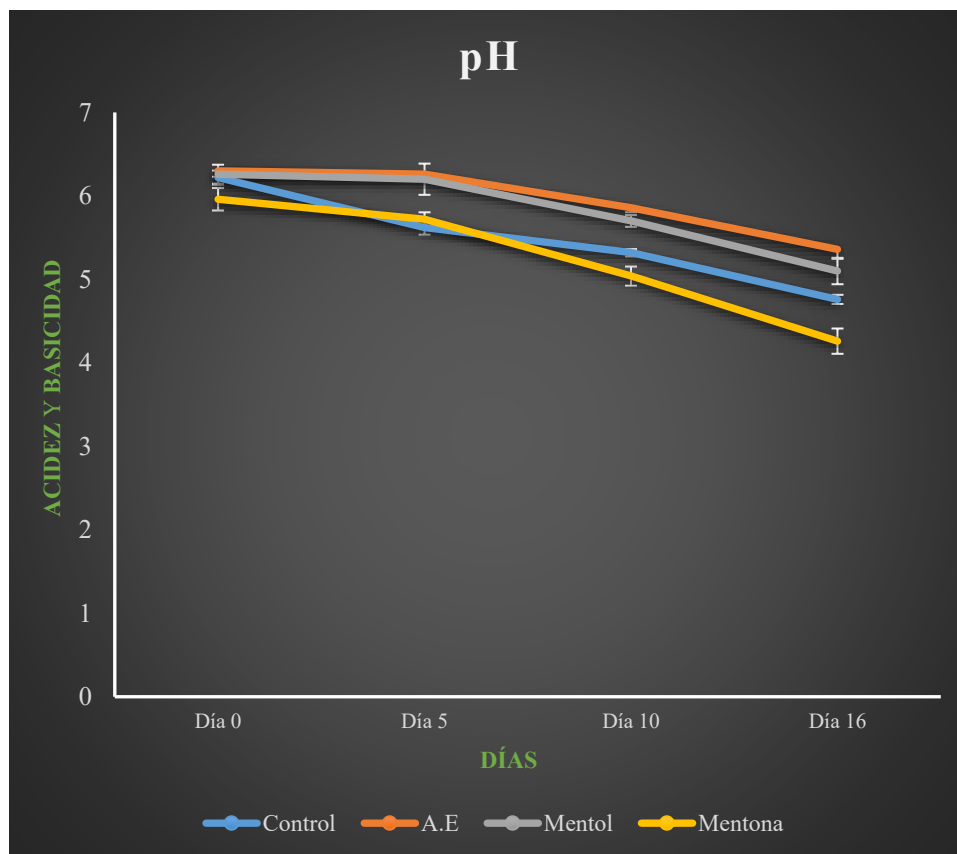


Figura 79. Cinética para la concentración de pH en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 34. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la variable ph. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	6,22 ± 0,08 ^a	5,62 ± 0,08 ^b	5,32 ± 0,04 ^c	4,76 ± 0,05 ^d
A.E	6,30 ± 0,07 ^a	6,26 ± 0,05 ^a	5,86 ± 0,05 ^b	5,36 ± 0,11 ^c
Mentol	6,26 ± 0,11 ^a	6,2 ± 0,19 ^a	5,7 ± 0,07 ^b	5,1 ± 0,16 ^c
Mentona	5,96 ± 0,13 ^a	5,72 ± 0,08 ^b	5,04 ± 0,11 ^c	4,26 ± 0,15 ^d

El factor firmeza obtuvo resultados que indicaban la caída de esta, de la misma forma en que se pudo observar en las fotos relacionadas a todos los tratamientos hechos con los chiles manzanos inoculados con el fitopatógeno. La caída fue tan

severa que todos los tratamientos presentaron diferencias estadísticamente significativas (**Figura 80**), (**Tabla 35**).

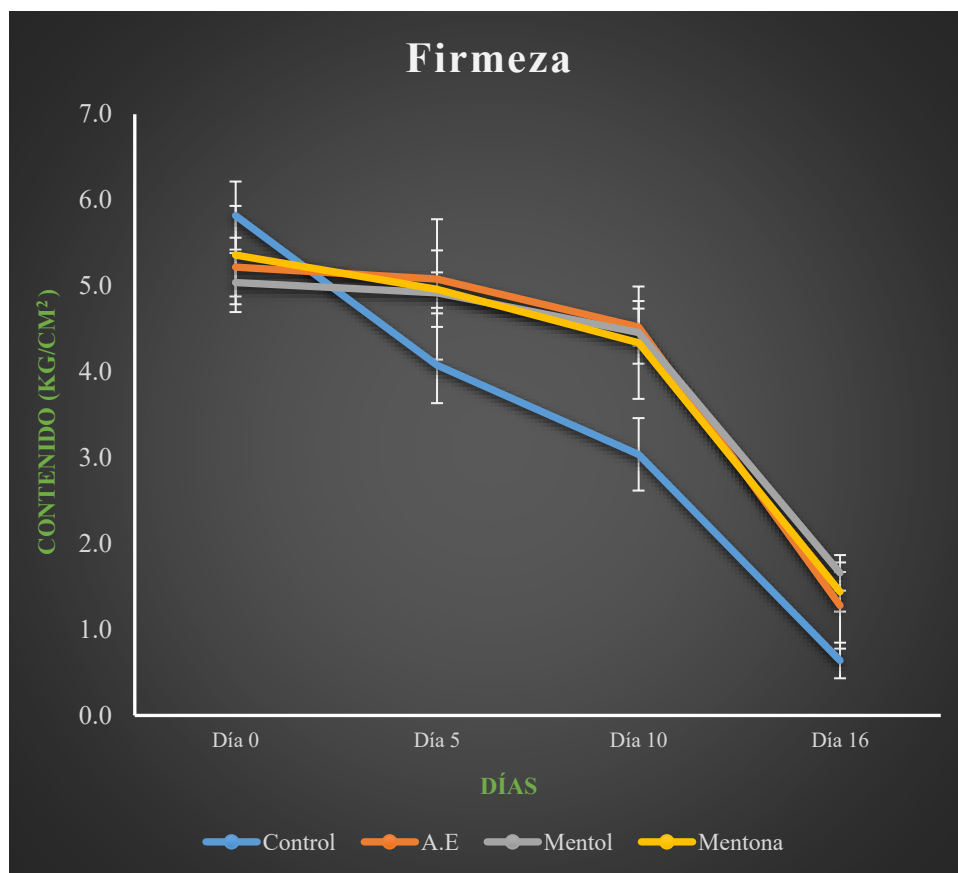


Figura 80. Cinética para la concentración de Firmeza en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 35. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la variable firmeza. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	5,8 ± 0,40 ^a	4,1 ± 0,44 ^b	3,0 ± 0,42 ^c	0,6 ± 0,21 ^d
A.E	5,2 ± 0,34 ^a	5,1 ± 0,33 ^{ab}	4,5 ± 0,22 ^b	1,3 ± 0,50 ^c
Mentol	5,0 ± 0,34 ^a	4,9 ± 0,24 ^{ab}	4,5 ± 0,36 ^b	1,7 ± 0,21 ^c
Mentona	5,4 ± 0,57 ^a	5,0 ± 0,82 ^a	4,3 ± 0,65 ^a	1,4 ± 0,23 ^b

El ácido ascórbico o vitamina C mostro una consistencia notable dentro de los tratamientos hechos con el AE y el mentol, ya que, si bien la tendencia supuso una disminución en los niveles de este carotenoide, también se pudo notar una menor cantidad de diferencias significativas a medida que bajaban los niveles, conservando la cantidad de ácido ascórbico de mejor forma que la mentona (Figura 81), (Tabla 36).

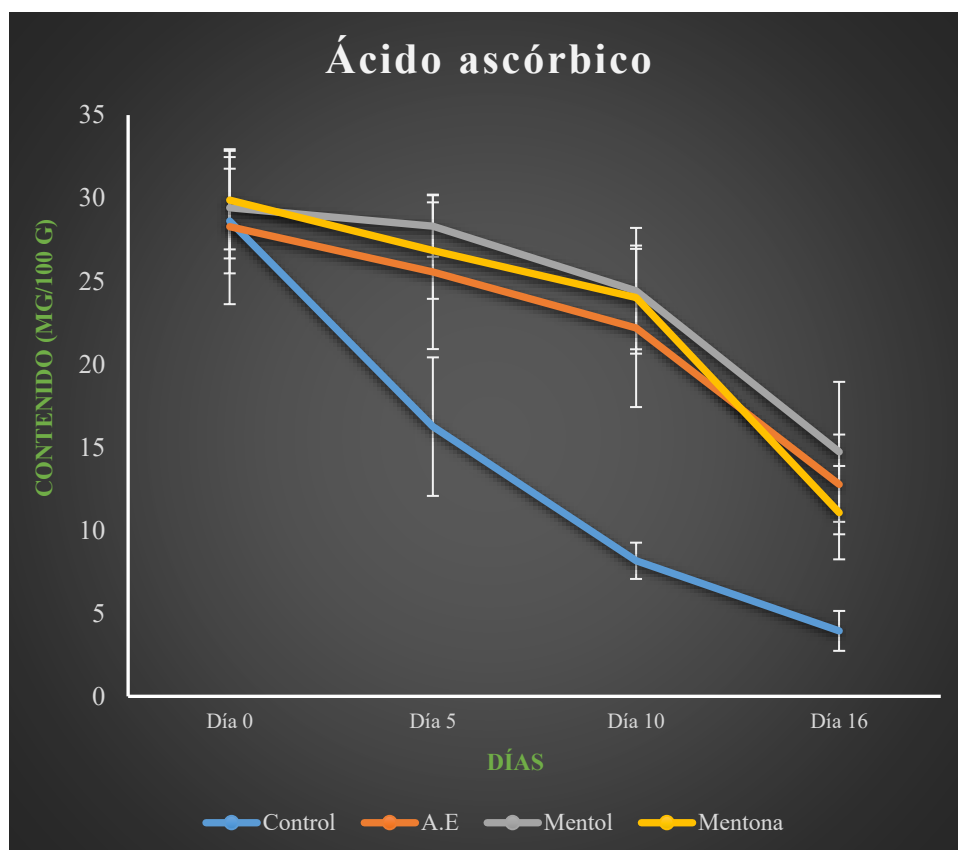


Figura 81. Cinética para la concentración de Ácido ascórbico en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 36. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la variable ácido ascórbico. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	28,6 ± 3,15 ^a	16,2 ± 4,17 ^b	8,2 ± 1,09 ^{cd}	3,9 ± 1,20 ^d
A.E	28,3 ± 4,67 ^a	25,6 ± 4,65 ^a	22,2 ± 4,76 ^a	12,8 ± 3,00 ^b
Mentol	29,4 ± 3,05 ^a	28,3 ± 1,85 ^a	24,4 ± 3,79 ^a	14,7 ± 4,22 ^b
Mentona	29,9 ± 2,97 ^a	26,8 ± 2,90 ^{ab}	24,0 ± 3,12 ^b	11,1 ± 2,81 ^c

El nivel de capsaicinoides fue cuantificado de igual forma y se encontró representado en capsaicina y dihidrocapsaicina. Teniendo comportamientos bastante parecidos, se pudo observar un aumento de la capsaicina en el grupo control y el tratamiento mentol. Estos niveles cayeron después del día 5 (de forma más clara en el grupo control). Mientras que los tratamientos hechos con el AE y la mentona conservaron durante un mayor tiempo la cantidad de capsaicina en niveles estables, ya que después del día 10 los niveles empezaron a disminuir (**Figura 82**), (**Tabla 37**).

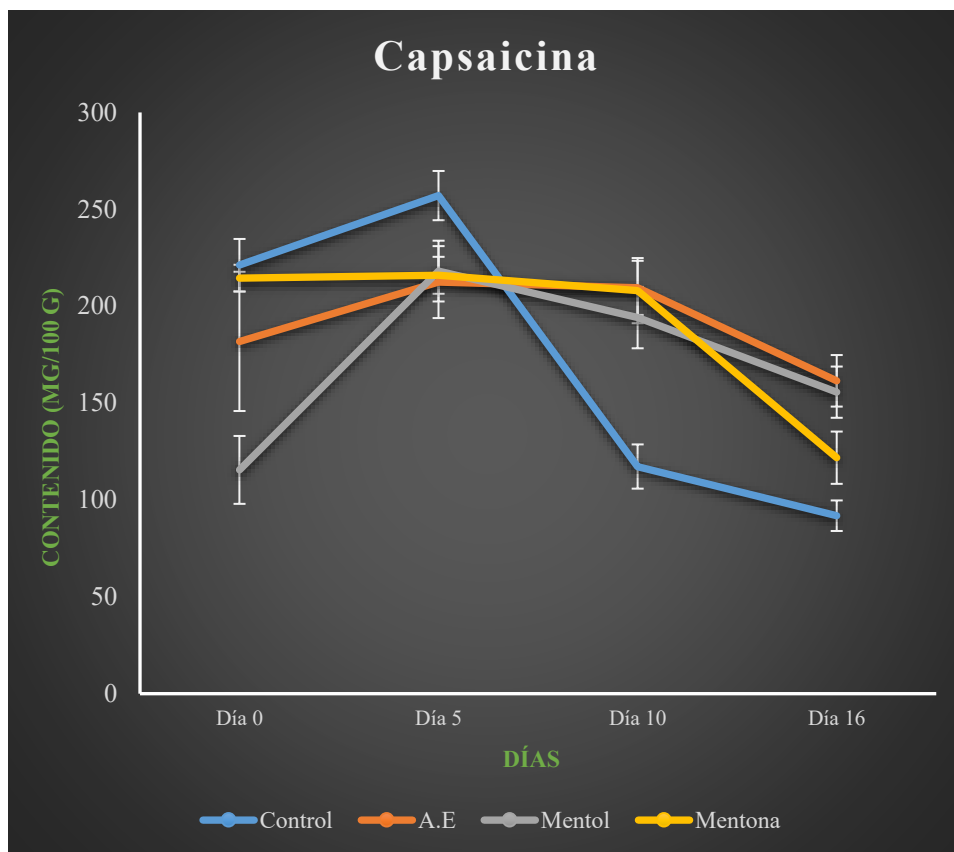


Figura 82. Cinética para la concentración de capsaicina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 37. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la a la oleorresina capsaicina. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	2216 ± 13,53 ^a	2576 ± 12,70 ^b	1176 ± 11,41 ^c	926 ± 7,88 ^d
A.E.	1826 ± 35,94 ^a	2126 ± 18,57 ^{ab}	2096 ± 13,97 ^{ab}	1616 ± 13,30 ^{ac}
Mentol	1166 ± 17,52 ^a	2186 ± 15,69 ^{bc}	1946 ± 15,85 ^c	1566 ± 13,23 ^d
Mentona	2146 ± 6,91 ^a	2166 ± 9,52 ^a	2086 ± 16,82 ^a	1226 ± 13,49 ^b

Estos resultados son importantes ya que revelaron información importante con respecto al mecanismo de defensa vinculado a los chiles, ya que la capsaicina y la dihidrocapsaicina son compuestos conocidos especialmente por su actividad antimicrobiana, lo cual podría explicar el aumento tan repentino de estos

compuestos fenólicos. No solo el grupo control mostro esta tendencia ya que en el gráfico de capsaicina para el tratamiento mentol tuvo este comportamiento, mientras que en el gráfico de dihidrocapsaicina todos los tratamientos mostraron una elevación moderada de este compuesto. Lo último podría deberse a la acción antifúngica del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles, los cuales podrían haber disminuido la respuesta antimicrobiana de los capsaicinoides (**Figura 83**), (**Tabla 38**).

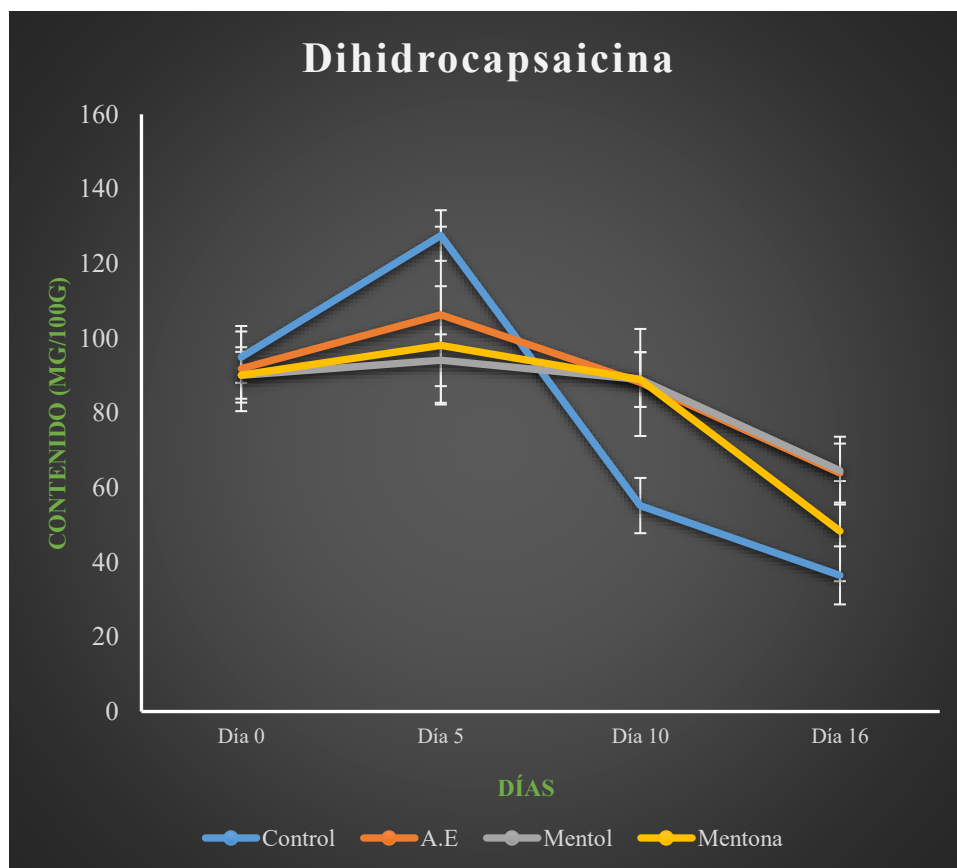


Figura 83. Cinética para la concentración de Dihidrocapsaicina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 38. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la a la oleorresina dihidrocapsaicina. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	94,9 ± 6,88 ^a	127,5 ± 6,79 ^b	55,2 ± 7,40 ^c	36,5 ± 7,78 ^d
A.E	91,9 ± 11,41 ^a	106,3 ± 23,59 ^a	88,2 ± 14,34 ^{ab}	63,9 ± 7,90 ^b
Mentol	90,1 ± 6,27 ^a	94,1 ± 6,94 ^a	88,9 ± 7,33 ^a	64,5 ± 9,09 ^b
Mentona	90,2 ± 7,42 ^a	98,1 ± 15,85 ^a	88,9 ± 7,33 ^a	48,3 ± 13,42 ^b

7.13.2 *Zanthoxylum limoncello* vs *Fusarium temperatum*

El AE de *Zanthoxylum limoncello*, tuvo resultados notables al ser asperjado en frutos de chile manzano infectados con conidios de *Fusarium temperatum*. El grupo control presento síntomas al llegar el día 7 (después de la inoculación), mientras que el tratamiento que tuvo al AE de *Zanthoxylum limoncello* actuando sobre los frutos, mostro síntomas severos al llegar el día 10, teniendo una gran capacidad inhibitoria, al retrasar la aparición de biomasa fúngica y el deterioro de la firmeza en los chiles (**Figura 84**).

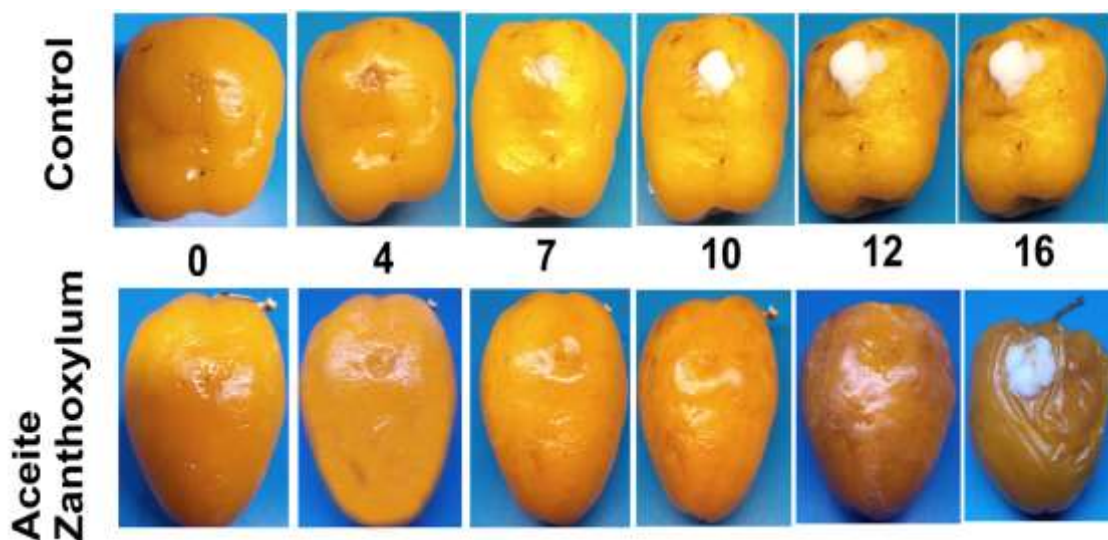


Figura 84. Cinética comparativa de chile manzano inoculado con *Fusarium temperatum* (control) y de chile manzano inoculado con el mismo hongo bajo el efecto del aceite esencial.

El mejor resultado (en cuanto a inhibición antifúngica se refiere), se pudo apreciar en el tratamiento que fue asperjado con el volátil 2-dodecenal, ya que, la aparición de micelio se hizo presente alrededor del día 16, mientras que la pérdida de turgencia fue apenas notoria en los últimos 3 días del monitoreo (**Figura 85**).

