



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

INSTITUTO DE HORTICULTURA

**EXTRACTOS DE PLANTAS PARA EL CONTROL DE
ANTRACNOSIS EN *Carica papaya* DURANTE EL PERÍODO DE
FLORACIÓN Y POSCOSECHA**

TESIS

Que como requisito parcial

para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA



Presenta:

JUAN VÁZQUEZ SÁNCHEZ

DIRECCION GENERAL ACADEMICA
CENTRO DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

Bajo la supervisión de:

MARÍA DEL ROSARIO GARCÍA MATEOS, DOCTORA



CHAPINGO EDO. MEX JULIO 2017

Extractos de plantas para el control de Antracnosis en *Carica papaya* durante el período de floración y poscosecha

Tesis realizada por Juan Vázquez Sánchez bajo la dirección del comité asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR: _____



Dra. María del Rosario García Mateos

ASESOR: _____



Dr. Marcelo Acosta Ramos

ASESOR: _____



Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez

ASESOR EXTERNO: _____



Dra. Ma. Antonia Pérez Olvera

Extractos de plantas para el control de Antracnosis en *Carica papaya* durante el período de floración y poscosecha

Plant extracts for anthracnose control on *Carica papaya* during blooming period and postharvest stage

RESUMEN

La enfermedad conocida como antracnosis, causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* L., es responsable de pérdidas cuantiosas en la producción de papaya (*Carica papaya* L.). Una alternativa para su control es el uso de extractos de plantas. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la actividad fungistática *in vitro* de los extractos hexánicos y metanólicos de *Argemone ochroleuca*, *Datura stramonium*, *Equisetum arvense*, *Malva parviflora*, *Phytolacca icosandra* y *Solanum rostratum*, en el cultivo papaya cv. Maradol (*Carica papaya*) *in vitro*, *in vivo* (durante el período de floración y poscosecha). Se realizó análisis de varianza y comparación de las medias de Tukey ($P \leq 0.05$). El análisis fitoquímico de extractos de especies identificó la presencia de flavonoides en *S. rostratum* y *E. arvense*; Alcaloides en *D. stramonium*, *M. parviflora* y *A. ochroleuca*; Y terpenoides en plantas de *P. icosandra*. LA CUAL mostró LA mayor efectividad biológica *in vitro* contra el hongo *C. gloeosporioides*. de las especies restantes, se observó la misma tendencia en la etapa de floración con eficacia de 60-70 %, donde las flores mostraron necrosis y pudrición (síntomas típicos de la enfermedad) y 71.4 % en el control de antracnosis en frutos poscosecha. **Palabras clave:** *Carica papaya*, *Colletotrichum gloeosporioides*, período de floración, extractos vegetales, actividad fungistática, poscosecha.

ABSTRACT

The disease known as anthracnose, caused by *Colletotrichum gloeosporioides* L. fungus, is responsible for important losses in papaya production (*Carica papaya* L.). An alternative for the control of *C. gloeosporioides* is the use of plant extracts. The objective of this research was to evaluate the fungistatic activity of hexanic and methanolic extracts of *Argemone ochroleuca*, *Datura stramonium*, *Equisetum arvense*, *Malva parviflora*, *Phytolacca icosandra* and *Solanum rostratum* papaya fruit cv. Maradol (*Carica papaya*) both, *in vitro* and *in vivo* during blooming period and postharvest stage. Evaluated variables were inhibition percentage and biological effectiveness for *in vitro* assessment; incidence and biological effectiveness for field crop flowering stage evaluation; severity and effectiveness for postharvest fruits evaluation. An analysis of variance and comparison of Tukey ($P \leq 0.05$) means was performed. Species' extracts phytochemical analysis identified the presence of flavonoids in *S. rostratum*, and *E. arvense*; alkaloids in *D. stramonium*, *M. parviflora*, and *A. ochroleuca*; and terpenoids in *P. icosandra* plants. *P. icosandra* methanolic extract shown greater *in vitro* biological effectiveness against *C. gloeosporioides* fungus from remaining species, same trend was observed in blooming stage with a 60-70 % effectiveness, where the flowers showed necrosis and rot (typical symptoms of the disease) and 71.4 % in the control of anthracnose in postharvest fruits. **Keywords:** *Carica papaya*, *Colletotrichum gloeosporioides*, blooming period, vegetal extracts, fungistatic activity, postharvest.

CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN GENERAL	- 5 -
1.1	OBJETIVO GENERAL	- 7 -
	Objetivos específicos	- 7 -
2	REVISIÓN DE LITERATURA	- 8 -
2.1	Importancia	- 8 -
2.2	Principales plagas y enfermedades del cultivo de papaya.....	- 8 -
2.2.1	Pudrición de tallo	- 10 -
2.2.2	Cenicilla	- 11 -
2.2.3	Tizón.....	- 12 -
2.2.4	Damping off	- 13 -
2.2.5	Antracnosis	- 14 -
2.3	Extractos vegetales	- 29 -
2.3.1	Metabolitos secundarios	- 31 -
2.3.2	Plaguicidas botánicos	- 44 -
2.3.3	Plantas seleccionadas para el estudio	- 47 -
3	PUBLICACION.....	- 54 -
3.1	Introducción.....	- 54 -
3.2	Materiales y métodos	- 56 -
3.2.1	Colecta del material y preparación de los extractos	- 56 -

3.2.2	Cultivo de papaya para los bioensayos en pre y poscosecha	- 57 -
3.2.3	Aislamiento y caracterización de <i>C. gleosporioides</i>	- 57 -
3.2.4	Identificación Molecular	- 58 -
3.2.5	Bioensayo de sensibilidad <i>in vitro</i>	- 58 -
3.2.6	Efectividad biológica en etapa de floración	- 59 -
3.2.7	Efectividad biológica en frutos poscosecha.....	- 60 -
3.2.8	Análisis fitoquímico	- 61 -
3.3	Resultados y discusión.....	- 61 -
3.3.1	Caracterización de <i>C. gleosporioides</i>	- 61 -
3.3.2	Bioensayo de sensibilidad	- 63 -
3.3.3	Evaluación en floracion	- 65 -
3.3.4	Poscosecha	- 68 -
3.3.5	Análisis fitoquímico	- 70 -
4	CONCLUSIONES	- 74 -
5	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	- 75 -

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Actividad biológica de seis especies vegetales seleccionadas para el presente estudio	- 7 -
------------------	---	-------

Cuadro 2. Número estimado de metabolitos secundarios descritos y sus funciones principales