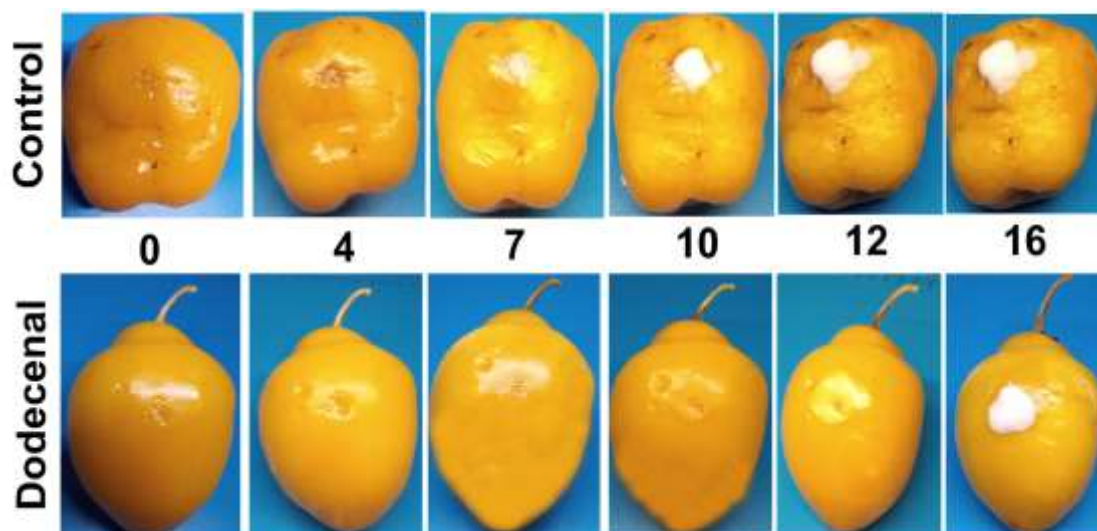


Figura 85. Cinética comparativa de chile manzano inoculado con *Fusarium temperatum* (control) y de chile manzano inoculado con el mismo hongo bajo el efecto del compuesto 2-Dodecenal.

El volátil 2-undecanona, a pesar de que no pudo evitar la pérdida de turgencia en los frutos y terminó actuando de la misma manera que el tratamiento control, sí pudo retrasar la aparición de micelio durante más de 10 días (**Figura 86**).

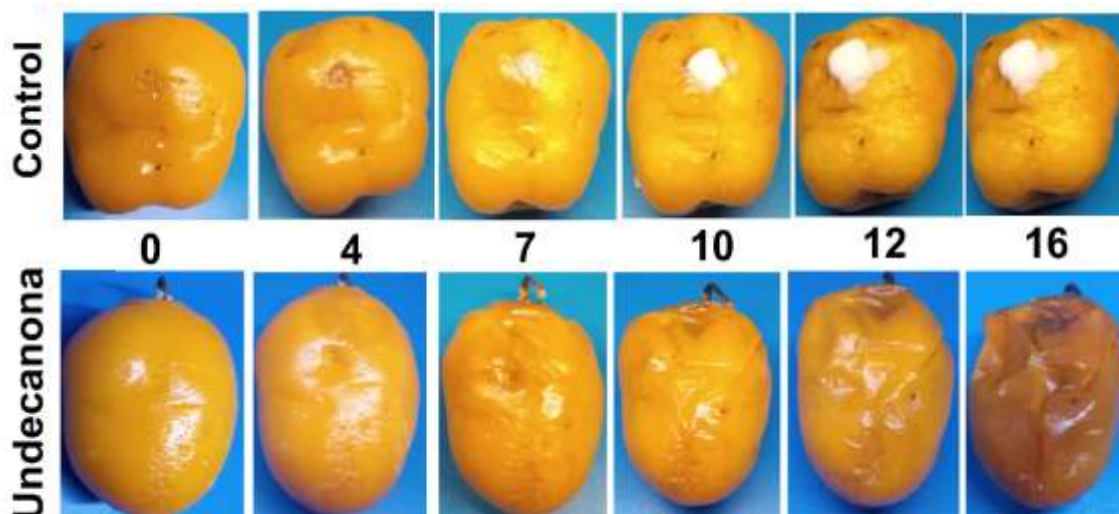


Figura 86. Cinética comparativa de chile manzano inoculado con *Fusarium temperatum* (control) y de chile manzano inoculado con el mismo hongo bajo el efecto del compuesto 2-Undecanona.

Por su parte, el volátil 2-undecenal, actuó de forma muy similar a los resultados mostrados por el tratamiento hecho con el AE de *Zanthoxylum limoncello*, al retrasar la aparición de síntomas más severos durante 10 días (**Figura 87**).

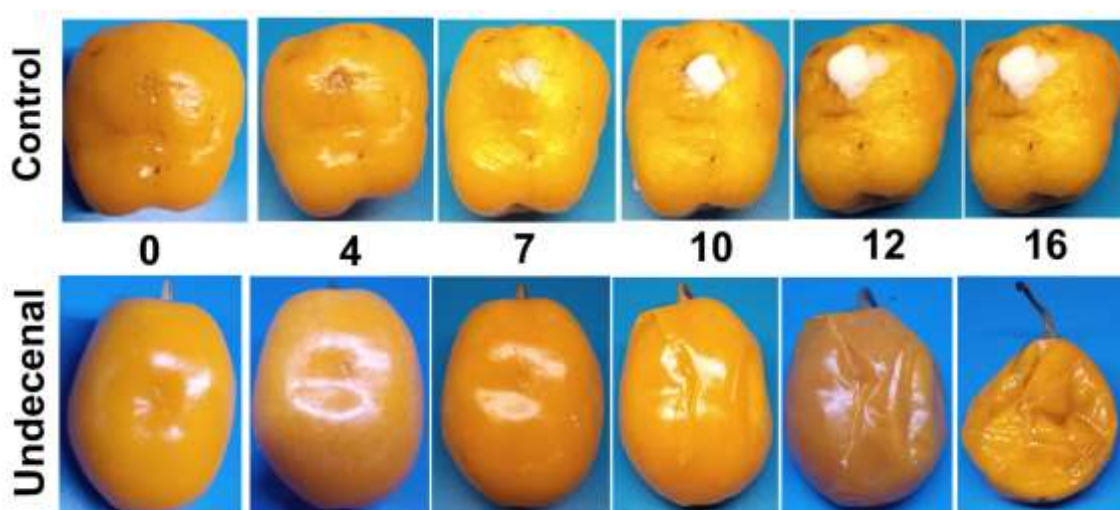


Figura 87. Cinética comparativa de chile manzano inoculado con *Fusarium temperatum* (control) y de chile manzano inoculado con el mismo hongo bajo el efecto del compuesto 2-Undecenal.

La **Figura 88** muestra las diferencias de entre los diferentes tratamientos probados para antagonizar al hongo *Fusarium temperatum*. Los resultados más sobresalientes se observaron en los tratamientos hechos con el volátil 2-undecenal y 2-dodecenal.

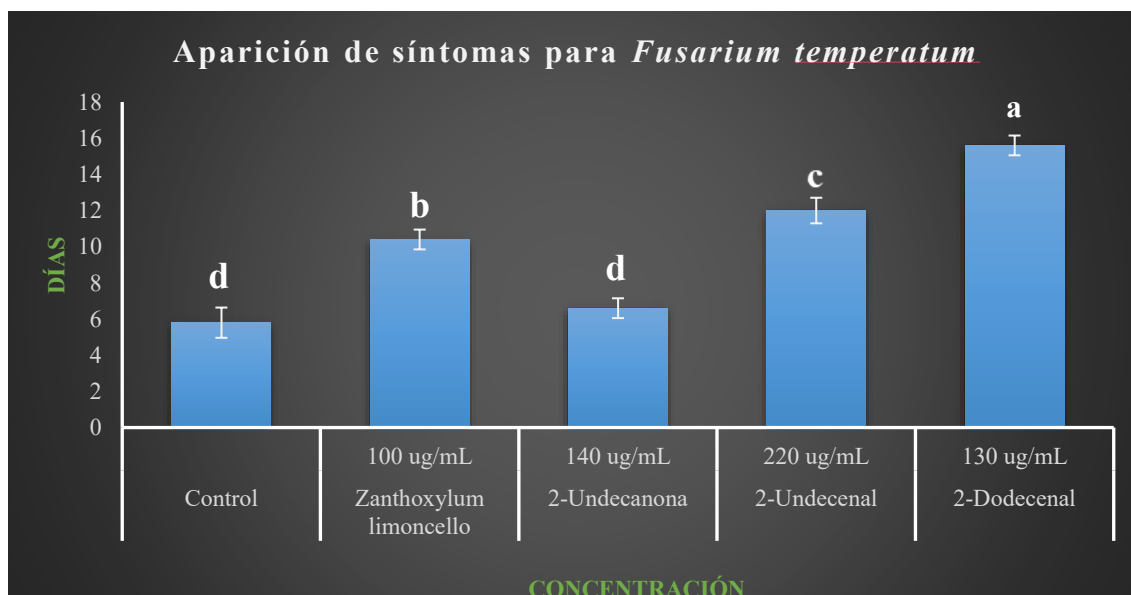


Figura 88. Cinética para la aparición y retraso de síntomas en chile manzano causados por el efecto de *Fusarium sambucinum* y el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

El hongo fitopatígeno *Fusarium temperatum* fue controlado con el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus tres compuestos volátiles más abundantes, 2-undecanona, 2-undecenal y 2-dodecenal.

Los tratamientos hechos con el AE de *Zanthoxylum limoncello* y con el volátil 2-dodecenal presentaron resultados que van en concordancia con los tratamientos *in vitro* del presente estudio, ya que, en la imágenes de microscopía hechas para observar el deterioro de la células fúngicas, se pudo apreciar que las esporas habían sido deterioradas casi por completo, a diferencia del resto de tratamientos, donde solo se pudo observar cómo los volátiles 2-undecanona y 2-undecenal afectaban el desarrollo de las células, ya sea alterando la formación del tubo germinal o dejando expuesto el contenido intracelular de la espora.

El factor humedad aumento hasta el 96% en el grupo control a causa de la presencia de *Fusarium temperatum*. Los volátiles 2-undecanona y 2-dodecenal, mostraron la capacidad de retrasar el aumento en los niveles de humedad. Mientras el AE y el compuesto 2-undecenal disminuyeron sus niveles de humedad hasta el día 10, exhibiendo una alta capacidad de estos agentes para inhibir al hongo fitopatígeno (**Figura 89**), (**Tabla 39**).

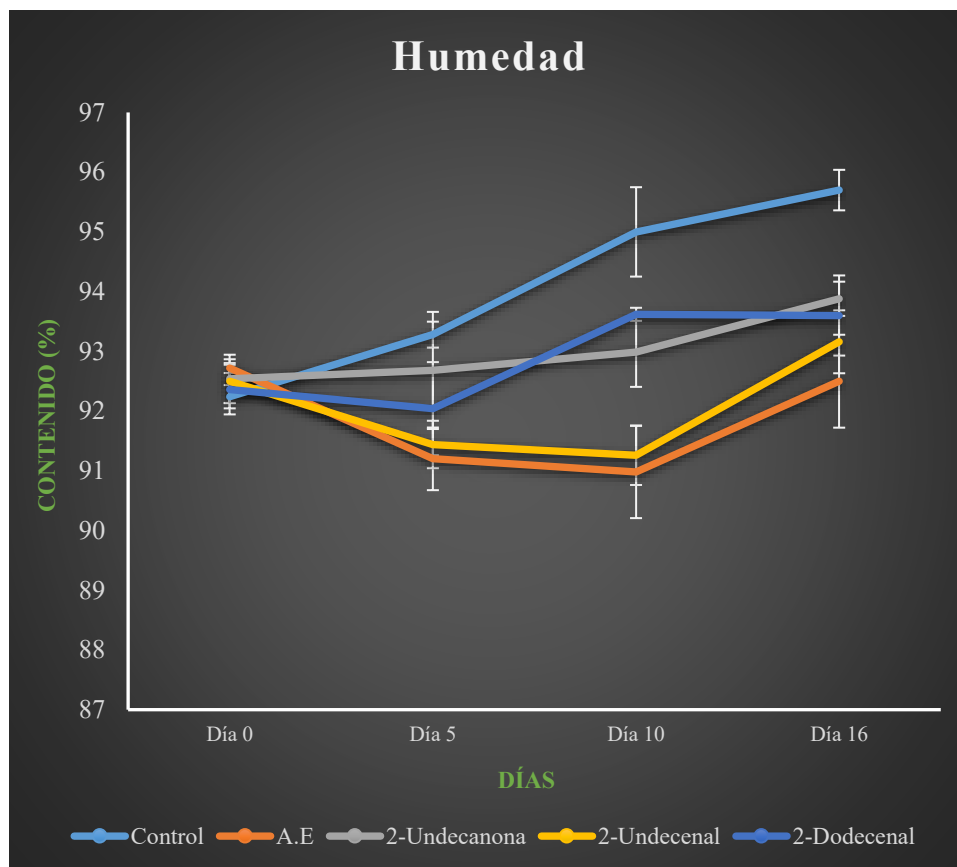


Figura 89. Cinética para la concentración de Humedad en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 39. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la a la variable humedad. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	92,2 ± 0,19 ^a	93,3 ± 0,22 ^b	95,0 ± 0,75 ^d	95,7 ± 0,34 ^d
A.E	92,7 ± 0,08 ^a	91,2 ± 0,52 ^b	91,0 ± 0,77 ^b	92,5 ± 0,78 ^a
2-Undecanona	92,5 ± 0,40 ^a	92,7 ± 0,98 ^a	93,0 ± 0,58 ^{ab}	93,9 ± 0,29 ^b
2-Undecenal	92,5 ± 0,37 ^a	91,4 ± 0,40 ^b	91,3 ± 0,50 ^b	93,2 ± 0,53 ^a
2-Dodecenal	92,4 ± 0,42 ^a	92,0 ± 0,78 ^a	93,6 ± 0,11 ^b	93,6 ± 0,67 ^b

La **Figura 90** y **Tabla 40** exhiben el rendimiento del AE y el volátil 2-undecenal, los cuales fueron capaces de mantener y elevar el porcentaje de materia seca

hasta el día 10. Los volátiles 2-undecanona fluctuaron sobre los mismos niveles durante todo el monitoreo sin dejar decaer los niveles de materia seca de la misma forma que lo hizo el grupo control.

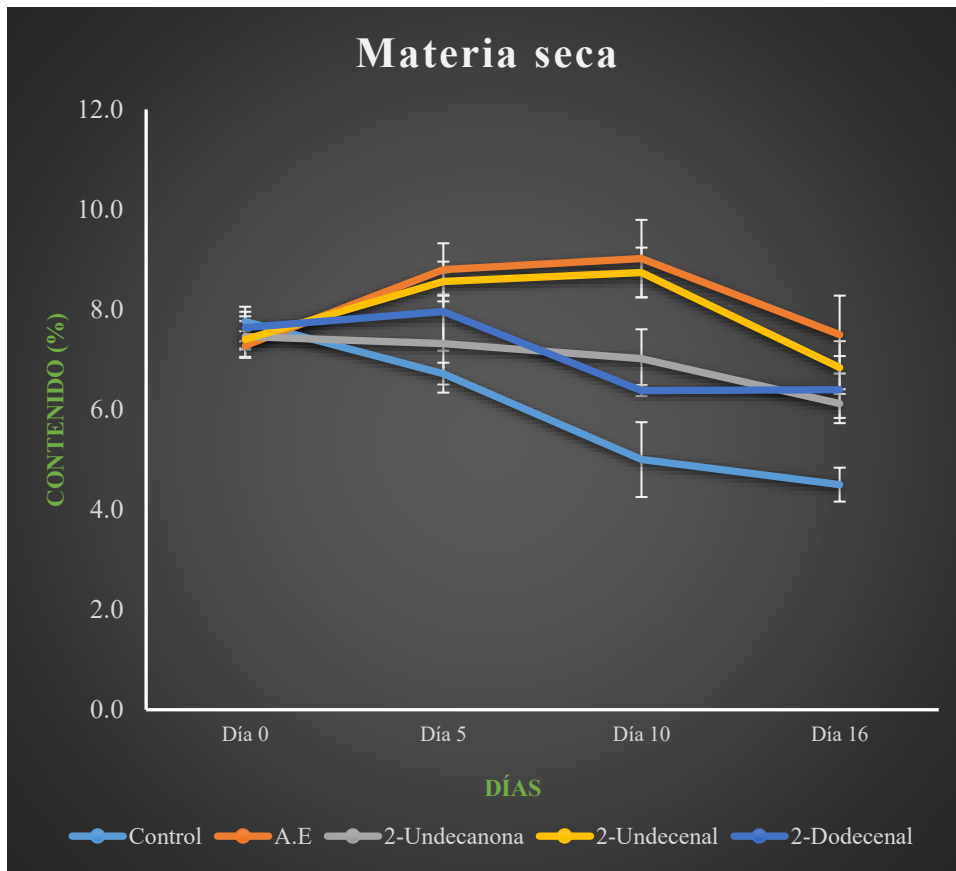


Figura 90. Cinética para la concentración de Materia seca en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 40. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la a la variable materia seca. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	7,8 ± 0,19 ^a	6,7 ± 0,22 ^b	5,0 ± 0,75 ^c	4,5 ± 0,34 ^c
A.E	7,3 ± 0,08 ^a	8,8 ± 0,52 ^b	9,0 ± 0,77 ^b	7,5 ± 0,78 ^a
2-Undecanona	7,5 ± 0,40 ^a	7,3 ± 0,98 ^a	7,0 ± 0,58 ^{ab}	6,1 ± 0,29 ^b
2-Undecenal	7,4 ± 0,37 ^a	8,6 ± 0,40 ^b	8,7 ± 0,50 ^b	6,8 ± 0,53 ^a
2-Dodecenal	7,6 ± 0,42 ^a	8,0 ± 0,78 ^a	6,4 ± 0,11 ^b	6,4 ± 0,67 ^b

La grasa cruda (**Figura 91**), (**Tabla 41**), fue conservada de forma estable hasta el día 10 por todos los tratamientos utilizados. Posteriormente, empezaron a decaer sin alcanzar los niveles más bajos del grupo control.

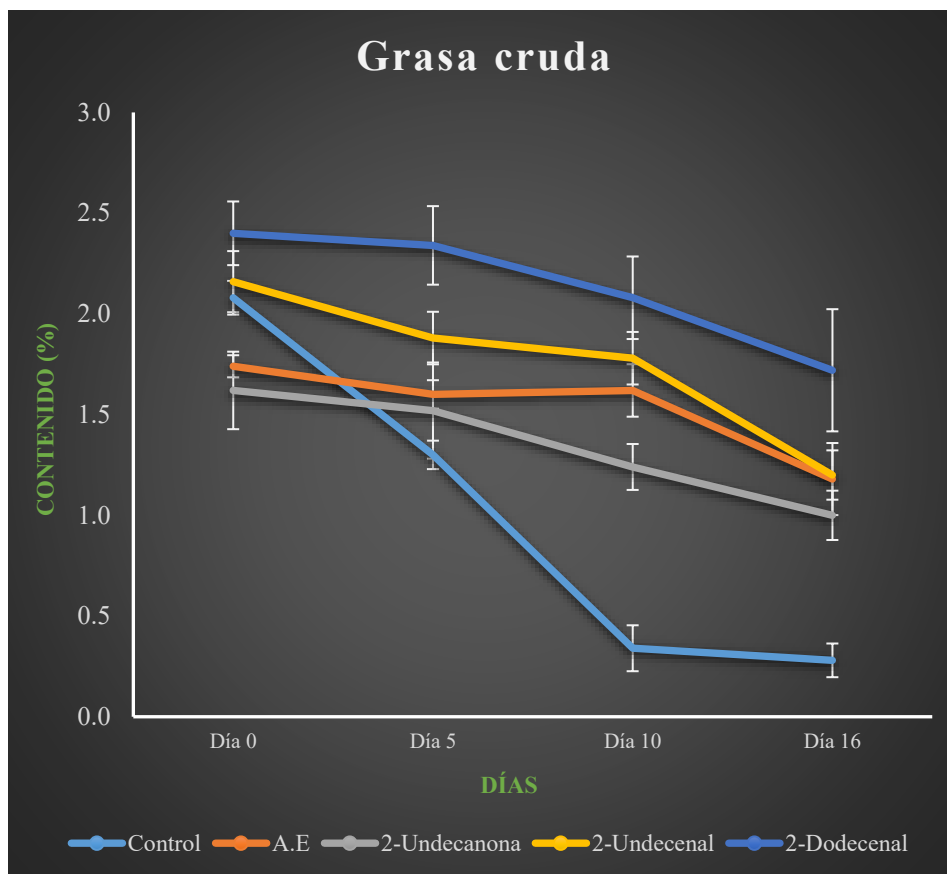


Figura 91. Cinética para la concentración de Grasa cruda en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 41. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la a la variable grasa cruda. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	2,1 ± 0,08 ^a	1,3 ± 0,07 ^b	0,3 ± 0,11 ^c	0,3 ± 0,08 ^c
A.E	1,7 ± 0,05 ^a	1,6 ± 0,07 ^a	1,6 ± 0,13 ^a	1,2 ± 0,18 ^b
2-Undecanona	1,6 ± 0,19 ^a	1,5 ± 0,24 ^{ab}	1,2 ± 0,11 ^{bc}	1,0 ± 0,12 ^c
2-Undecenal	2,2 ± 0,15 ^a	1,9 ± 0,13 ^{bc}	1,8 ± 0,13 ^c	1,2 ± 0,12 ^d
2-Dodecenal	2,4 ± 0,16 ^a	2,3 ± 0,19 ^a	2,1 ± 0,20 ^{ab}	1,7 ± 0,30 ^b

En cuanto al factor proteína cruda (**Figura 92**), (**Tabla 42**), se pudo observar que los tratamientos hechos con 2-undecenal, 2-undecanona y 2-dodecenal conservaron en niveles estables este factor hasta el día 5, ya que la disminución en los niveles se volvió notoria después de este día. No obstante, el tratamiento hecho con el AE conservo los niveles hasta el día 10 para después empezar con el lapso de inhibición.

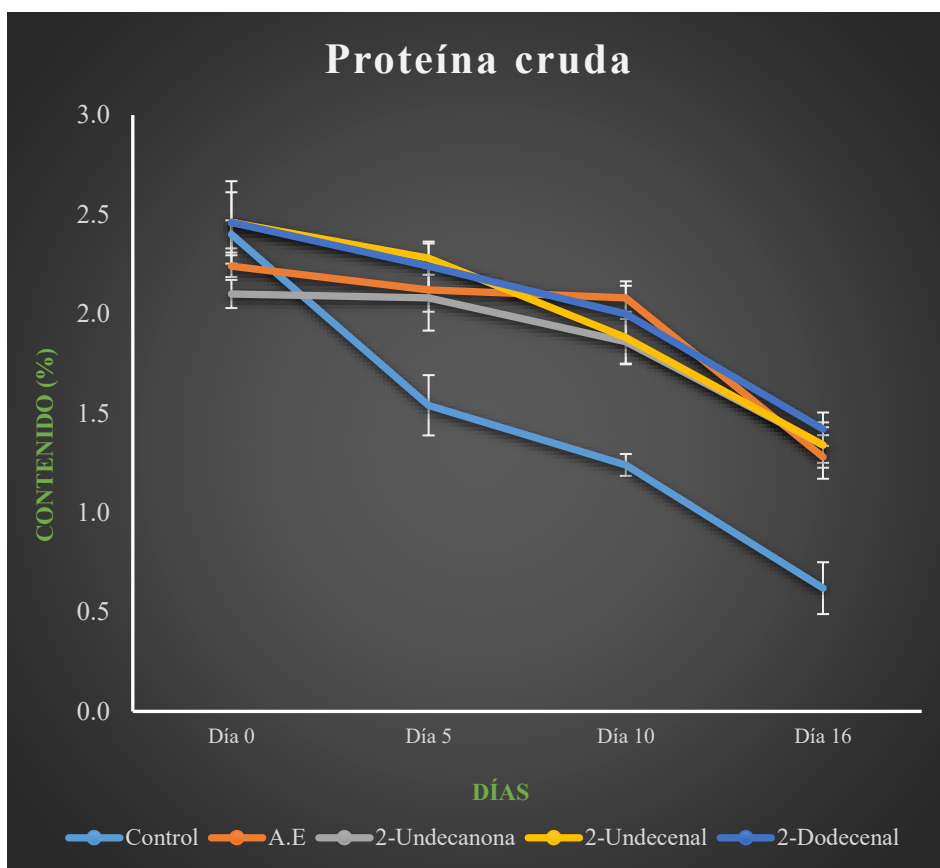


Figura 92. Cinética para la concentración de Proteína cruda en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 42. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la variable proteína cruda. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	2,4 ± 0,07 ^a	1,5 ± 0,15 ^b	1,2 ± 0,05 ^c	0,6 ± 0,13 ^d
A.E	2,2 ± 0,05 ^a	2,1 ± 0,11 ^a	2,1 ± 0,08 ^a	1,3 ± 0,11 ^b
2-Undecanone	2,1 ± 0,07 ^a	2,1 ± 0,16 ^a	1,9 ± 0,11 ^b	1,3 ± 0,11 ^c
2-Undecenal	2,5 ± 0,21 ^a	2,3 ± 0,08 ^a	1,9 ± 0,13 ^b	1,3 ± 0,09 ^c
2-Dodecenal	2,5 ± 0,15 ^a	2,2 ± 0,11 ^a	2,0 ± 0,14 ^b	1,4 ± 0,08 ^c

El compuesto 2-dodecenal presento un comportamiento anormal al interactuar con el factor fibra cruda, ya que tuvo un repentino aumento de este factor después del día 5, sin embargo, los niveles cayeron después del día 10. En el resto de los tratamientos, los datos indicaron una tendencia a disminuir sus porcentajes, aunque solo el tratamiento hecho con el AE pudo aumentar (levemente) este factor después del día 10 (**Figura 93**), (**Tabla 43**).

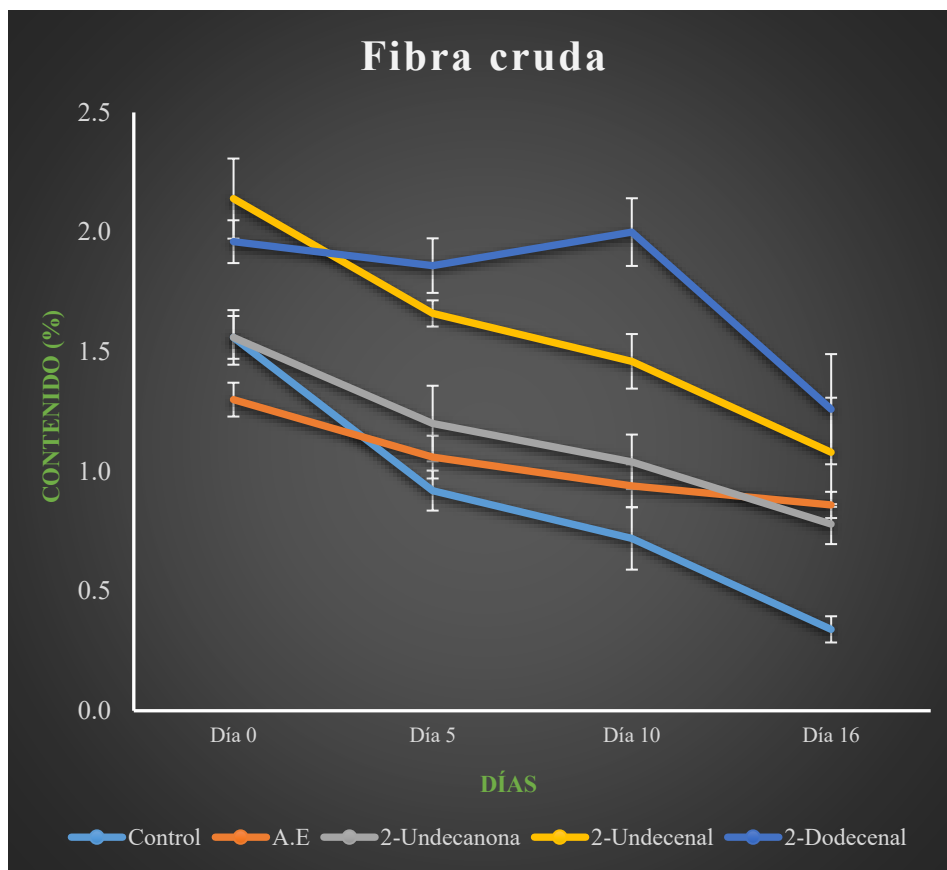


Figura 93. Cinética para la concentración de Fibra Cruda en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 43. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la a la variable fibra cruda. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	1,6 ± 0,09 ^a	0,9 ± 0,08 ^b	0,7 ± 0,13 ^c	0,3 ± 0,05 ^d
A.E	1,3 ± 0,07 ^a	1,1 ± 0,09 ^{bc}	0,9 ± 0,09 ^{cd}	0,9 ± 0,05 ^d
2-Undecanona	1,6 ± 0,11 ^a	1,2 ± 0,16 ^b	1,0 ± 0,11 ^b	0,8 ± 0,08 ^c
2-Undecenal	2,1 ± 0,17 ^a	1,7 ± 0,05 ^b	1,5 ± 0,11 ^b	1,1 ± 0,23 ^c
2-Dodecenal	2,0 ± 0,09 ^a	1,9 ± 0,11 ^a	2,0 ± 0,14 ^b	1,3 ± 0,23 ^b

La **Figura 94** y la **Tabla 44** muestran cómo fue la disminución de la ceniza como tendencia para todos los tratamientos. Sin embargo, las diferencias

estadísticamente significativas indicaron la capacidad del AE de *Z. limoncello*, para conservar el porcentaje estable hasta el día 5. Después aumentaron hasta que llegó el día 10, cuando se pudo observar como la cantidad de ceniza cayó notoriamente. Lo último indica una actividad antifúngica eficiente por parte del AE, pues el consumo de este factor por el fitopatógeno no mostró aumentos significativos durante 10 días.

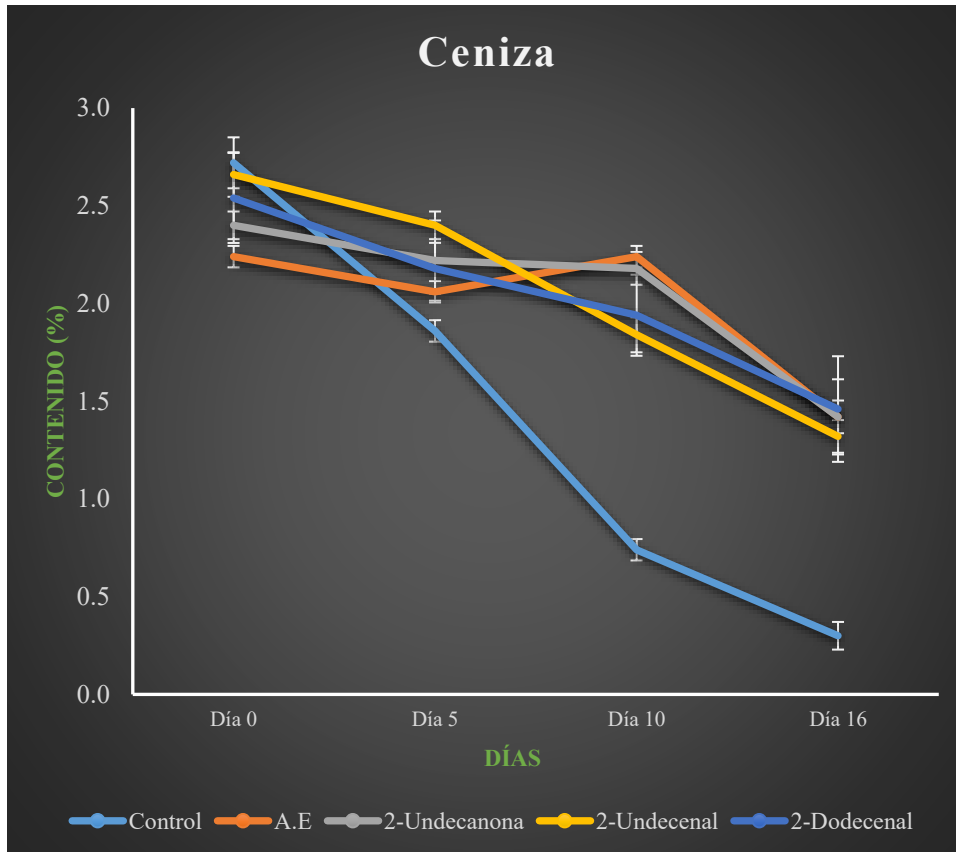


Figura 94. Cinética para la concentración de Ceniza en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 44. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la a la variable ceniza. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	2,7 ± 0,13 ^a	1,9 ± 0,05 ^b	0,7 ± 0,05 ^c	0,3 ± 0,07 ^d
A.E	2,2 ± 0,05 ^a	2,1 ± 0,05 ^b	2,2 ± 0,05 ^a	1,4 ± 0,08 ^c
2-Undecanona	2,4 ± 0,07 ^a	2,2 ± 0,20 ^a	2,2 ± 0,08 ^a	1,4 ± 0,19 ^b
2-Undecenal	2,7 ± 0,11 ^a	2,4 ± 0,07 ^b	1,8 ± 0,09 ^c	1,3 ± 0,08 ^d
2-Dodecenal	2,5 ± 0,23 ^a	2,2 ± 0,13 ^{ab}	1,9 ± 0,21 ^b	1,5 ± 0,27 ^c

El extracto libre de nitrógeno (ELN) tuvo varios resultados dispares, como el tratamiento hecho con 2-dodecenal, el cual disminuyo rápidamente la cantidad del ELN, pero conservo los niveles estables hasta el día 10. El 2-undecenal siempre tendió a la disminución constante al igual que el compuesto 2-undecanona mostro la caída retrasada del ELN en comparación con el grupo control. El ELN del tratamiento con el AE decayó los primeros 5 días. Después, aumento nuevamente este factor hasta el día 10 (**Figura 95**), (**Tabla 45**).

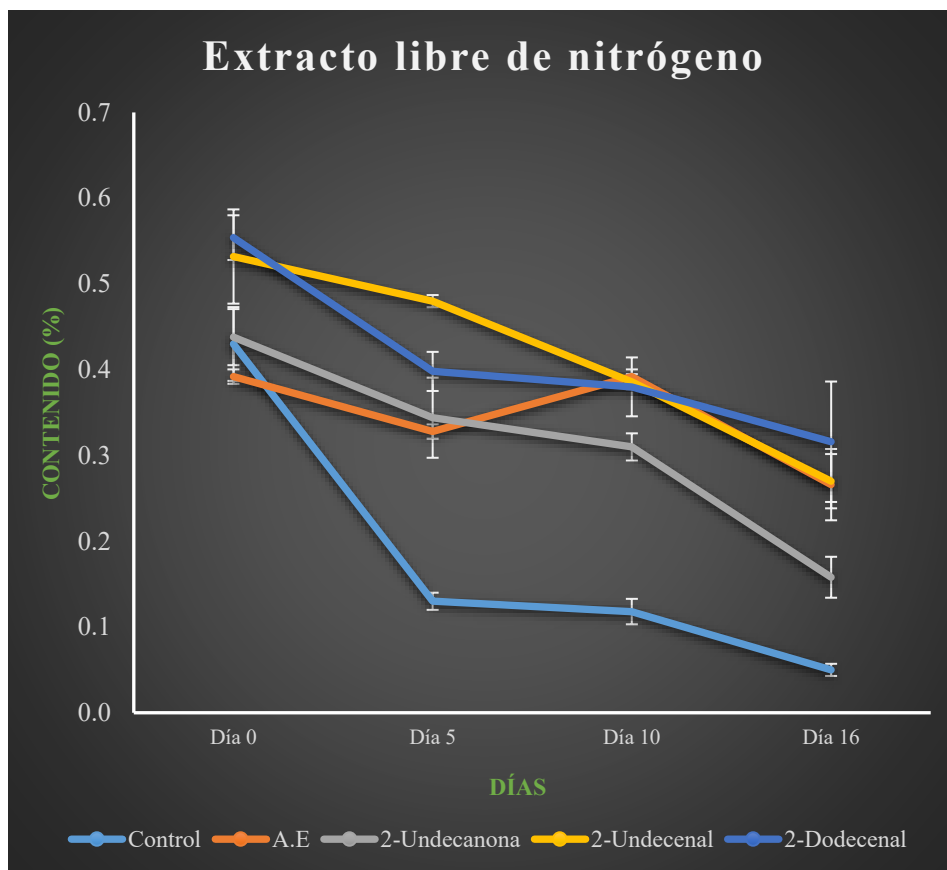


Figura 95. Cinética para la concentración de Extracto libre de nitrógeno en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 45. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la a la variable extracto libre de nitrógeno. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	0,4 ± 0,04 ^a	0,1 ± 0,01 ^b	0,1 ± 0,01 ^b	0,1 ± 0,01 ^c
A.E	0,4 ± 0,01 ^a	0,3 ± 0,01 ^b	0,4 ± 0,01 ^a	0,3 ± 0,04 ^c
2-Undecanona	0,4 ± 0,03 ^a	0,3 ± 0,05 ^b	0,3 ± 0,02 ^b	0,2 ± 0,02 ^c
2-Undecenal	0,5 ± 0,05 ^a	0,5 ± 0,01 ^a	0,4 ± 0,01 ^b	0,3 ± 0,03 ^c
2-Dodecenal	0,6 ± 0,03 ^a	0,4 ± 0,02 ^b	0,4 ± 0,03 ^{bc}	0,3 ± 0,07 ^c

El caroteno violaxantina mostro resultados positivos, debido a que conservo los niveles durante 10 días en todos los tratamientos elaborados con el aceite esencial y los volátiles más abundantes, como se puede ver en la **Figura 96** y la **Tabla 46**.

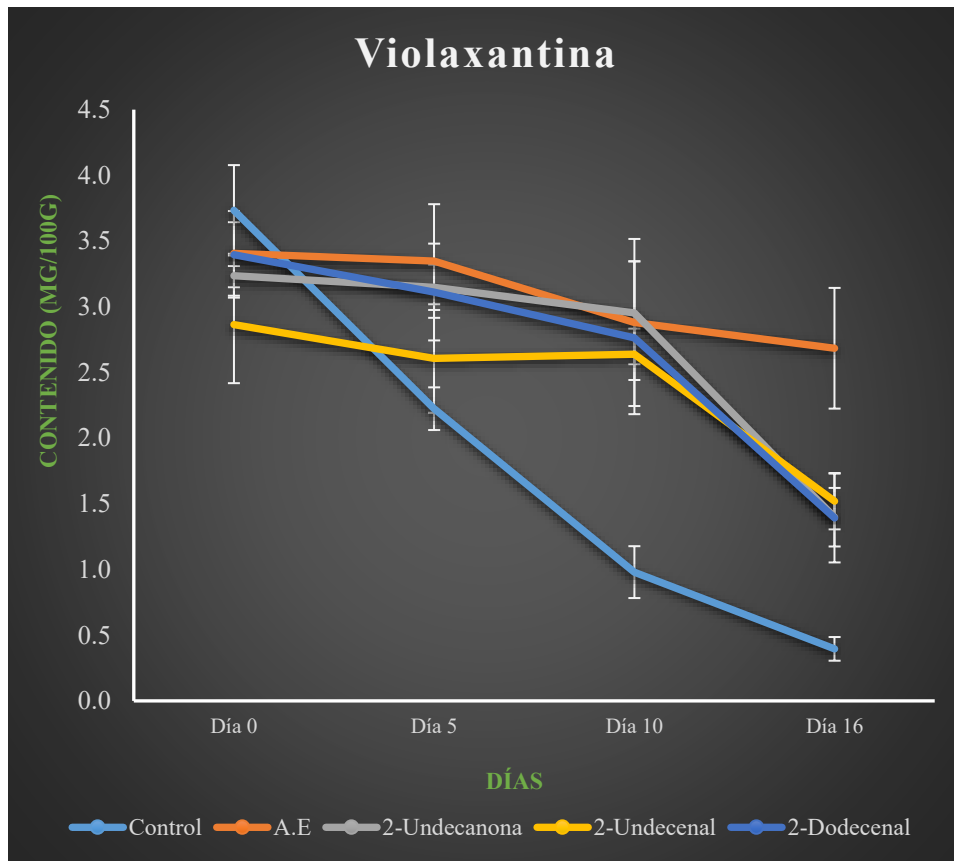


Figura 96. Cinética para la concentración de Violaxantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 46. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes al compuesto carotenoide violaxantina. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	92,2 ± 0,19 ^a	93,3 ± 0,22 ^b	95,0 ± 0,75 ^c	95,7 ± 0,34 ^d
A.E	92,7 ± 0,08 ^a	91,2 ± 0,52 ^a	91,0 ± 0,77 ^a	92,5 ± 0,78 ^a
2-Undecanona	92,5 ± 0,40 ^a	92,7 ± 0,98 ^a	93,0 ± 0,58 ^a	93,9 ± 0,29 ^b
2-Undecenal	92,5 ± 0,37 ^a	91,4 ± 0,40 ^a	91,3 ± 0,50 ^a	93,2 ± 0,53 ^b
2-Dodecenal	92,4 ± 0,42 ^a	92,0 ± 0,78 ^a	93,6 ± 0,11 ^a	93,6 ± 0,67 ^b

La cis-violaxantina (a diferencia de la violaxantina), conservo sus niveles de forma estable hasta llegar al día 5. Los niveles cayeron de forma dramática, como se puede observar en la **Figura 97** y **Tabla 47**.

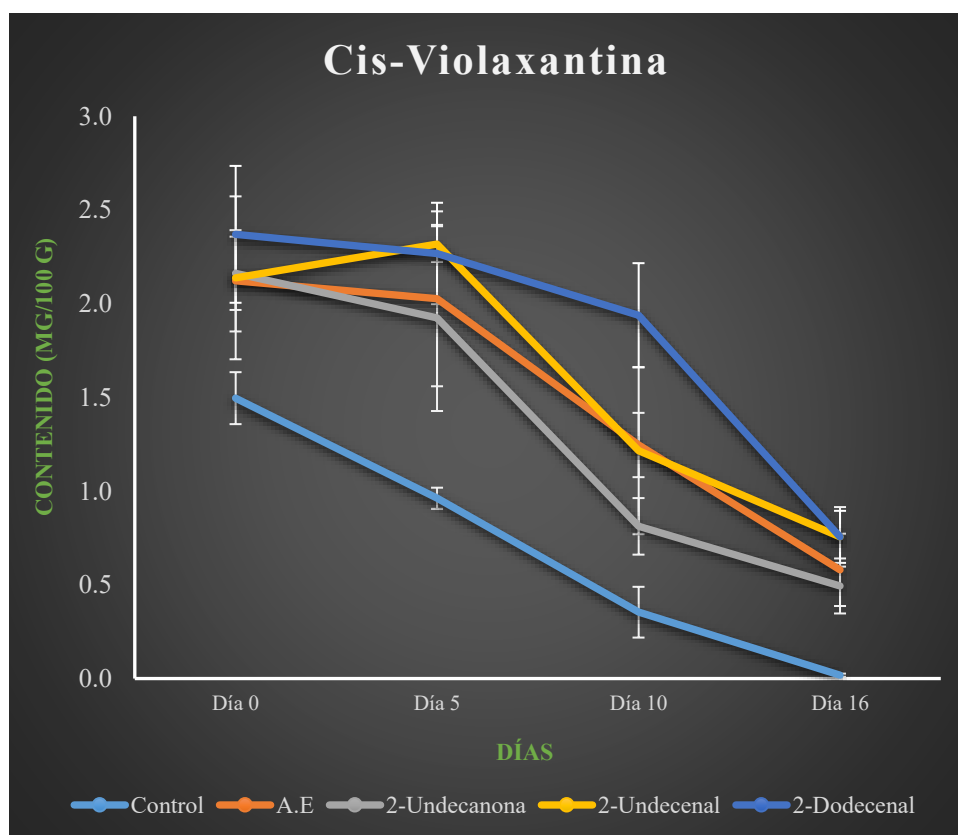


Figura 97. Cinética para la concentración de Cis-Violaxantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 47. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes al compuesto carotenoide cis-violaxantina. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	1,5 ± 0,14 ^a	1,0 ± 0,06 ^b	0,4 ± 0,14 ^c	0,0 ± 0,01 ^d
A.E	2,1 ± 0,27 ^a	2,0 ± 0,47 ^a	1,2 ± 0,17 ^b	0,6 ± 0,19 ^c
2-Undecanona	2,2 ± 0,20 ^a	1,9 ± 0,50 ^a	0,8 ± 0,15 ^b	0,5 ± 0,15 ^b
2-Undecenal	2,1 ± 0,43 ^a	2,3 ± 0,10 ^a	1,2 ± 0,45 ^b	0,8 ± 0,16 ^b
2-Dodecenal	2,4 ± 0,37 ^a	2,3 ± 0,27 ^a	1,9 ± 0,28 ^a	0,8 ± 0,14 ^b

El compuesto carotenoide anteraxantina mantuvo sus niveles de forma estable durante la mayor parte del monitoreo para el tratamiento hecho con el aceite esencial y el volátil 2-dodecenal. Mientras que, en el resto de los tratamientos la tendencia estadística indico caídas significativas después del día 5, como se puede observar en la **Figura 98** y **Tabla 48**.

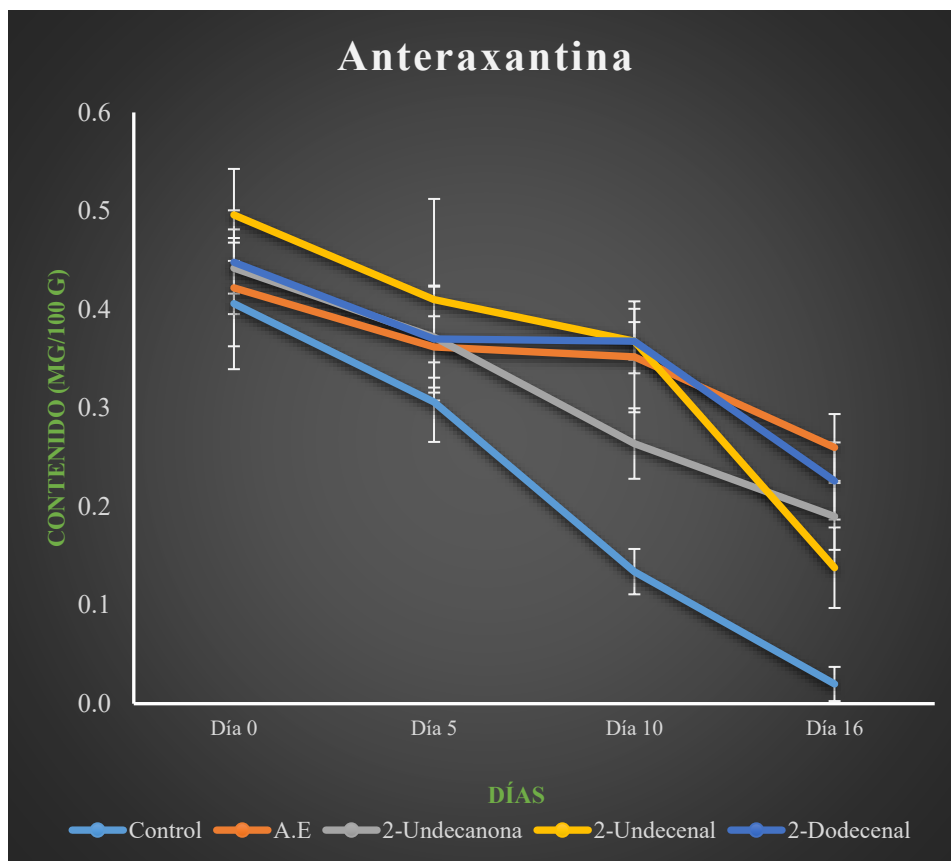


Figura 98. Cinética para la concentración de Anteraxantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 48. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes al compuesto carotenoide anteraxantina. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	0,4 ± 0,07 ^a	0,3 ± 0,04 ^b	0,1 ± 0,02 ^c	0,0 ± 0,02 ^d
A.E	0,4 ± 0,06 ^a	0,4 ± 0,03 ^a	0,4 ± 0,06 ^a	0,3 ± 0,03 ^b
2-Undecanona	0,4 ± 0,03 ^a	0,4 ± 0,05 ^b	0,3 ± 0,04 ^c	0,2 ± 0,03 ^d
2-Undecenal	0,5 ± 0,05 ^a	0,4 ± 0,10 ^{ab}	0,4 ± 0,02 ^b	0,1 ± 0,04 ^c
2-Dodecenal	0,4 ± 0,05 ^a	0,4 ± 0,05 ^a	0,4 ± 0,03 ^a	0,2 ± 0,04 ^b

En la **Figura 99** y la **Tabla 49** se muestra cómo es que el compuesto luteína se encontró en bajas cantidades, incluso sin haber empezado la interacción del

fitopatógono. No obstante, los tratamientos hechos con los volátiles 2-undecenal y 2-dodecenal mostraron una gran capacidad de mantener los niveles de este compuesto durante los 16 días que duro el monitoreo.

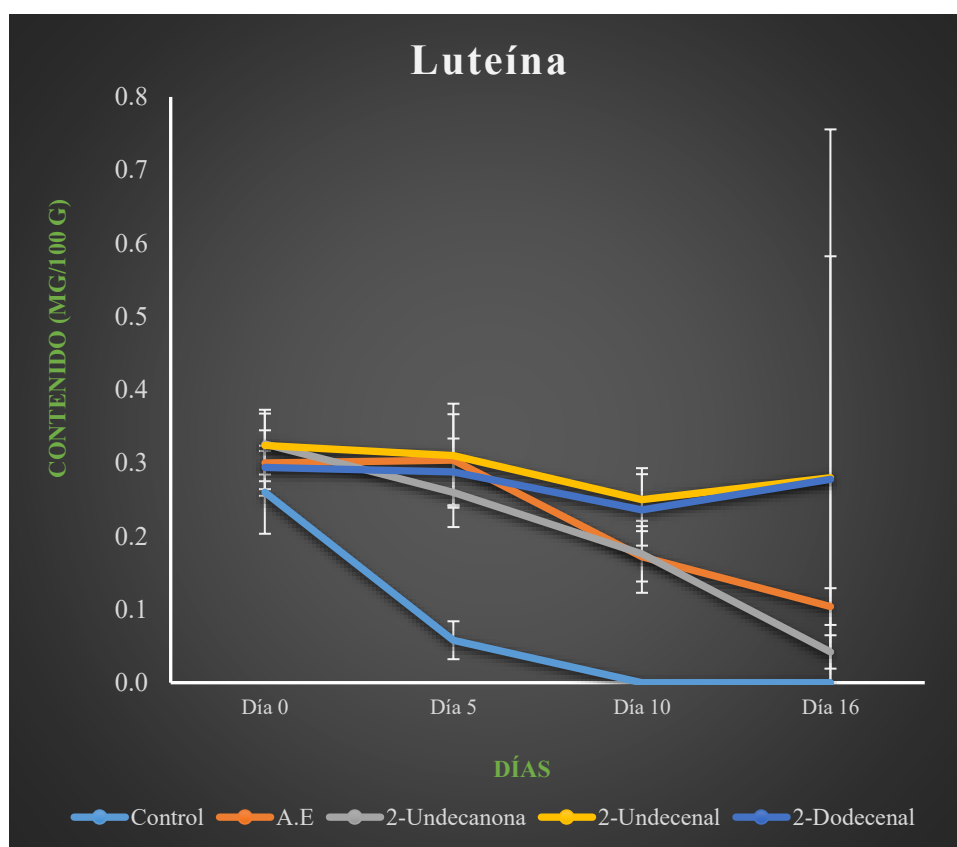


Figura 99. Cinética para la concentración de Luteína en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 49. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes al compuesto carotenoide luteína. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	0,3 ± 0,06 ^a	0,1 ± 0,03 ^b	0,0 ± 0,00 ^{cd}	0,0 ± 0,00 ^d
A.E.	0,3 ± 0,04 ^a	0,3 ± 0,0 ^{bcd}	0,2 ± 0,05 ^{cd}	0,1 ± 0,03 ^d
2-Undecanona	0,3 ± 0,04 ^a	0,3 ± 0,05 ^a	0,2 ± 0,04 ^b	0,0 ± 0,02 ^c
2-Undecenal	0,3 ± 0,05 ^a	0,3 ± 0,07 ^a	0,3 ± 0,04 ^a	0,3 ± 0,48 ^a
2-Dodecenal	0,3 ± 0,03 ^a	0,3 ± 0,05 ^a	0,2 ± 0,05 ^a	0,3 ± 0,30 ^a

La luteoxantina se conservó de mejor forma en los tratamientos hechos con los volátiles 2-undecanona y 2-undecenal durante todo el monitoreo, mientras que el tratamiento hecho con el aceite esencial, conservo los niveles de luteoxantina solamente hasta el día 10 como se puede observar en la **Figura 100** y **Tabla 50**.

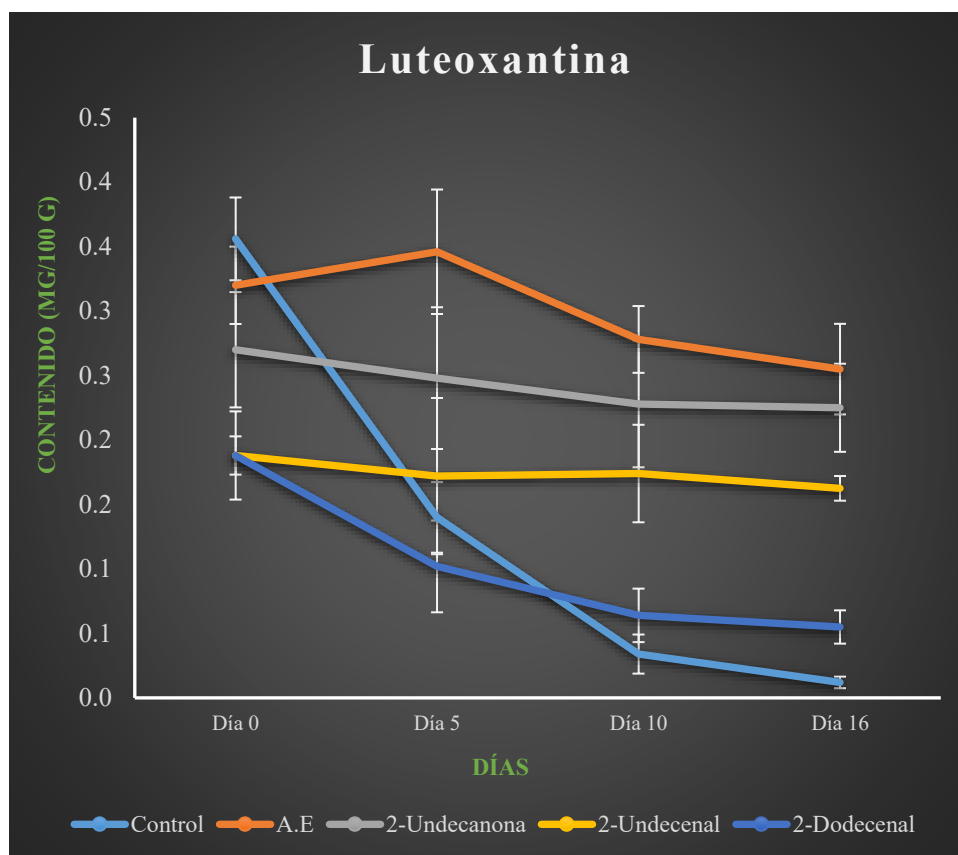


Figura 100. Cinética para la concentración de Luteoxantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 50. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes al compuesto carotenoide luteoxantina. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	0,4 ± 0,03 ^a	0,1 ± 0,03 ^b	0,0 ± 0,02 ^c	0,0 ± 0,00 ^c
A.E	0,3 ± 0,03 ^a	0,3 ± 0,05 ^a	0,3 ± 0,03 ^{ab}	0,3 ± 0,04 ^b
2-Undecanona	0,3 ± 0,04 ^a	0,2 ± 0,05 ^a	0,2 ± 0,05 ^a	0,2 ± 0,03 ^a
2-Undecenal	0,2 ± 0,03 ^a	0,2 ± 0,06 ^a	0,2 ± 0,04 ^a	0,2 ± 0,01 ^a
2-Dodecenal	0,2 ± 0,01 ^a	0,1 ± 0,04 ^b	0,1 ± 0,02 ^{cb}	0,1 ± 0,01 ^c

La **Figura 101** y **Tabla 51** indican la tendencia de la zexantina a disminuir en estadios muy tempranos del monitoreo, siendo los tratamientos hechos con 2-undecanona y 2-undecenal los únicos que fueron capaces de conservar los niveles estables, solamente durante 5 días.

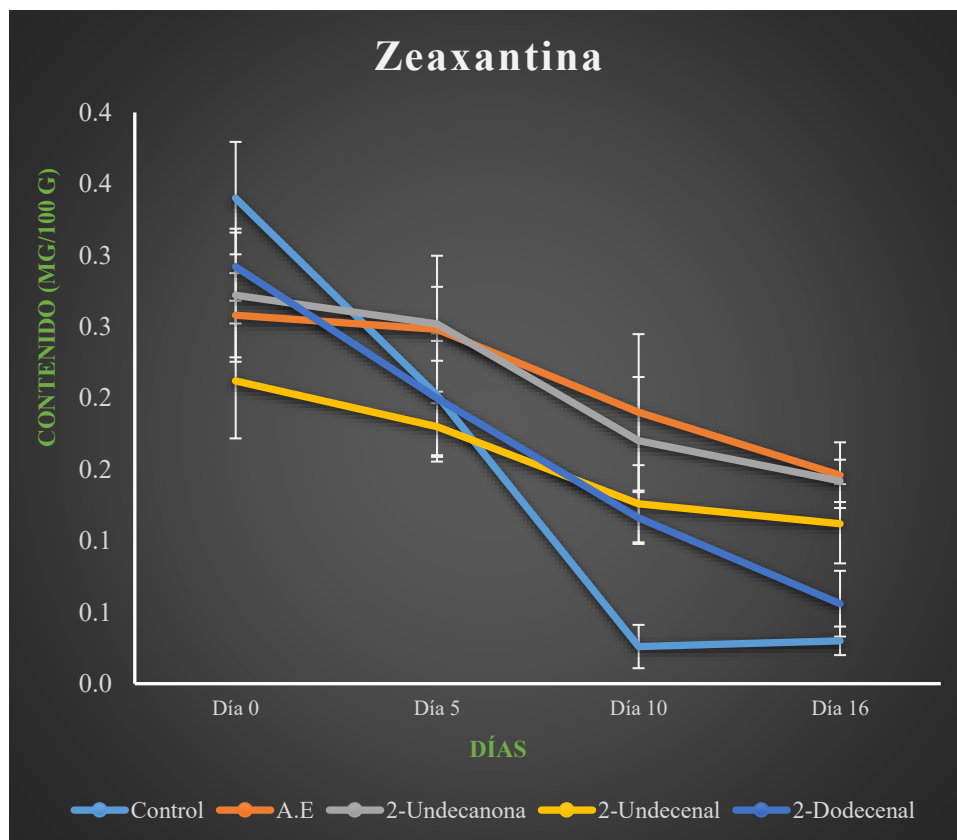


Figura 101. Cinética para la concentración de Zexantina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 51. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes al compuesto carotenoide zeaxantina. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	0,3 ± 0,04 ^a	0,2 ± 0,04 ^b	0,0 ± 0,02 ^{cd}	0,0 ± 0,01 ^d
A.E	0,3 ± 0,03 ^a	0,2 ± 0,05 ^a	0,2 ± 0,05 ^{ab}	0,1 ± 0,02 ^b
2-Undecanona	0,3 ± 0,05 ^a	0,3 ± 0,03 ^a	0,2 ± 0,04 ^b	0,1 ± 0,01 ^b
2-Undecenal	0,2 ± 0,04 ^a	0,2 ± 0,02 ^{ab}	0,1 ± 0,03 ^{cb}	0,1 ± 0,03 ^c
2-Dodecenal	0,3 ± 0,02 ^a	0,2 ± 0,04 ^b	0,1 ± 0,02 ^c	0,1 ± 0,02 ^d

En β -Caroteno mostro una tendencia a disminuir sus niveles en todos los tratamientos, siendo el aceite esencial, el volátil 2-undecanona y 2-undecenal,

los únicos que conservaron los niveles de este caroteno de forma estable solamente durante 5 días, como se puede observar en la **Figura 102** y **Tabla 52**.

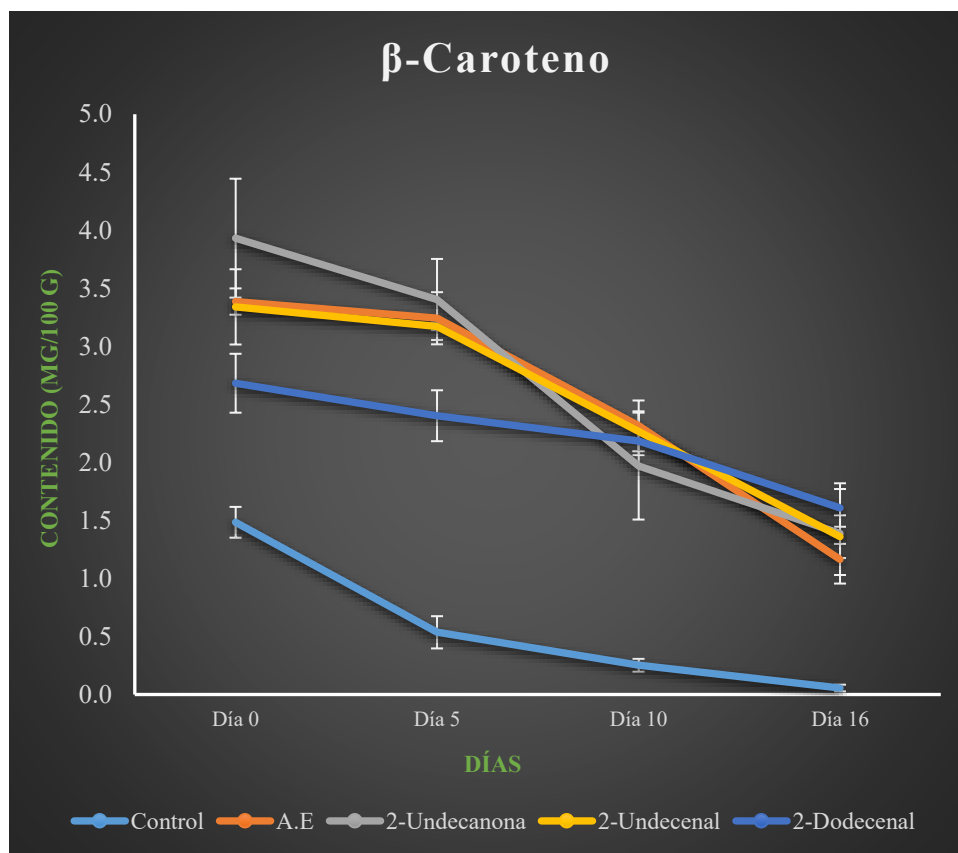


Figura 102. Cinética para la concentración de β -Caroteno en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 52. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes al compuesto carotenoide β -Caroteno. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	1,5 ± 0,13 ^a	0,5 ± 0,14 ^b	0,3 ± 0,05 ^c	0,1 ± 0,03 ^d
A.E	3,4 ± 0,11 ^a	3,2 ± 0,22 ^a	2,3 ± 0,22 ^b	1,2 ± 0,13 ^c
2-Undecanona	3,9 ± 0,51 ^a	3,4 ± 0,35 ^a	2,0 ± 0,46 ^b	1,4 ± 0,43 ^b
2-Undecenal	3,3 ± 0,32 ^a	3,2 ± 0,03 ^a	2,3 ± 0,17 ^b	1,4 ± 0,18 ^c
2-Dodecenal	2,7 ± 0,25 ^a	2,4 ± 0,22 ^{ab}	2,2 ± 0,12 ^b	1,6 ± 0,16 ^c

También se pudo observar cómo los niveles de pH mantienen una tendencia a acidificarse, no solamente en el grupo control, sino también, en el resto de los tratamientos (**Figura 103**), (**Tabla 53**).

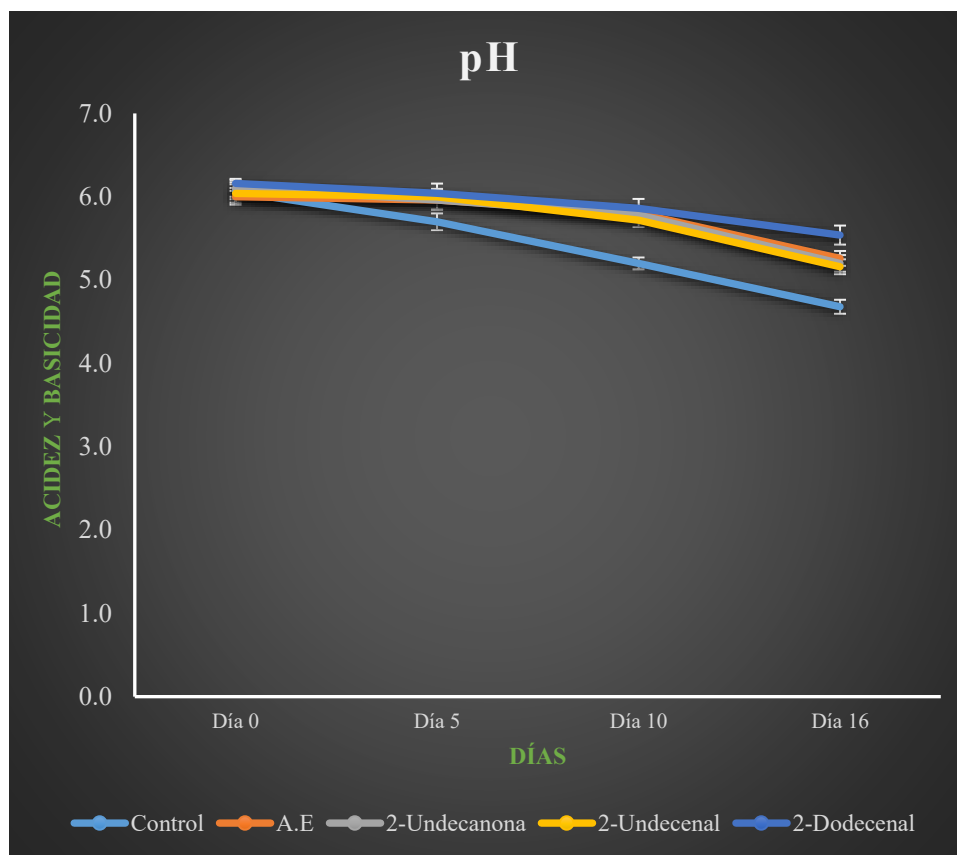


Figura 103. Cinética para la concentración de pH en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 53. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la variable ph. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p < 0.05).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	6,1 ± 0,09 ^a	5,7 ± 0,10 ^b	5,2 ± 0,07 ^c	4,7 ± 0,08 ^d
A.E	6,0 ± 0,07 ^a	6,0 ± 0,11 ^a	5,8 ± 0,07 ^b	5,3 ± 0,09 ^c
2-Undecanona	6,1 ± 0,10 ^a	6,0 ± 0,11 ^{ab}	5,8 ± 0,08 ^b	5,2 ± 0,10 ^c
2-Undecenal	6,0 ± 0,13 ^a	6,0 ± 0,16 ^a	5,7 ± 0,08 ^b	5,2 ± 0,09 ^c
2-Dodecenal	6,2 ± 0,05 ^a	6,0 ± 0,05 ^a	5,9 ± 0,11 ^b	5,5 ± 0,11 ^c

El factor Firmeza presento diferencias estadísticamente significativas con una tendencia a disminuir sus niveles durante todo el tiempo que duro el monitoreo en todos los tratamientos elaborados (**Figura 104**), (**Tabla 54**).

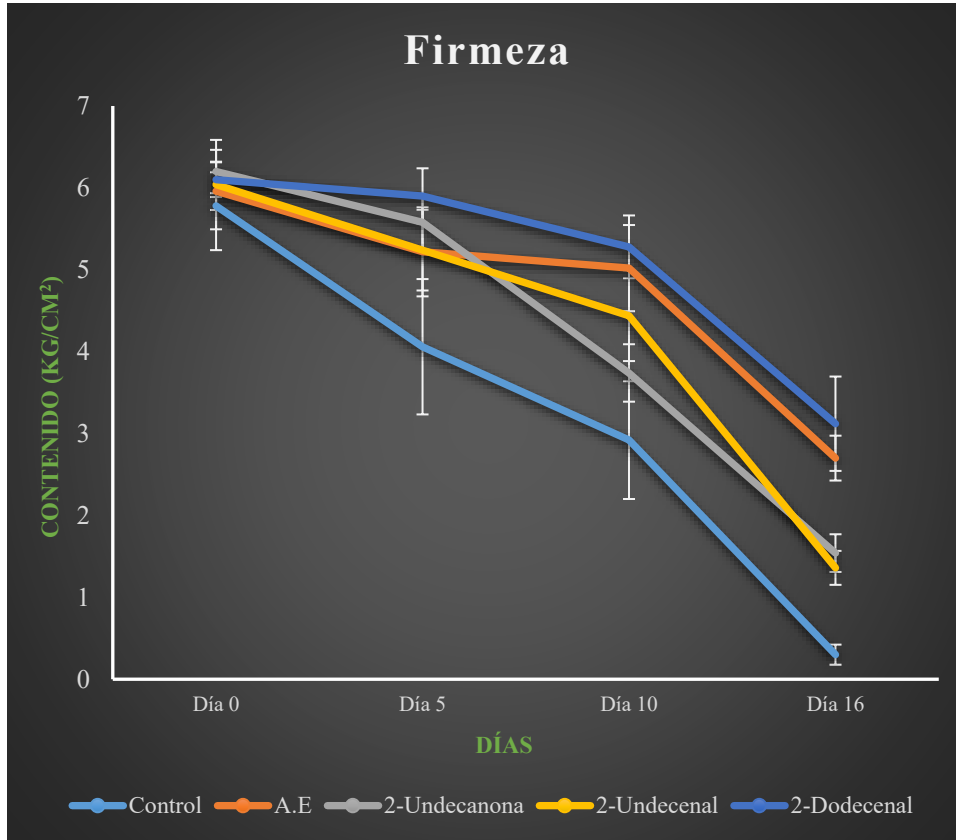


Figura 104. Cinética para la concentración de Firmeza en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 54. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la variable firmeza. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	5,78 ± 0,54 ^a	4,06 ± 0,83 ^b	2,92 ± 0,72 ^c	0,3 ± 0,12 ^d
A.E	5,96 ± 0,23 ^a	5,22 ± 0,54 ^{ab}	5,02 ± 0,53 ^b	2,7 ± 0,27 ^c
2-Undecanona	6,2 ± 0,26 ^a	5,58 ± 0,33 ^b	3,74 ± 0,35 ^c	1,54 ± 0,23 ^d
2-Undecenal	6,04 ± 0,55 ^a	5,24 ± 0,49 ^{ab}	4,44 ± 0,55 ^b	1,36 ± 0,21 ^c
2-Dodecenal	6,1 ± 0,21 ^a	5,9 ± 0,34 ^{ab}	5,28 ± 0,38 ^b	3,12 ± 0,58 ^c

La Vitamina c o Ácido ascórbico conservo sus niveles de presencia durante 10 días en los tratamientos hechos con el volátil 2-undecanona y 2-undecenal, mientras que, en el resto de los tratamientos, este factor disminuyo de forma significativa desde el día 5 (**Figura 105**), (**Tabla 55**).

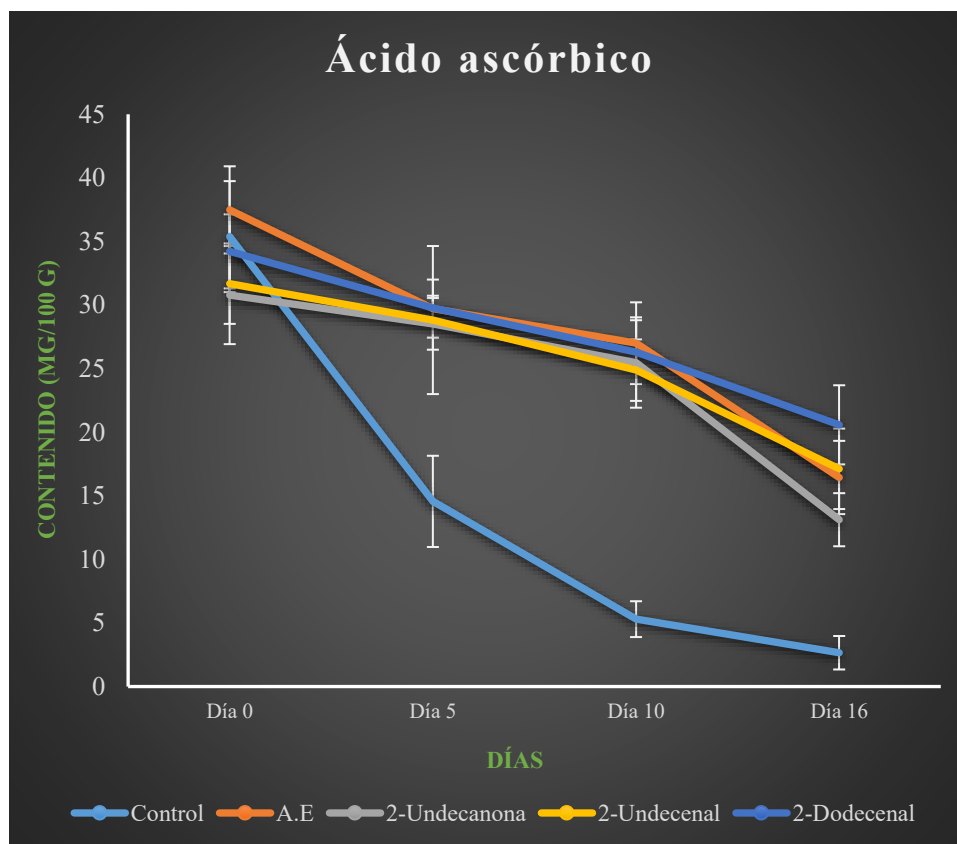


Figura 105. Cinética para la concentración de Ácido ascórbico en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 55. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la variable ácido ascórbico. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	35,4 ± 4,36 ^a	15,6 ± 3,59 ^b	5,3 ± 1,41 ^c	2,7 ± 1,32 ^c
A.E	37,5 ± 3,43 ^a	29,7 ± 2,28 ^b	27,0 ± 3,21 ^b	16,4 ± 2,88 ^c
2-Undecanona	30,8 ± 3,85 ^a	28,5 ± 2,03 ^a	25,5 ± 3,55 ^a	13,1 ± 2,09 ^b
2-Undecenal	31,7 ± 3,16 ^a	28,8 ± 5,82 ^a	24,9 ± 2,42 ^a	17,1 ± 3,16 ^b
2-Dodecenal	34,2 ± 2,91 ^a	39,8 ± 0,97 ^{ab}	26,3 ± 2,50 ^b	21,6 ± 3,11 ^c

El compuesto fenólico capsaicina conservo sus niveles durante más tiempo (10 días) a comparación del resto de tratamientos. El grupo control mostro un aumento sustancial de capsaicina durante los primeros 5 días, para después caer de forma abrupta en la parte restante del monitoreo (**Figura 106**), (**Tabla 56**). Lo último podría deberse a una respuesta defensiva por parte del tejido vegetal y que fue mediada por la vía del etileno.

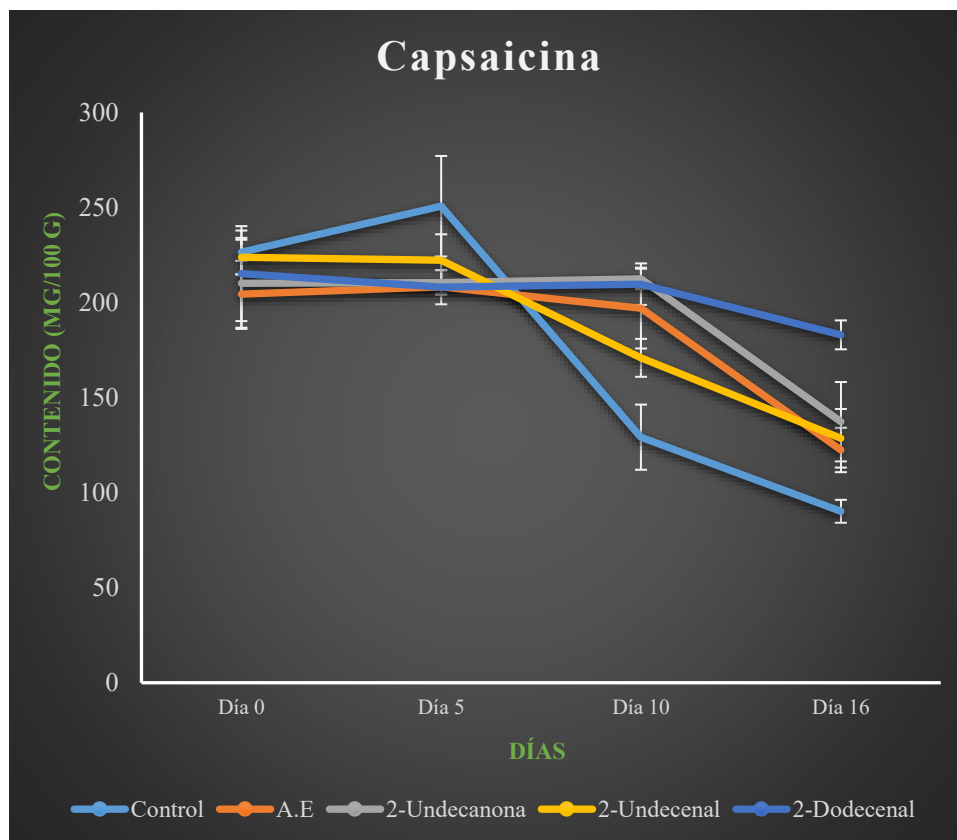


Figura 106. Cinética para la concentración de Capsaicina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 56. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la oleoresina capsaicina. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	226,5 ± 11,43 ^a	250,7 ± 26,43 ^a	129,2 ± 17,14 ^b	90,2 ± 6,03 ^c
A.E	204,4 ± 17,62 ^a	208,3 ± 3,39 ^a	197,1 ± 21,26 ^a	122,5 ± 11,69 ^b
2-Undecanona	210,1 ± 23,95 ^a	210,5 ± 6,46 ^a	212,5 ± 5,32 ^a	137,3 ± 20,88 ^b
2-Undecenal	223,8 ± 9,21 ^a	222,2 ± 13,70 ^a	170,9 ± 9,97 ^b	128,6 ± 15,41 ^c
2-Dodecenal	215,2 ± 24,97 ^a	208,1 ± 9,03 ^{ab}	209,7 ± 10,91 ^{ab}	183,0 ± 7,61 ^b

En la **Figura 107** y **Tabla 57** se muestra el compuesto Dihidrocapsaicina actuando de forma similar al compuesto capsaicina. El volátil 2-undecanona, conservo durante 10 días los niveles de dihidrocapsaicina a diferencia del resto de tratamientos, donde solo pudieron mantener los niveles durante 5 días.

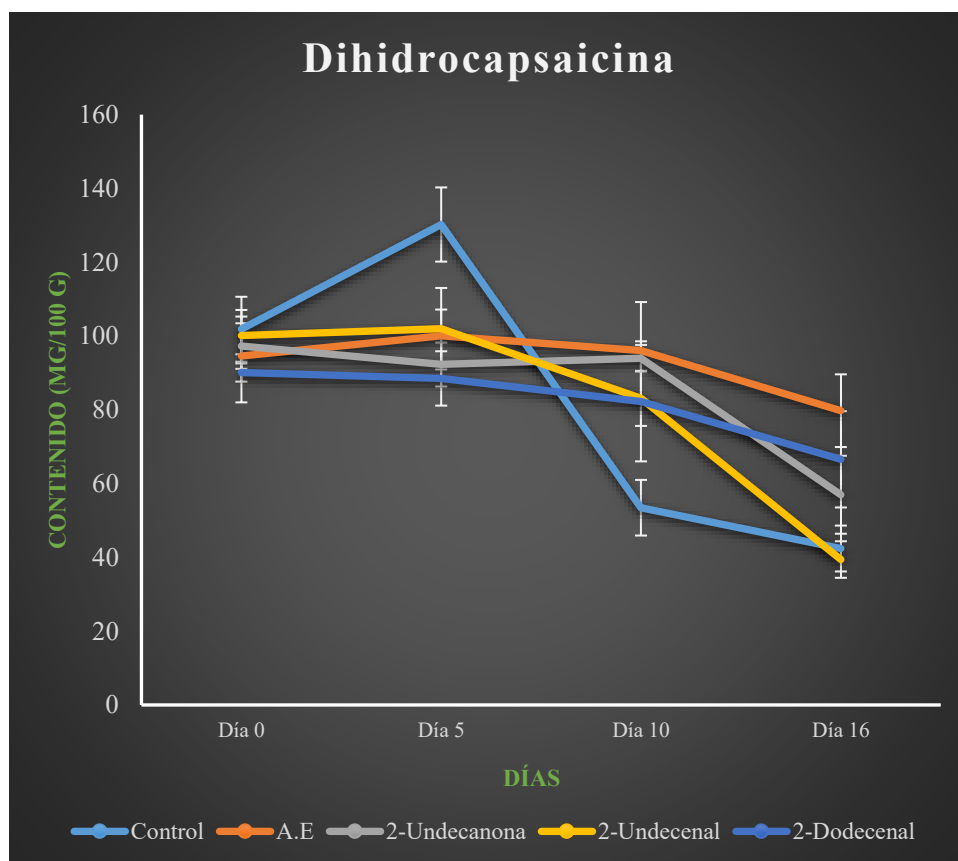


Figura 107. Cinética para la concentración de Dihidrocapsaicina en chile manzano bajo el efecto del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. El contenido se presenta en mg/100 g y las barras de error representan la desviación estándar (n=5).

Tabla 57. Diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos realizados con del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. Datos correspondientes a la oleorresina dihidrocapsaicina. Medias con letra diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

	Día 0	Día 5	Día 10	Día 16
Control	101,8 ± 8,80 ^a	130,2 ± 10,06 ^b	53,5 ± 7,54 ^c	42,4 ± 6,22 ^c
A.E	94,5 ± 12,53 ^a	100,1 ± 7,12 ^{ab}	96,0 ± 13,17 ^a	79,8 ± 9,85 ^{ac}
2-Undecanona	97,3 ± 6,17 ^a	92,3 ± 5,96 ^a	94,0 ± 3,60 ^a	57,0 ± 10,56 ^b
2-Undecenal	100,2 ± 5,12 ^a	102,0 ± 11,04 ^a	83,1 ± 7,47 ^b	39,4 ± 4,96 ^c
2-Dodecenal	90,1 ± 2,46 ^a	88,5 ± 7,36 ^a	82,3 ± 16,27 ^{ab}	66,6 ± 13,05 ^b

Las características más notorias obtenidas se obtuvieron del grupo control donde hubo un aumento del compuesto dihidrocapsaicina hasta el día 5, pero que después cayo en la parte restante del monitoreo.

VIII DISCUSIÓN

El aceite esencial de *Mentha piperita* es uno de los más producidos y consumidos, debido principalmente a sus componentes más importantes como lo son el mentol y la mentona, los cuales son conocidos por mostrar efectos antimicrobianos notables (Ibrahim *et al.*, 2015). Los compuestos volátiles que conforman el aceite esencial de *Mentha piperita*, pueden variar en cuanto a cantidad y variedad, de acuerdo a las condiciones en las cuales crece la planta. En el presente trabajo, se lograron identificar 11 compuestos volátiles, destacando (por su abundancia) el mentol (39,15%) y la mentona (36,97%), seguidos por otros compuestos menos abundantes como el linalool (4,5%), (5Z)-octenol (3,1%), sabineno (2,9%) y β -Cariofileno (2,85%). Tullio *et al.* (2019), realizó estudios de identificación molecular en el aceite esencial de *Mentha piperita* (plantas que fueron recolectadas en Turín, Italia, localidad Pancalieri) y encontró los compuestos de mayor abundancia como Limoneno (1.8 %), 1,8-Cineol (5.3%), Mentona (21.8%), Isomentona (1.5%), Mentil-acetato (4.8%), Isopulegol (0.16%) y Mentol (41.7 2%). Mientras que, Pino *et al.* (2002), de igual forma realizó análisis moleculares utilizando una cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC/MS) en plantas de *Mentha piperita*, que fueron recolectadas en Santa Anita, cerca de Guadalajara en Jalisco, México. Los compuestos reportados fueron 44 y los volátiles con mayor importancia antifúngica mostraron porcentajes diferentes al de este trabajo, ya que el mentol se encontraba representado por un 35.4% mientras que la mentona se encontraba en un 15.4 %. De acuerdo a lo descrito por Saharkhiz *et al.* (2012), la composición química de las plantas aromáticas depende de diferentes factores, como la variabilidad genética individual y las diferentes partes de la planta, aparte de la estación anual, las condiciones climáticas y el lugar de crecimiento de las plantas.

Los trabajos de actividad antifúngica realizados en este estudio, con el aceite esencial de *Mentha piperita*, actuando sobre hongos aislados provenientes de frutos de chile manzano mostraron resultados positivos tanto en las pruebas *in vitro* como en los ensayos *in situ*. Las concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) del aceite esencial de *Mentha piperita* junto con sus volátiles más abundantes exhibieron propiedades antifúngicas notables en los ensayos hechos con

Fusarium sambucinum, ya que el aceite esencial de la planta *Mentha piperita* mostró una MIC de 185.1 µg/mL, mientras que el volátil Mentol, presento una MIC aún más baja, al encontrar el 100% de inhibición con una concentración de 150.3 µg/mL. Estos resultados son prometedores debido a las bajas concentraciones que se extraen del material vegetal seco, no obstante, el volátil mentona presento una MIC de 250.1 µg/mL, convirtiéndolo en el compuesto de menor efectividad con relación a su actividad antifúngica.

En las imágenes de microscopia se pudo observar que tanto el aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles (mentol y mentona) provocaron un colapso durante el desarrollo de las células fúngicas. Lo anterior, se debió probablemente a la capacidad que este aceite tiene para inhibir la síntesis de ergosterol y, en consecuencia, provocaría el debilitamiento de la pared celular y posteriores lesiones, dejando el contenido citosólico expuesto al medio extracelular. Con respecto a lo anterior Tullio *et al.* (2019), menciona que los aceites esenciales son conocidos por ejercer una presión antagónica contra los virus, bacterias, hongos y parásitos, además de evitar su capacidad de resistencia, ya que los microbios son incapaces de adaptarse a sus estructuras heterogéneas. Su composición puede tener volátiles de bajo peso molecular que funcionan como inhibidores en la biosíntesis del ergosterol el cual juega un papel importante al estabilizar las propiedades físicas de la membrana, además de proveer una fluidez específica que les da un efecto de barrera y una función adecuada a las proteínas de membrana (Avis, 2007).

La inoculación *Fusarium sambucinum* en frutos de chile manzano presento síntomas de pudrición blanda junto con una biomasa fúngica, que se hacían presentes al cuarto día de empezar el experimento. Para el sexto día, la calidad del fruto había decaído lo suficiente, como para ser descartado para su venta. En cambio, los tratamientos en los que se llevó a cabo el procedimiento de aspersión (directamente en la zona de inoculación) con aceites esenciales y sus volátiles más abundantes en los frutos de chile, mostraron la capacidad de aumentar la vida de anaquel de los frutos. El aceite esencial de *Mentha piperita* mostro la capacidad de retrasar los síntomas y mantener la turgencia del fruto durante más tiempo (aproximadamente 8 días). Los mismos resultados se pudieron observar en los tratamientos hechos con mentona y mentol, los cuales

mostraron ser capaces de mantener la vida de anaquel del fruto, durante 10 días después de ser infectados con *Fusarium sambucinum*. Los resultados expuestos son prometedores debido a que en condiciones de campo y almacenamiento la cantidad de esporas que llegan a afectar a los frutos se encuentra muy por debajo de las 1000 esporas utilizadas en este experimento, razón por la cual, un número reducido de esporas tarda más tiempo en invadir todo el tejido vegetal a comparación de una cantidad abundante.

El trabajo hecho por Wei *et al.* (2020), describe la actividad antifúngica del compuesto cinamaldehído, el cual se extrae de la corteza del árbol de canela. La producción de esporas por parte de *Fusarium sambucinum* era inhibida por el cinamaldehído, en ensayos con placas petri, el 28/7%, 75/9% y 82/6% de la producción de esporas fue inhibido, debido a la introducción del compuesto cinamaldehído a concentraciones de 0/5%, 1 y 2 mmol l⁻¹. Sin embargo, para alcanzar MIC en los ensayos hechos con cinamaldehído ejerciendo presión sobre *Fusarium sambucinum*, se necesitó de una concentración a 4 mmol l⁻¹. De acuerdo a OuYang *et al.* (2019) quien fue citado por Wei *et al.* (2020), sugiere que el mecanismo de acción antifúngico del cinamaldehído disminuye la cantidad de quitina en la pared celular y aumenta la actividad de la fosfatasa alcalina extracelular, lo que llevaría al deterioro de la permeabilidad en la pared celular.

La actividad antifúngica de *Mentha piperita* fue señalada igualmente Saharkhiz *et al.* (2012). El autor probó aceite esencial de menta en diferentes especies de *Aspergillus* y pudo determinar la MIC y la MFC (concentración mínima fungicida) para especies de *Aspergillus* como *A. flavus* (MIC=4.0 µL/mL y MFC= 8.0 µL/mL), *A. fumigatus* (MIC=0.5 µL/mL y MFC=2.0 µL/mL), *A. fumigates* (MIC= 2.0 µL/mL y MFC=8.0µL/mL), *A. oryzae* (MIC= 2.0 µL/mL y MFC=4.0µL/mL) y *A. clavatus* (MIC= 0.5 µL/mL y MFC=1.0µL/mL). En cuanto al mecanismo de acción, Saharkhiz menciona, que una de las principales características de los AE es su hidrofobicidad, lo que permitió su incorporación a la membrana celular. El AE probado por Saharkhiz era rico en mentol, el cual es un monoterpeno fenólico que tiene un grupo hidroxilo alrededor del anillo fenólico, confiriéndole su actividad antimicrobiana, a través de la rotura de la membrana citoplasmática.

Varias especies de *Fusarium* fueron utilizadas por Desam *et al.* (2019) para definir la mínima concentración inhibitoria del aceite esencial de *Mentha piperita*.

Los resultados fueron expresados en $\mu\text{g}/\text{disc}$ y las muestras vegetales fueron recolectadas en Arabia Saudita. A través del método de difusión por disco, se probó la actividad antifúngica del aceite esencial de *Mentha piperita* sobre *Fusarium oxysporum* (MIC=1.50 $\mu\text{L}/\text{disc}$), *Fusarium acuminatum* (MIC=2.50 $\mu\text{L}/\text{disc}$), *Fusarium solani* (MIC=10.0 $\mu\text{L}/\text{disc}$) y *Fusarium tabacinum* (MIC=1.50 $\mu\text{L}/\text{disc}$). De acuerdo con este estudio, el porcentaje de los principales constituyentes del aceite esencial determina la actividad antibacteriana, debido a los componentes químicos que conforman el aceite esencial contienen heteroátomos como el oxígeno.

La identificación de compuestos químicos de *Zanthoxylum limoncello* realizada a través de una cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GS/MS), indicó la presencia de 15 volátiles. De los cuales, resaltaron 3 por su abundancia. El volátil 2-Undecanona (35%), 2-Undecenal (29%) y 2-Dodecenal (E)- (5%), por ser los compuestos que se encontraban en mayor cantidad, fueron probados por separado, para probar su actividad antifúngica además de realizar un tratamiento de actividad inhibitoria solo con el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello*. La información relacionada a las facultades antimicrobianas del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* es prácticamente nula, razón por la cual, son de gran importancia los datos recabados en este trabajo. La efectividad antifúngica del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* actuando como inhibidor en el desarrollo de células provenientes de las muestras obtenidas de *Fusarium temperatum* fue buena en términos generales.

El compuesto 2-Undecenal obtuvo una MIC de 218.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$, mientras que 2-Undecanona presentó una MIC de 135.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y el compuesto 2-Dodecenal (E)- alcanzó la concentración mínima inhibitoria en 126.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dentro de los ensayos hechos en placas de microtitulación utilizando el indicador resazurina. Sin embargo, el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* necesitó de una concentración más baja para alcanzar la MIC, la cual fue de 104.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$, en comparación con el resto de las MIC. El aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* exhibió un mejor rendimiento, demostrando que, dependiendo del aceite esencial, los volátiles más abundantes junto con el resto de compuestos minoritarios trabajan mejor en sinergia.

En cuanto a los resultados cualitativos, fue posible observar la deformación de esporas en el momento en que empezaban a desarrollarse, dejando sin posibilidad la formación de un tubo germinal en los tratamientos hechos con 2-undecanona y 2-undecenal. Sin embargo, los tratamientos que contenían el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y el volátil 2-dodecenal, no permitieron la formación de esporas en el medio de cultivo hecho con lentes de contacto suaves, demostrando concordancia con los experimentos hechos en placas de microtitulación y en los ensayos *in situ* que fueron hechos con frutos de chile manzano.

Al igual que con el aceite esencial *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes, el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* aumento en gran medida, el tiempo de vida de anaquel de los frutos, ya que el deterioro en la calidad de los chiles que se encontraban en el tratamiento correspondiente al análisis de actividad antifúngica ejercida por *Zanthoxylum limoncello*, lograron retrasar la aparición de síntomas graves durante 11 días después de que se realizó la inoculación de 1000 esporas. El grupo control empezó a mostrar los primeros síntomas de deterioro al pasar los 7 días después de la inoculación de 1000 esporas provenientes de la cepa que fue aislada de *Fusarium temperatum*. El compuesto 2-Undecenal tuvo una actividad similar al del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello*, ya que retraso la aparición de síntomas graves hasta el día 9, mientras que, el compuesto que obtuvo los mejores resultados fue el 2-Dodecenal el cual aumento el periodo de vida de anaquel hasta por 13 días convirtiéndolo en el compuesto más prometedor y que fue probado en condiciones *in situ*. Aunque la mayoría de los tratamientos arrojaron resultados de alto rendimiento, el único compuesto que dejo resultados pobres en las pruebas *in situ* fue el volátil 2-Undecanona, el cual no presento diferencias con el grupo control.

Los estudios relacionados a la patogenicidad de *F. temperatum* son pocos, en especial, cuando actúa como fitopatógeno. En el trabajo realizado por Al-Hatmi *et al.* (2014), menciona al maíz como hospedero natural de *F. temperatum*, no obstante, su daño no solo debe ser considerado dentro de las plantas y alimentos, ya que también es un factor de riesgo para la salud de los agricultores

y recolectores que se ocupan del manejo de material agrícola infectado, ya que este hongo es causante de enfermedades graves como la queratitis.

Shin *et al.* (2014) realizó pruebas con fungicidas sintéticos a diferentes concentraciones para encontrar la mínima concentración inhibitoria (MIC), o la concentración efectiva (EC), en granos de maíz infectados con *F. temperatum* (con una suspensión de conidios de 1ml). Los autores evaluaron la eficacia de los fungicidas sintéticos tebuconazol, difenoconazol, fluquinconazol, procloraz y kresoxim-metilo. La sensibilidad de *F. temperatum* a los cuatro fungicidas azólicos varió; procloraz inhibió completamente la formación de colonias por *F. temperatum* a una concentración de 1 µg/ml, tebuconazol y difenoconazol a 10 µg/ml y fluquinconazol a 3000 µg/ml. Sin embargo, los resultados indican que el kresoxim-metilo fue el inhibidor más eficaz, ya que solo necesitó de una concentración a 0.01 µg ml⁻¹ para evitar la formación de colonias mediadas por conidios de *F. temperatum*.

La información referente al género *Zanthoxylum* es escasa y los trabajos hechos con *Zanthoxylum limoncello* son prácticamente nulos en el campo de la fitopatología. De acuerdo a Villa-Ruano *et al.* (2019), *Zanthoxylum limoncello* es una planta nativa del sur de México, que se utiliza como fuente maderable, condimento y como medicina tradicional. Las plantas del género *Zanthoxylum* son capaces de biosintetizar alcaloides, lignanos, amidas, cumarinas, flavonoides, terpenos, cromonas y esteroides con actividades antibacterianas, antifúngicas, antiproliferativas y antiprotozoarias (Villamizar *et al.*, 2019). Villa-Ruano *et al.* (2019), puso a prueba los efectos antimicrobianos del aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* en medios de cultivo que contenían células de tres cepas provenientes de *H. pylori* (ATCC 43505, 26695 y J99). Las MIC encontradas mostraron datos positivos al inhibir el crecimiento de la cepa ATCC 43505 con una MIC de 139.7 µg/mL¹, la segunda cepa denominada como 26695 obtuvo una MIC de 87.5 µg/mL¹, mientras que la cepa J99 necesitó de una concentración aproximada 110,4 µg/mL¹ de aceite esencial para inhibir el crecimiento de células.

Los análisis moleculares-bromatológicos correspondientes a los tratamientos hechos con frutos de chile infectados con esporas de *Fusarium sambucinum* y que fueron asperjados con el aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles

más abundantes, como lo son el mentol y la mentona. Estos compuestos, mostraron una clara capacidad para preservar las características nutricionales al examinar la baja de los factores bromatológicos (dentro de los 16 días monitoreados para cada uno de los tratamientos), diferencia que se marcaba notoriamente al comparar los tratamientos con el grupo control. Aun cuando el aceite esencial y sus volátiles más abundantes se encontraban fungiendo como agentes antimicrobianos, se puede observar cómo los factores bromatológicos: Materia seca, Grasa cruda, Proteína cruda, Fibra cruda, Ceniza y el Extracto libre de nitrógeno, en general, muestran la misma tendencia, la cual consiste, en mantener estables los porcentajes de los datos bromatológicos para caer de forma significativa después de los 10 días.

Los compuestos carotenoides encontrados en los tratamientos analizados a través de HPLC-MS, mostraron, generalmente, la tendencia de mantener estables los niveles de contenido para el respectivo carotenoide (Cis-Violaxantina, Luteoxantina, Zeaxantina y β -Caroteno) hasta el día 10 para después caer de forma notable entre el día 11 y 15. Algunas excepciones, como: Violaxantina y Antheraxantina, se mantuvieron estables durante todo el periodo de monitoreo. El carotenoide Luteína, puede ser considerado un caso especial ya que sus niveles son los más bajos, incluso cuando los frutos de Chile se encuentran en condiciones óptimas, de tal forma que el grupo control mostro niveles de presencia nulos para este compuesto, mientras que, los tratamientos hechos con el aceite esencial y el mentol, mantuvieron estable la presencia de la luteína hasta el día 5, para después observar una caída entre el día 6 y 10, terminando el día 16 con el contenido de forma estable. El tratamiento que sufrió la presión del volátil mentona, mostro resultados peculiares en comparación a los otros tratamientos, debido a que se observaron niveles de luteína altos desde el primer día, los cuales se mantuvieron de forma estacionaria, para finalmente caer de forma súbita después del 11vo día.

La actividad del hongo *Fusarium temperatum* fue inhibida por el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes (2-undecanona, 2-undecenal y 2-dodecenal). La tendencia en el comportamiento inhibitorio mostro similitudes a *Fusarium sambucinum* al ser inhibido por el aceite esencial de *Mentha piperita*, no obstante, la facultad de mantener la mayor parte de los

factores, en presencia estable, fue más clara con el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes. En algunos tratamientos, las propiedades de *Mentha piperita* mantuvieron la estabilidad en la ceniza hasta el día 11, para después caer al día 16 a diferencia de los tratamientos hechos con *Zanthoxylum limoncello*, ya que la estabilidad se mantuvo durante más días y no cayó a niveles ínfimos. En cuanto a la presencia de carotenos, los tratamientos ligados a *Zanthoxylum limoncello*, de forma contraria a los tratamientos que se encontraban en presencia de *Mentha piperita*, tuvieron una caída ligeramente notable en la presencia de estos compuestos. Vale la pena mencionar que los frutos que fueron inoculados con *Fusarium temperatum*, presentaron una mayor presencia de contenido en cada uno de los carotenoides cuantificados durante los primeros días del monitoreo que aquellos frutos que fueron inoculados con *Fusarium sambucinum*. Esto quizá, se deba a la interacción a nivel molecular que tiene el hongo con los tejidos del fruto, más que a la interacción del aceite esencial con el hongo fitopatógeno ya que los mecanismos de infección pueden diferenciarse de acuerdo al agente fitopatógeno.

El factor Humedad, a diferencia del resto de los factores bromatológicos, represento una excepción, debido a que después del día 5 tanto el grupo control como el tratamiento hecho con el A.E. mostraron un aumento en los niveles de humedad, mientras que, los tratamientos que tuvieron contacto con los volátiles, fueron capaces de mantener el porcentaje de humedad estable hasta el día 10, para terminar observando un crecimiento exponencial entre los días 10 y 16, teniendo al grupo control, con el mayor porcentaje de humedad. Así demostrando, que el crecimiento del patógeno es capaz de humidificar el medio en grandes proporciones mientras que el aceite esencial es capaz de combatir las funciones del hongo y disminuir los niveles de degradación y humedad.

Se puede decir que los niveles de pH en los frutos inoculados con *Fusarium sambucinum* y *Fusarium temperatum* y que estuvieron en contacto con su respectivo compuesto vegetal, se mantuvieron de forma ecuánime hasta el final del monitoreo, siempre tendiendo más a la acidez. La decaída constante con respecto a la firmeza dentro de todos los tratamientos se volvía cada vez más notoria conforme el crecimiento del fitopatógeno progresaba. Mientras que la

presencia de Ácido ascórbico también vio su caída retrasada, en especial cuando se comparaban los resultados de estos con el grupo control, no obstante, la tendencia siempre fue a la baja.

Cuando los organismos vegetales son atacados por microorganismos patógenos, los tejidos utilizan diferentes mecanismos de defensa que les permiten reconocer al fitopatógeno, siendo la respuesta hipersensible (RH), una de las más comunes. Este proceso celular consiste en la activación de enzimas, cambios en la permeabilidad de la membrana y en la concentración de iones intracelulares. Un aspecto importante en el mecanismo de defensa de las plantas se encuentra relacionado al tipo de enzimas que el organismo puede producir para dar paso a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), como el superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo (OH^-) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), los cuales son responsables de la explosión oxidativa, que provoca degradación y toxicidad en la pared de hongos y bacterias. En el caso específico de los frutos de Chile, se sabe acerca de la generación de compuestos fenólicos en chiles inmaduros en comparación con frutos maduros, haciéndolos menos susceptibles a agentes patógenos (Sandoval-Chávez *et al.*, 2015). Al cuantificar los compuestos moleculares encontrados en los frutos de Chile manzano inoculados con *Fusarium sambucinum* y *Fusarium temperatum*, fue evidente el repunte, tanto de la capsaicina como de la dihidrocapsaicina entre el día 1 y 5, lo cual podría deberse, precisamente, al reconocimiento del fitopatógeno por parte del tejido vegetal, lo cual provocó una respuesta hipersensible, sin embargo, los niveles de capsaicina como de dihidrocapsaicina decayeron después del día 5, lo cual podría deberse a la incapacidad de estos compuestos para atacar la numerosa cantidad de esporas (1000 esporas) inoculadas en los frutos, cuando en condiciones de almacenamiento, el número de esporas se encuentra muy por debajo de la cantidad utilizada en este experimento.

La reducción de carotenoides indica un problema para varios procesos químicos fundamentales en las plantas ya que contribuyen a la captura de luz en la fotosíntesis y la foto-protección en condiciones de mucha luz (Wurtzel, 2019). Sin embargo, además de que las especies reactivas de oxígeno pueden ser generadas en condiciones de estrés lumínico, también se sabe sobre la generación de ROS por parte de hongos fitopatógenos que oxidan los

compuestos carotenoides (Havaux, 2014, Zhang *et al.*, 2020). De acuerdo a Villa-Ruano *et al.* (2017), algunos compuestos provenientes de los aceites esenciales, al igual que algunos compuestos carotenoides (β -caroteno principalmente) y el ácido ascórbico poseen potentes propiedades antioxidantes, las cuales fueron demostradas cuando Villa-Ruano probó el aceite esencial de *C. mitraeformis* con el método de DPPH, señalando que varios compuestos presentes en las plantas no solo pueden llegar a funcionar como agentes antimicrobianos, sino también, como recolectores de radicales libres. Havaux (2014), ha señalado que recientemente se ha descubierto que los organismos vegetales pueden producir compuestos como la enzima aldehído deshidrogenasa, la cual se cree es parte de un mecanismo de desintoxicación que elimina los apocarotenales tóxicos al mediar la conversión de estos en sus ácidos correspondientes.

Aun cuando los frutos se encuentran en condiciones para accionar un sistema de defensa que le permita reconocer o aminorar los efectos del fitopatógeno, lo cierto es que, el tratamiento que los frutos reciben en condiciones de almacenamiento suele incluir el uso de sustancias fungicidas, como se muestra en este trabajo, en el cual se pudo observar como el aceite esencial servía como aditivo para mantener las características tanto físicas como moleculares que eran afectadas por los hongos fitopatógenos de los chiles manzano, ya que los compuestos encontrados en el aceite esencial funcionan de forma específica contra el hongo fitopatógeno aislado.

IX CONCLUSIONES

- 1.-Los estudios relacionados al uso de aceites esenciales en el campo de la producción y mantenimiento de alimentos de origen agrícola son pocos, de la misma forma que la información documentada sobre la producción de chile manzano es escasa.
- 2.-El presente trabajo pudo encontrar información importante con respecto a la producción de chile manzano en la sierra norte de Puebla (específicamente el municipio de Yaonáhuac).
- 3.-Se pudo identificar un hongo fitopatógeno que no se había documentado anteriormente como lo es *Fusarium temperatum*. Además de haber obtenido información sobresaliente sobre la actividad antimicrobiana de una planta nativa de la sierra norte de Puebla poco estudiada, como lo es *Zanthoxylum limoncello*.
- 4.-Los hongos fitopatógenos aislados, provenientes de frutos de chile manzano recolectados en la localidad de Yaonáhuac (Sierra Norte de Puebla), demostraron ser capaces de afectar en gran medida la calidad física de los frutos, además de disminuir las propiedades moleculares-nutritivas de estos.
- 5.-La calidad de los frutos de chile, decaía (generalmente) alrededor del día 5 después de haber sido inoculados con el hongo fitopatógeno en los grupos sin ningún tipo de tratamiento, pero, en los grupos a los cuales se les habían aplicado un aceite esencial, habían mostrado tener una mayor vida de anaquel, hasta por 5,7 o incluso 10 días en comparación al grupo control.
- 6.-Las imágenes de microscopia mostraron un efecto inhibitorio en el desarrollo de esporas tanto de *Fusarium temperatum* como de *Fusarium sambucinum* por parte de los aceites esenciales de *Zanthoxylum limoncello* y de *Mentha piperita*, además de los volátiles más abundantes de cada aceite esencial.
- 7.-Las esporas de *Fusarium sambucinum* que fueron expuestas al aceite esencial de *Mentha piperita* y sus volátiles más abundantes mostraron un pobre desarrollo en la formación de tubos germinales y lesiones en la membrana celular.

8.-Los tratamientos hechos con el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* y sus volátiles más abundantes mostraron la capacidad de, no solo de interrumpir el desarrollo de las esporas, sino también, la capacidad de provocar un efecto de lisis en estas, debido a que no se desarrollaron en lo absoluto.

9.-Algunos volátiles como el mentol, pueden actuar de manera efectiva al inhibir el desarrollo de esporas fúngicas sin la necesidad de actuar en conjunto con el resto de los volátiles pertenecientes al aceite esencial de *Mentha piperita*.

10.-El compuesto 2-dodecenal y el aceite esencial de *Zanthoxylum limoncello* actúan de forma similar, pero el aceite esencial necesita de una menor cantidad de concentración para alcanzar la MIC con esporas de *Fusarium temperatum*, debido a que todos los volátiles podrían funcionar mejor en sinergia en lugar de utilizar un solo volátil.

11.-Aunado a lo anterior, cabe mencionar, que la efectividad antimicrobiana del aceite esencial dependió en gran parte del tipo de compuestos más abundantes que pudo llegar a generar la planta, al igual que el fitopatógeno con el cual entro contacto, ya que los aceites esenciales son en gran parte específicos a la hora de antagonizar la actividad del patógeno, lo cual quiere decir que se deben continuar haciendo pruebas para encontrar el aceite esencial más efectivo para fitopatógeno en cuestión.

Fuentes

- Agrios, G.N. (2005). *Plant Pathology*. 5th ed. San Diego, CA: Elsevier Academic Press.
- Almaraz, S.A., Escobar, V.A., Tlatilpa, I.F.S., & Nieto, D. (2018). *Fusarium sambucinum* Fuckel causal agent of fruit rot of manzano chilli pepper (*Capsicum pubescens*) in Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 37,159-169.
- Al-Hatmi, A., Bonifaz, A., Hoog, S., Vázquez-Maya, L., Garcia-Carmona, K., Meis, J., & Van-Diepeningen, A. (2014). Keratitis by *Fusarium temperatum*, a novel opportunist. *BMC Infectious Diseases*, 12, (14), 588. DOI: 10.1186/s12879-014-0588-y.
- Antonio, A. S., Wiedemanna, L. S. M., & Veiga-Junior, V. F. (2018). The genus *Capsicum*: a phytochemical review of bioactive secondary metabolites. *RSC Adv.* 8, 25767–25784.
- Avis, T.J. (2007). Antifungal compounds that target fungal membranes: applications in plant disease control. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 29, (4), 323-329.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446–475.
- Barrios-Puente, G., Espinosa-Torres, L.E., Figueroa-Hernández, E., & Ramírez-Abarca. O. (2014). Evaluación técnica, financiera y comercial de los sistemas de producción de chile manzano (*Capsicum pubescen* R Y P) en México. *Análisis Económico*, 29, 2019-2019.
- Becker, M., Mandaji, C., Catanante, G., Marty, J., & Nunes, G. (2018). Mineral and bromatological assessment and determination of the antioxidant capacity and bioactive compounds in native Amazon fruits. *Braz. J. Food Technol*, 21, e2018022. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.02218>.
- Bernal, J., Mendiola, J., Ibáñez, E., & Cifuentes, A. (2011). Advanced analysis of nutraceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 55, 758-774.

- Brower, V. (1998). Nutraceuticals: poised for a healthy slice of the healthcare market? *Nat Biotechnol*, 16, (8), 728-31. DOI: 10.1038/nbt0898-728. PMID: 9702769.
- Calo, J.R., Crandall, P.G., O' Bryan, C.A.O., & Ricke, S.C. (2015). Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. *Food Control*, 54, 111-119.
- Camp, K.M., & Rujillo, E. (2014). Position of the academy of nutrition and dietetics: Nutritional genomics. *J. Acad. Nutr. Diet*, 114, (2), 299-312.
- Caputi, L., & Aprea, E. (2011). Use of Terpenoids as Natural Flavouring Compounds in Food Industry. Recent Patents on Food. *Nutrition & Agriculture*, 3, 9-16.
- Carreño, S., Capello, S., Gaitán, R., Cifuentes, J., & Rosique, J. (2013). Caracterización del crecimiento miceliar in vitro de *Pleurotus albidus* Pegler 1983 y *Pleurotus djamor* Boedijn 1959, en Tabasco, México. *Kuxulkab´ revista de divulgación: División 69*. 19, (37), 37-45.
- Chadha, S., & Kale, S.P. (2015). Simple fluorescence-based high throughput cell viability assay for filamentous fungi. *Applied microbiology*, 61, 238—244.
- Chambial, S., Dwivedi, S., Shukla, K.K., John, P.J., & Sharma, P. (2013). Vitamin C in Disease Prevention and Cure: An Overview. *Ind J Clin Biochem*, 28, (4), 314–328.
- Chiang, V.S. (2015). Bromatology: What We Do and What We are About. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 8, (12): 895-900.
- Chouhan, S., Sharma, K., & Guleri, S. (2017). Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. *Medicines*, 4, 58.
- Costa, A.I.A., & Jongen, W.M.F. (2006). New insights into consumer-led food product development. *Trends Food Sci. Tech*, 17: 457-465.
- Desam, N.R., Al-Rajab, A.J., Sharma, M., Mylabathula, M.M., Gowkanapalli, R.R., & Albratty, M. (2019). Chemical constituents, in vitro antibacterial and antifungal activity of *Mentha×Piperita* L. (peppermint) essential oils. *Journal of King Saud University - Science*, 31, (4), 528-533. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.07.013>.

- Deshmukh, S., & Jadhav, V. (2014). Bromatological and mineral assessment of *Clitoria ternatea* linn. Leaves. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6, (3), 244-246. ISSN- 0975-1491.
- Doehlemann, G., Ökmen, B., Zhu, W., & Sharon, A. (2016). Plant Pathogenic Fungi. *Microbiol Spectr*, 5, (1), FUNK-0023-2016. DOI: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0023-2016. PMID: 28155813.
- Dudareva, N., & Pichersky, E. (2000). Biochemical and molecular genetic aspects of floral scents. *Plant Physiol*, 122, 627-33.
- Emwas, A., Roy, R., Mckay, R. T., Tenori, L., Saccenti, E., Gowda, G. A. N., Raftery, D., Alahmari, F., Jaremko, L., Jaremko, M., & Wishart, D. S. (2019). NMR Spectroscopy for Metabolomics Research. *Metabolites*, 9, (7), 123. DOI: 10.3390/metabo9070123.
- Espinosa-Torres, L. E., & Ramírez-Abarca, O. (2016). Rentabilidad de chile manzano (*Capsicum pubescens* R Y P) producido en invernadero en Texcoco, Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7, (2), 325-335.
- Espinosa-Torres, L.E., & Villa-Galindo, A. (2008). Regiones productoras de chile manzano. *Rev. Ext. Campo*, 7, (8), 8-12.
- Feng, S., Enders, J.R., Cummings, O.T., Strickland, E.C., McIntire, T., & McIntire, G. (2020) A Dilute and Shoot LC-MS/MS Method for Antipsychotics in Urine. *J Anal Toxicol*, 44, (4), 331-338. DOI: 10.1093/jat/bkz098.
- Guigón-López, C., & González-González, P.A. (2001). Estudio Regional de las Enfermedades del Chile (*Capsicum annum*, L.) y su Comportamiento Temporal en el Sur de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19, (1), 49- 56.
- García-Gaytán, V., Gómez-Merino, F.C., Trejo-Téllez, L.I., Baca-Castillo, G.A., & García-Morales, S. (2017). The Chilhuacle Chili (*Capsicum annum* L.) in Mexico: Description of the Variety, Its Cultivation, and Uses. *International Journal of Agronomy*, 2017, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2017/5641680>.

- Giovannoni, J. (2001). Molecular biology of fruit maturation and ripening. *Annu. Rev. Plant Phys*, 52, 725-749.
- Hamer, J.E., Howard, R.J., Chumley, F.G., & Valent, B. (1988). A mechanism for surface attachment in spores of a plant pathogenic fungus. *Science*, 239, 288–290. <http://dx.doi.org/10.1126/science.239.4837.288>.
- Havaux, M. (2014). Carotenoid oxidation products as stress signals in plants. *The Plant Journal*, 79, (4), 597–606. DOI: 10.1111/tpj.12386.
- Hernandez-Verdugo, S., Davila-Aranda, P., & Oyama, K. (1999). Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género' *Capsicum*. *Bol. Soc. Bol*, 64, 65-84.
- Hill, T.A., Ashrafi, H., Reyes-Chin-Wo, S., Ya, J., Stoffel, K., Truco, M.J., Kozik, A., Michelmore, R.W., & Van-Deynze, A. (2013). Characterization of *Capsicum annum* Genetic Diversity and Population Structure Based on Parallel Polymorphism Discovery with a 30K Unigene Pepper GeneChip. *PLoS ONE*, 8, (2), e56200. DOI:10.1371/journal.pone.0056200.
- Ibarra-Torres, P., Valadez-Moctezuma, E., Pérez-Grajales, M., Rodríguez-Campos, J., & Jaramillo-Flores, M.E. (2015). Inter- and intraspecific differentiation of *Capsicum annum* and *Capsicum pubescens* using ISSR and SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 181, 137–146. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.10.054>.
- Ibrahim, S.Y., & El-Salam, M.M.A. (2015). Anti-dermatophyte efficacy and environmental safety of some essential oils commercial and in vitro extracted pure and combined against four keratinophilic pathogenic fungi. *Environ. Heal. Prev. Med*, 20, (4), 279–286. DOI: 10.1007/s12199-015-0462-6.
- Ibrahim, M., Rabah, A.B., Liman, B., & Ibrahim, N.T. (2011). Effect of Temperature and Relative Humidity on the Growth of *Helminthosporium fulvum*. *Nigerian Journal of Basic and Applied Science*, 19, (1), 127- 129.
- Jaiswala, V., Rawoofa, A., Dubeya, M., Chhapekara, S., Sharmaa, V., & Ramchiarya, N. (2019). Development and characterization of non-coding

- RNA based simple sequence repeat markers in *Capsicum* species. *Genomics*, 112, (2), 1554-1564. DOI: 10.1016/j.ygeno.2019.09.005.
- Jelinek, C.F., Pohland, A.E., & Wood, G.E. (1989). Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds—an update. *J. Assoc. Off. Anal. Chem*, 72, (2), 223-30.
- Kim, M., Choi, G., & Lee, H. (2003). Fungicidal Property of *Curcuma longa* L. Rhizome-Derived Curcumin against Phytopathogenic Fungi in a Greenhouse. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, (6), 1578-1581.
- Kim, J., & Della-Penna, D. (2005). Defining the primary route for lutein synthesis in plants: The role of *Arabidopsis* carotenoid β -ring hydroxylase CYP97A3. *PNAS*, 103, (9), 3474-347.
- Krug, J.C. (2019). Moist chambers for the development of fungi. *Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods*, 19, 589-593. ISBN: 0125095511.
- Kumar, P., Mahato, D.K., Kamle, M., Mohanta, T.K., & Kang, S.G. (2016). Aflatoxins: A Global Concern for Food Safety, Human Health and Their Management. *Frontiers in Microbiology*, 17, (7), 2170. DOI: 10.3389/fmicb.2016.02170.
- Lee, H.S. (2007). Fungicidal property of active component derived from *Acorus gramineus* rhizome against phytopathogenic fungi. *Bioresource Technology*, 98, 1324–1328.
- Lee, H.S. (2005). Pesticidal Constituents Derived from *Piperaceae* Fruits. *Agric. Chem. Biotechnol*, 48, (2), 65-74.
- Leyva-Ovalle, O. R., Andrés-Meza, P., Del Valle-Hernández, D., Meneses-Márquez, I., Murguía-González, J., Galindo-Tovar, M. E., López-Sánchez, H., Serna-Lagunes, R., Del Rosario-Arellano, L., Lee-Espinoza, H. E., Sierra-Macías, M., & Espinosa-Calderón, A. (2018). Morphological characterization of manzano hot pepper (*Capsicum pubescens* Ruiz & Pav.) landraces in the central region of Veracruz state, México. *Revista Bio Ciencias*, 5, 1-11.

- Lu, Y., Lam, H., Pi, E., Zhan, Q., Tsai, S., Wang, C., Kwan, Y., & Ngai, S. (2013). Comparative metabolomics in *Glycine max* and *Glycine soja* under salt stress to reveal the phenotypes of their offspring. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*, (36), 8711–8721.
- Loures, F. V., & Levitz, S. M. (2015). XTT Assay of Antifungal Activity. *Bioprotocol*, *5*, (15), e1543. <https://doi.org/10.21769/bioprotoc.1543>.
- Manganyi, M.C., Regniera, T., & Olivier, E.I. (2015). Antimicrobial activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* isolates and their biofilms. *South African Journal of Botany*, *99*, 115-121.
- Mdee, L.K., Masoko, P., & Eloff, J.N. (2009). The activity of extracts of seven common invasive plant species on fungal phytopathogens. *South African Journal of Botany*, *75*, (2), 375–379. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2009.02.003>.
- Martínez, M.A., Evangelista, V., Basurto, F., Mendoza, M., & Cruz-Rivas, A. (2007). Flora útil de los cafetales en la Sierra Norte de Puebla, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, *78*, (1), 15-40.
- Musfiroh, I., Mutakin, M., Treesye, A., & Muchtaridi, M. (2012). Capsaicin level of various *Capsicum* fruits. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *5*, (1), 248-251.
- OuYang, Q., Duan, X., Li, L., & Tao, N. (2019). Cinnamaldehyde exerts its antifungal activity by disrupting the cell wall integrity of *Geotrichum citri-aurantii*. *Front Microbiol*, *10*, 55. DOI:10.3389/fmicb.2019.00055.
- Pacheco-Hernández, Y., Santamaría-Juárez, J.D., Hernández-Silva, N., Cruz-Durán, R., Mosso-González, C., & Villa-Ruano, N. (2021). Essential Oil of *Lepidium virginicum*: Protective Activity on Anthracnose Disease and Preservation Effect on the Nutraceutical Content of Tamarillo Fruit (*Solanum betaceum*). *Chem Biodivers*. *18*, (3), e2000941. DOI: 10.1002/cbdv.202000941.
- Pérez-Grajales, M., González-Hernández, V.A., Mendoza-Castillo, M.C., & Peña-Valdivia, C. (2004). Physiological Characterization of Manzano Hot Pepper

- (*Capsicum pubescens* R & P) Landraces. *J. AMER. SOC. HORT. SCI*, 129, (1), 88–92.
- Perricone, M., Arace, E., Corbo, M.R., Sinigaglia, M., & Bevilacqua, A. (2015). Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. *Front Microbiol*, 6, (76), 1-7.
- Pichersky, E., Noel, J.P., & Dudareva, N., (2006). Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. *Science*, 311, (5762), 808-11. DOI: 10.1126/science.1118510.
- Pino, J., Borges, P., Martinez Rios, M. A., Vargas, M., Flores Martinez, H., Martín del Campo, S., & Fuentes, V. (2002). Essential Oil of *Mentha piperita* L. Grown in Jalisco. *The Journal of Essential Oil Research*, 14, (3), 189-190. <https://doi.org/10.1080/10412905.2002.9699820>.
- Pinstrup-Andersen, P. (2009). Food security: Definition and measurement. *Food Sec*, 1, 5-7.
- Plooy, W., Regnier, T., & Combrinck, S. (2019). Essential oil amended coatings as alternatives to synthetic fungicides in citrus postharvest management. *Postharvest Biology and Technology*, 53, (3), 117–122. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.04.005>
- Pramila-Tripathi P., Yami H., & Shukla A.K. (2016). Impact of essential oils on growth of phytopathogenic fungi responsible for rotting of fruits. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 10, (2), 1-10, 2016.
- Putri, S.P., Nakayama, Y., Matsuda, F., Uchikata, T., Kobayashi, S., Matsubara, A., & Eiichiro, F. (2012). Current metabolomics: Practical applications. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, XX, (XX), 1-11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2012.12.007>.
- Quintana-Obregón, E.A., Plascencia-Jatomea, M., Burgos-Hernández, A., Figueroa-Lopez, P., & Cortez-Rocha, M.O. (2013). Isolation and identification of fungi from leaves infected with false mildew on safflower crops in the Yaqui Valley, Mexico. *Revista Mexicana de micología*, 37, 19-27.

- Ramírez, M., & Hernández, B. (2015) Plant-derived natural products from the american continent for the control of phytopathogenic fungi: a review. *Innov. Agric. Soc. Sci*, 3, (4), 96-118.
- Reis, M. (2013). Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases: A role for antioxidants., Chapter: 4. *Intech Publisher*, pp.87-112.
- Rodríguez-Burruezo, A., González-Mas, C., & Nuez, F. (2010). Carotenoid composition and vitamin A value in ají (*Capsicum baccatum* L.) and rocoto (*C. pubescens* R. & P.), 2 pepper species from the Andean region. *J Food Sci*, 75, (8), 446-53. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2010.01795. x.
- Roessner-Tunali, U., Hegemann, B., Lytovchenko, A., Carrari, F., Bruedigam, C., & Granot, D. (2003). Metabolic profiling of transgenic tomato plants overexpressing hexokinase reveals that the influence of hexosephosphorylation diminishes during fruit development. *Plant Physiology*, 133, (1), 84–99. DOI: 10.1104/pp.103.023572.
- Román-Arce, B., Quiroz-González, B., García-Mateos, R., Ybarra-Moncada, C., & Corrales-García, J. (2020). Nutraceutical value of fresh and dried chili (*Capsicum annum* L.) in different stages of maturity. *Bioagro*, 31, (2), 123-132.
- Saharkhiz, M.J., Motamedi, M., Zomorodian, K., Pakshir, K., Miri, R., & Hemyari, K. (2012). Chemical Composition, Antifungal and Antibiofilm Activities of the Essential Oil of *Mentha piperita* L. *ISRN Pharmaceutics*, 2012, (2012), 718645. DOI: 10.5402/2012/718645.
- Sánchez, C. (2002). Compuestos polifenólicos: estructura y clasificación: presencia en alimentos y consumo: biodisponibilidad y metabolismo. *Alimentaria*, 329, 19-28.
- Sandoval-Chávez, R.A., Martínez-Peniche, R.Á., Hernández-Iturriaga, M., Teixidó-Espasa, N., Usall-Rodié, J., Viñas-Almenar, I., & Torres-Sanchis, R. (2015). Mechanisms of resistance in postharvest fruit-pathogen interaction, Mexico. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 21, (3), 185-198. DOI: 10.5154/r.rchsh.2014.11.050.

- Sanati, S., Razavi, B.M., & Hosseinzadeh, H. (2017). A review of the effects of *Capsicum annuum* L. and its constituent, capsaicin, in metabolic syndrome. *Med Sci.* 21, 439-448.
- Santamarina, M.P., Ibáñez, M.D., Marqués, M., Roselló, J., Giménez, S., & Blázquez M.A. (2017). Bioactivity of essential oils in phytopathogenic and post-harvest fungi control. *Natural Products Research*, 31, (22), 2675-2679. DOI: 10.1080/14786419.2017.1286479.
- Sefu, G., Satheesh, N., & Berecha, G. (2015). Effect of essential oils treatment on anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) disease development, quality and shelf life of mango fruits (*Mangifera indica* L). *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environment Sciences*, 15, 2160-2169.
- Shin, J.H., Han, J.H, Lee, J.K., & Kim K.S. (2014). Characterization of the maize stalk rot pathogens *Fusarium subglutinans* and *F. temperatum* and the effect of fungicides on their mycelial growth and colony formation. *Plant Pathol. J.* 30, (4), 397-406. DOI: 10.5423/PPJ.OA.08.2014.0078.
- Sukrasno, N., & Yeoman, M. (1993). Phenylpropanoid metabolism during growth and development of *Capsicum frutescens* fruits. *Phytochemistry*, 32, (4), 839-844.
- Tapwal, A., Garg, S., Gautam, N., & Kumar, R. (2011). In Vitro antifungal potency of plant extracts against five phytopathogens. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54, (6), 1093-1098.
- Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, (9), 853-876.
- Tripathi, P., Dubey, N.K., & Shukla, A.K. (2008). Use of some essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of grey mould of grapes caused by *Botrytis cinérea*. *World J Microbiol Biotechnol*, 24, 39–46.
- Tullio, V., Roana, J., Scalas, D., & Mandras, N. (2019). Evaluation of the Antifungal Activity of *Mentha x piperita* (Lamiaceae) of Pancalieri (Turin,

- Italy) Essential Oil and Its Synergistic Interaction with Azoles. *Molecules*, 24, (17), 3148.
- Vallejo-Gutiérrez, A.J., Mejía-Carranza, J., & García-Velasco, R. (2018). Response of *Capsicum pubescens* genotypes to damage caused by the fungal wilt complex. *Mexican Journal of Phytopathology*, 37, (1), 50-70.
- Viant, M. R. (2003). Improved methods for the acquisition and interpretation of NMR metabolomic data. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 310, (3), 943–948.
- Villalon-Mendoza, H., Medina-Martinez, T., Ramirez-Meraz, M., Solis-Urbina, S.E., & Maiti, R. Factors Influencing the Price of Chile Piquin wild Chili (*Capsicum annuum* L. var. *Glabriusculum*) of North-east Mexico. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 5, (1), 128-131.
- Villamizar, V. E. M., Suárez, L. E. C., & Jiménez, K. (2020). Usos en medicina folclórica, actividad biológica y fitoquímica de metabolitos secundarios de algunas especies del género *Zanthoxylum*. *Duazary*, 4, 140–159.
- Villa-Ruano, N., Pacheco-Hernández, Y., Rubio-Rosas, E., Lozoya-Gloria, E., Mosso-González, C., Ramón-Canúl, L.G., & Cruz-Durán, R. (2015) Essential oil composition and biological/pharmacological properties of *Salmea scandens* (L.) DC. *Food Control*, 57, 177–184.
- Villa-Ruano, N., Pacheco-Hernández, Y., Rubio-Rosas, E., Cruz-Durán, R., & Lozoya-Gloria, E. (2017). Essential oil composition, carotenoid profile, antioxidant and antimicrobial activities of the parasitic plant *Cuscuta mitraeformis*. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat*, 16, (5), 463 – 470.
- Villa-Ruano, N., Ramírez-Meraz, M., Méndez-Aguilar, R., Zepeda-Vallejo, L.G., Álvarez-Bravo, A., García-Nava, M.L., & Becerra-Martínez, E. (2019). ¹H NMR-based metabolomics profiling of ten new races from *Capsicum annuum* cv. serrano produced in Mexico. *Food Research International*. 119, 785-792.
- Wei, J., Bi, Y., Xue, H., Wang, Y., Zong, Y., & Prusky, D. (2020). Antifungal activity of cinnamaldehyde against *Fusarium sambucinum* involves

- inhibition of ergosterol biosynthesis. *Journal of Applied Microbiology*, 129, (2), 256-265.
- Wilson, R.A., & Talbot, N.J. (2009). Under pressure: investigating the biology of plant infection by *Magnaporthe oryzae*. *Nat Rev Microbiol*, 7, 185–195. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2032>.
- Williams, L.R., Stockley, J.K., Yan, W., & Home, V.N. (1998). Essential oils with high antimicrobial activity for therapeutic use. *International Journal of Aromatherapy*, 8, 30-40.
- Wurtzel, E.T. (2019). Changing Form and Function through Carotenoids and Synthetic Biology. *Plant Physiology*, 179, (3), 830–843. <https://doi.org/10.1104/pp.18.01122>.
- Yang, X.N., Imran-Khan, I., & Kang, S.C. (2015). Chemical composition, mechanism of antibacterial action and antioxidant activity of leaf essential oil of *Forsythia koreana* deciduous shrub. *Asian Pac. J. Trop. Biomed*, 8, 694–700.
- Yamamoto, S., Djarwaningsih, T., & Wiriadinata, H. (2013). *Capsicum pubescens* (Solanaceae) in Indonesia: Its History, Taxonomy, and Distribution. *Economic Botany*, 67, (2), 161–170.
- Yap, P.S.X., Yiap, B.C., Ping, H.C., & Lim, S.H.E. (2014). Essential oils, a new horizon in combating bacterial antibiotic resistance. *The Open Microbiology Journal*, 8, 6-14. DOI: 10.2174/1874285801408010006.
- Young, A.J. (1991). The photoprotective role of carotenoids in higher plants. *Physiologia plantarum*, 83, 702-708.
- Zhang, Z., Chen, Y., Li, B., Chen, T., & Tian, S. (2020). Reactive oxygen species: A generalist in regulating development and pathogenicity of phytopathogenic fungi. *Comput Struct Biotechnol J*, 4, (18), 3344-3349. DOI: 10.1016/j.csbj.2020.10.024.
- Zheng, J., Liu, T., Guo, Z., Zhang, L., Mao, L., Zhang, Y., & Jiang, H. (2018). Fumigation and contact activities of 18 plant essential oils on *Villosiclava*

virens, the pathogenic fungus of rice false smut. *Sci Rep*, 9, 7330.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-43433-x>.

ANEXO 1

Cuestionario

El presente cuestionario busca recolectar información útil para la realización de un trabajo de investigación cuyo objetivo es conocer la situación actual de la producción del chile manzano en el municipio de Yaonáhuac, Puebla. La información recabada no será utilizada con fines de lucro, religioso o de partidismo político. La información será tratada como **confidencial** y únicamente será empleada por personal perteneciente a la Maestría en Ciencias en Manejo Sostenible de Agroecosistemas (MaSAgro) de la BUAP. De antemano agradecemos su disponibilidad y tiempo para compartir esta información

CUESTIONARIO PARA PRODUCTORES AGRÍCOLAS

Cuestionario No. _____ Fecha: _____

Nombre del (la) entrevistador(a): _____

Nombre del entrevistado: (NO APLICABLE) Edad: (NO APLICABLE)

Dirección: (NO APLICABLE) Número de teléfono: (NO APLICABLE)

Lugar: _____ Sexo: 1. F () 2. M () Último grado de estudios: : (NO APLICABLE)

Número de integrantes (familia nuclear):

¿Porque motivo se empezó a cultivar el chile manzano en esta zona?

¿Porque lo siguen cultivando?

¿Qué otros cultivos tienen aparte del chile manzano?

¿Cosechan para sus propias familias o solo para vender?

¿Qué superficie cultiva en total? (ha) _____

¿Existen más productores que cultivan en campo o en invernadero?

¿En invernadero cuantas toneladas se obtienen por temporada?

¿En campo abierto cuantas toneladas se obtienen por temporada?

Si es en campo ¿Qué árboles frutales se utilizan en asociación (policultivo) con el chile manzano?

No.	Ubicación de la parcela (nombre del lugar)	Superficie de terreno (ha)	Años que lleva cultivando el terreno	¿Cómo considera la fertilidad de su terreno?			
				Malo	Regular	Bueno	Excelente
1							
2							
3							
4							

¿En estos momentos se vende bien el chile manzano?

¿Comercializa sus productos a nivel Local, Estatal, Nacional o Internacional?

¿Qué otros cultivos producen en su terreno al año?

¿Qué cultivo es el de mayor importancia para usted dentro de su terreno?

¿Qué importancia tiene el chile manzano para el productor (valor económico y de consumo con respecto a otros cultivos)?

¿Utiliza maquinaria y cuál?

¿A cuánto asciende del uso de maquinaria para la preparación del suelo? \$ ____

Insumos químicos u orgánicos que utiliza:

Nombre del producto (marca)	Fertilizante	Herbicida	Insecticida	Fungicida	Cantidad de producto/ha	Costo de producto (litro;bulto)	Costo para la aplicación/ha	Veces que aplica por ciclo de cultivo/año	Químico	Orgánico
1						\$	\$			
2						\$	\$			
3						\$	\$			
4						\$	\$			
5						\$	\$			

6						\$	\$			
7						\$	\$			

¿Qué insecticidas y fungicidas utiliza en el cultivo de chile manzano?

¿Durante cuantos años se han utilizado estos productos (químicos) en el cultivo?

¿A cuántas hectáreas se les aplica el insecticida y fungicida y cuantas hectáreas posee en total?

¿Qué impacto económico representa para usted utilizarlo (sustancias químicas, obtener costo si es posible)?

¿Utilizan algún método en específico para combatir las plagas y enfermedades en los cultivos de chile manzano?

¿Qué tan efectivo es?

¿Cuál es su costo?

¿Utiliza algún método relacionado al manejo integrado de plagas para el cultivo de chile manzano?

¿Qué hongo(s) es el más común que ha podido observar (describir color y que estructura vegetal ataca)?

¿Las plagas representan un riesgo importante para el cultivo y si es así cual (insecto) es la de mayor impacto?

¿El impacto de los hongos en los cultivos se ha incrementado en los últimos años?

¿Qué fertilizantes se utilizan para producir chile manzano?

¿Su producción representa grandes gastos (obtener cifra especifica si es posible)?

¿Emplea mano de obra familiar (F) o Jornales (J)? ¿Cuánto cobra un jornal/día?
\$ _____

¿Cuántos jornales contrata aproximadamente durante el ciclo de cultivo?

¿Cuál es el ingreso aproximado que puede generar la venta en un mes?
\$ _____

Recurso Agua

Cultivo	Costo de Agua de Riego	Veces que riega por ciclo de cultivo/año
1	\$	
2	\$	
3	\$	
4	\$	
5	\$	
6	\$	
7	\$	

22.- Problemas agrícolas

Cultivo	Pérdidas por							Con qué frecuencia
	Exceso de lluvia	Sequias	Granizo	Plagas	Enfermedades	Hongos	Otro:	
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								

ANEXO 2

1. Secuenciación del ITS

ID	Identificado como	Total, de bases comparadas	Query coverage %	Máxima identidad %	Secuencia
CP O1	<p><i>Cylindrobasidium torrendii</i></p> <p>Secuencia más cercana:</p> <p>LOCUS MH863803 915 bp DNA linear PLN 09-DEC-2020</p> <p>DEFINITION <i>Cylindrobasidium torrendii</i> strain CBS 125844 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.</p>	788	99	100	<p>>CPO1</p> <p>TCGTAACAAGGTTTCCGTAGGT GAACCTGCGGAAGGATCATT ATGAAATAATACTTTGCAGCTT CAAGTTGTTGCTGGTCTCTAAA AAAGACATGTGCACACTTGTG TTGTGAATATTCATCCACCTGT GCACTTCTGTAAGTCTGGATAA CTATCGCAAATTTATTTTGTG GTTTGAAAGTTGCTTTTAAAG CTCCTTTTGACTTTCCAGACTT ATGAATTCATATACTCTTGATG TCTTGAATGTCTTGTACTGG ACTTATGTCCTCTAAAATATAT ACAACCTTTCAACAACGGATCTC TTGGCTCTCGCATCGATGAAGA ACGCAGCGAAATGCGATAACT AATGTGAATTGCAGAATTCAGT GAATCATCGAGTCTTTGAACGC ACCTTGCGCCCTCTGGTATTCC GGAGGGCATGCCTGTTTGAGT GTCAGTAAATTCTCAACCTCTC ATGCTTTGTTGGCATTGAGTGG ATTGGATATGGAGGCTTGCTG GATTTTATTCAGCTCCTCTAAA ATATATTAGCAGAAACCATTGC TAAGGTTTACTGCAGCCGTGTG ATAATTATCTTACGGTTGAAGT AAATATTTAGTTTGTCTCACTTT TGGTTTGAAGAGATGCTCTTTG AGCTCCCTTTGCTTTTCTCTCT TCGGAGTGATACTTATCCAAGT GTAGATTTTAAATGGGTCTTATT CAGCTTCTAATCATCTGGAAAC AGATAATACTTGACCATTTGGC CTCAAATCAGGTAGGACTACCC GCTGAACTTAAGCATATC</p>

CP O2	<p><i>Fusarium sambucinum</i></p> <p>Secuencia más cercana:</p> <p>LOCUS MT566457 574 bp DNA linear PLN 10-JUN-2020</p> <p>DEFINITION <i>Fusarium sambucinum</i> isolate N-27-1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.</p>	551	100	100	<p>>CPO2</p> <p>TGGAAGTAAAAAGTCGTAACAA GGTCTCCGTTGGTGAACCAGC GGAGGGATCATTACCGAGTTTA CAACTCCCAAACCCCTGTGAAC ATACCTTTATGTTGCCTCGGCG GATCAGCCCGTTCCTCGGAAC GGCCCGCCGCAGGACCCTAAA CTCTGTTTTTGTGGAAGTTCT GAGTAAAAAAACAAATAAATCA AAACTTTCAACAACGGATCTCT TGTTCTGGCATCGATGAAGAA CGCAGCAAATGCGATAAGTAA TGTGAATTGCAGAATTCAGTGA ATCATCGAATCTTTGAACGCAC ATTGCGCCCGCCAGTATTCTG GCGGGCATGCCTGTTTCGAGCG TCATTTCAACCCTCAAGCCCAG CTTGGTGTGGGAGCTGTCGT CTGACTCCCCAAATACATTG GCGGTCACGTCGAGCTTCCAT AGCGTAGTAATTTACACATCGT TACTGGTAATCGTCGCGGCCA CGCCGTTAAACCCCAACTTCTG AATGTTGACCTCGGATCAGGTA GGAATACCCGCTGAACTTAAG CATATCAATA</p>
----------	---	-----	-----	-----	--

CP O3	<p><i>Cylindrobasidium torrendii</i></p> <p>801</p> <p>99</p> <p>100</p> <p>>CPO3</p> <p>Secuencia más cercana:</p> <p>LOCUS MH863803 915 bp DNA linear PLN 09-DEC-2020</p> <p>DEFINITION <i>Cylindrobasidium torrendii</i> strain CBS 125844 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.</p>				<p>GAGGAAGTAAAAGTCGTAACAA GGTTTCCGTAGGTGAACCTGC GGAAGGATCATTAAATGAAATA TACTTTGCAGCTTCAAGTTGTT GCTGGTCTCTAAAAAGACATG TGCACACTTGTGTTGTGAATA TTCATCCACCTGTGCATTCTG TAAGTCTGGATAACTATCGCAA AATTTATTTTGTGGTTTGAAAG GTTGCTTTTAAAGCTCCTTTTG ACTTTCCAGACTTATGAATCA TATACTCTTGATGTCTTGAAT GTCTTGTTTACTGGACTTATGT CCTCTAAAACATATACAACCTT CAACAACGGATCTCTTGGCTCT CGCATCGATGAAGAACGCAGC GAAATGCGATAACTAATGTGAA TTGCAGAATTCAGTGAATCATC GAGTCTTTGAACGCACCTTGC GCCCTCTGGTATTCCGGAGGG CATGCCTGTTTGAGTGTCAGTA AATTCTCAACCTCTCATGCTTT GTTGGCATTGAGTGGATTGGAT ATGGAGGCTTGCTGGATTTTAT TCAGCTCCTCTAAAATATATTA GCAGAAACCATTGCTAAGGTTT ACTGCAGCCGTGTGATAATTAT CTTACGGTTGAAGTAAATATTT AGTTTGTCTCACTTTTGGTTTG AAGAGATGCTCTTTGAGCTCCC TTTGCTTTTCTCTTCCGGAGT GATACTTATCCAAGTGTAGATT TTTAATGGGTCTTATTCAGCTT CTAATCATCTGGAAACAGATAA TACTTGACCATTTGGCCTCAA TCAGGTAGGACTACCCGCTGA ACTTAAGCATATC</p>
----------	--	--	--	--	--

CP O4	<p><i>Fusarium</i> sp.</p> <p>Secuencia más cercana:</p> <p><i>Fusarium</i> sp.</p> <p>LOCUS MW067646 572 bp DNA linear PLN 12-OCT-2020</p> <p>DEFINITION <i>Fusarium</i> sp. isolate NRS-23 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.</p> <p>ACCESSION MW067646</p>	572	100	100	<p>>CPO4</p> <p>TGGAAGTAAAAGTCGTAACAAG GTCTCCGTTGGTGAACCAGCG GAGGGATCATTACCGAGTTTAC AACTCCCAAACCCCTGTGAACA TACCAATTGTTGCCTCGGCGG ATCAGCCCGCTCCCGGTAATA CGGGACGGCCCGCCAGAGGA CCCCTAAACTCTGTTTCTATAT GTAACCTCTGAGTAAAACCATA AATAAATCAAACTTTCAACAA CGGATCTCTTGGTTCTGGCATC GATGAAGAACGCAGCAAAATG CGATAAGTAATGTGAATTGCAG AATTCAGTGAATCATCGAATCT TTGAACGCACATTGCGCCCGC CAGTATTCTGGCGGGCATGCC TGTTTCGAGCGTCATTTCAACCC TCAAGCCCAGCTTGGTGTGG GACTCGCGAGTCAAATCGCGT TCCCCAAATTGATTGGCGGTCA CGTCGAGCTTCCATAGCGTAG TAGTAAAACCCTCGTTACTGGT AATCGTCGCGGCCACGCCGTT AAACCCCAACTTCTGAATGTTG ACCTCGGATCAGGTAGGAATA CCCCTGAACTTAAGCATATCA ATAAGCGGAGGAA</p>
----------	--	-----	-----	-----	---

2. Secuenciación del gen TEF

ID	Identificado como	Total, de bases comparadas	Quer y coverage %	Máxima identidad %	Secuencia
CPO2	<p><i>Fusarium sambucinum</i></p> <p>Secuencia más cercana:</p> <p>MK752457 600 bp DNA linear PLN 27-JAN-2020</p> <p>DEFINITION <i>Fusarium sambucinum</i> isolate 15B translation elongation factor 1-alpha (TEF1) gene, partial cds.</p>	620	89	100	<p>>CPO2 CAAGTCGACCACTGTAAGTTG ACCCAAATCTAAGCTCGCCTA CAATTGGCGGGGTAGCCTCAA GATACGCTTGTGCTGACATAC ATCATAGACCGGTCACTTGAT CTACCAGTGCGGTGGTATCGA CAAGCGAACCATCGAGAAGTT CGAGAAGGTTGGTCTCATTTT CCTCGATCGCGCGCCCTACTT TCCATCGATCCATCATTCTGAAT CGCTCTGATACGACTCGACAC ACGCCTGCTACCCCGCTCGAG TTCAAAAATTTTACGACTTTGT CGTAATTTTTTTGGTGGGGCT CATACCCCGCCACTTGAGCGA CATGCCCTTCTCCAAAGCCA CGGGCGCGCATCATCACGTGT TGATCAGTTACTAACAACCTGT CAATAGGAAGCCGCGGAGCTC GGTAAGGGTTCTTCAAGTAC GCTTGGGTTCTTGACAAGCTC AAAGCCGAGCGTGAGCGTGG TATCACCATCGATATCGCTCTC TGGAAGTTGAGACTCCTCGC TACTATGTCACCGTCATTGGTA TGTTGTCACTACCACCTCCAT CACATTCCCGCACTAATTCAC CTATCAGACGCTCCCGGTCAC CGTGATTTTCATCAAGAACATG ATCACTG</p>
CPO4	<p><i>Fusarium temperatum</i></p> <p>Secuencia más cercana:</p> <p>LOCUS KC964112 705 bp DNA linear PLN 22-MAY-2013</p> <p>DEFINITION <i>Fusarium temperatum</i> strain M18062 translation elongation factor 1-alpha gene, partial cds.</p>	671	98	100	<p>>CPO4 GGAGGTACCAGTGATCATGTT CTTGATGAAGTCACGATGACC GGGAGCGTCTGAGTGATATGT TAGTACGAATTAAGGGAGAAC GAGGCATGAGCGACAACATAC CAATGACAGTGACATAGTAGC GAGGAGTCTCGAACTTCCAGA GAGCAATATCGATGGTGATAC CACGCTCACGCTCGGCCTTGA GCTTGTCAAGAACCCAGGCGT ACTTGAAGGAACCCCTTACCGA GCTCAGCGGCTTCTATTGAC GAATGGTTAGTACTGCTTAA CACGTGACGATGCGCTCAGAA GTTTGTGGCAATGGGAGGGC AGAAACGCGCATTGCTCGAGT GGCGGGTAAATGCCCCACC AAAAAATTACGGTCATATCGC AAATTTTTTGGTCTCGAGCGG GGTAGCGGGCACGTTTTGAGT CGTATGGAGAATCGATGGGCA AAGGACGCGGATCGAAGGG AAAGTAACTAACCTTCTCGAAC TTCTCGATGGTTCGCTTGTCG ATACCACCGCACTGGTAGATC AAGTGACCGGTCTGTGAAGCG ATGTCAGCATGTTATCTTTTGA GATGCCCGCCAGGCTTGGTC GGGATAACGATGGCAGATAAG CTCATCGTCGAGGGTAGTACT</p>

					CACAGTGGTCTGACTTGCCAGA GTCTGACGTGGCCGATGACGA
CPO5	<p><i>Clonostachys rosea</i></p> <p>Secuencia más cercana:</p> <p>LOCUS KX184998 419 bp DNA linear PLN 12-DEC-2016</p> <p>DEFINITION <i>Clonostachys rosea</i> f. <i>rosea</i> strain CML 2310 translation elongation factor 1-alpha (<i>tef1</i>) gene, partial cds.</p>	416	95	99.75	<p>>CPO5 CCTATCGTGCGGCGACTCGCA TCTCGCCCTGGGCATTTTTTG TGCCCTCTTACCCCTCCTCA AAAAGTTCAATTTTTTTGTGGC CCATTTTAGTGGGGCCACAAC CCCGCCACAGTTATCGATACA ATTCTCAAGGAAGGCACATGC TGACAATGACCAAACAGGAAG CCGCTGAACTCGGCAAGGGTT CCTTCAAGTACGCATGGGTCC TTGACAAGCTCAAGGCCGAGC GTGAGCGTGGTATCACCATCG ATATCGCTCTGGAAGTTCCG AGACTCCCAAGTACCAGGTCA CCGTCATTGGTATGTGGTTGC ACCTATGTTGTGTGTTGCAAA GGCATGTTGACTAACTGATAC CCCACAGACGCTCCCGGTCAC CGTGATTTTCATCAAGAACATG ATCACTGGTACCTCCA</p>

ANEXO 3

Productos generados

1.-Constancia de Congreso Nacional e Internacional de Fitogenética.



La Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. y la Universidad Veracruzana otorgan a:

Marco Antonio Kevin Pérez-Vázquez

la presente **CONSTANCIA DE PRESENTACIÓN ORAL** del trabajo:

**USO DE ACEITES ESENCIALES EN EL TRATAMIENTO DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN FRUTOS DE CHILE
MANZANO (*Capsicum pubescens*)**

Marco Antonio Kevin Pérez-Vázquez y Nemesio Villa-Ruano

durante el **XXVIII Congreso Nacional y VIII Internacional de Fitogenética**, celebrado (virtual) en Peñuela, Amatlán de los Reyes, Veracruz del 20 al 24 de septiembre 2021.


Dra. Margarita Tadeo Robledo
Presidenta
Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C.


Dra. Yaqueline Antonia Gheno Heredia
Presidenta del Comité Organizador Local
Universidad Veracruzana


Dr. Otto Raúl Leyva Ovalle
Secretario del Comité Organizador Local
Universidad Veracruzana

Fecha de expedición: 24 de septiembre del 2021

Cadena original: CV21-044A258024092021/USODEACEITSESENCIALPEREZVAZQUEZ

Autenticidad: 2d3bf94008d213cc5f21e6711e42e93e67c06

2.- Aceptación del artículo: First Report of *Fusarium temperatum* Causing Fruit Blotch of *Capsicum pubescens* in Puebla, México.

Journal: Plant disease.



Plant Disease Home About Submit Journals Books Publisher's Home

< Previous

Next >



First report of *Fusarium temperatum* causing fruit blotch of *Capsicum pubescens* in Puebla, México

Marco Antonio Kevin Pérez-Vasquez, Luis Angel Morales Mora, Omar Romero Arenas, Antonio Rivera, Gerardo Landeta-Cortés , and Nemesio Villa-Ruano

Published Online: 16 Nov 2021 | <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-21-1941-PDN>

PDF PDF PLUS

TOOLS SHARE

Abstract

Puebla is one of the provinces in Mexico that produces manzano pepper (*Capsicum pubescens*). Recently, the producers of manzano pepper from the northern highlands of Puebla reported an aggressive fruit blotch that caused severe damage and substantial economic losses. Symptoms were rot spots with mycelial growth at the center of the spot, necrosis in the periphery, a change in

3.-Aceptación del artículo: Peppermint essential oil and its major volatiles as protective agents against soft rot caused by *Fusarium sambucinum* in cera pepper (*Capsicum pubescens*).

Journal: Chem. Biodiversity.

Chem. Biodiversity

**Peppermint essential oil and its major volatiles as protective agents
against soft rot caused by *Fusarium sambucinum* in cera pepper
(*Capsicum pubescens*)**

Marco Antonio Kevin Pérez-Vázquez,^a Yesenia Pacheco-Hernández,^b Edmundo Lozoya-Gloria,^c
Clemente Mosso-González,^d Sergio A. Ramírez-García,^e Omar Romero-Arenas,^{a*} Nemesio Villa-
Ruano,^{f*}

^a Centro de Agroecología, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), Km 1.7, carretera a San Baltazar Tetela, San Pedro Zacachimalpa, CP. 72960, Puebla, México

^b Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada-IPN, ex-hacienda San Juan Molino carretera estatal Tecuexicomac-Tepetitla Km 1.5, CP 90700, Tlaxcala, México.

^c Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Unidad Irapuato, Km 9.6 Carretera Irapuato-León, CP 36824, Irapuato, Guanajuato, México

^d CONACyT-Centro Regional de Investigación en Salud Pública (CRISP), 4a. Av. Nte. esquina 19, Norte, Centro, CP 30700 Tapachula, Chiapas, México

^e Universidad de la Sierra Sur, Guillermo Rojas Mijangos, Col. Ciudad Universitaria, CP 70800 Miahuatlán de Porfirio Díaz, Oaxaca, México

^f CONACyT-Centro Universitario de Vinculación y Transferencia de Tecnología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Prolongación de la 24 Sur y Av. San Claudio, Ciudad Universitaria, Col. San Manuel, 72570 Puebla, México

*Correspondence: biol.ora@hotmail.com

*Correspondence: pecho82@yahoo.com.mx

Cera pepper (*Capsicum pubescens*) is an exotic fruit considered as a rich source of nutraceuticals with known benefits for human health and also an economic resource for local producers in Mexico. The present investigation reports on the *in vitro* and *in situ* antifungal activity of the essential oil from *Mentha piperita* and its two major volatiles (menthol and menthone) against *Fusarium sambucinum*, which is a causal



BUAP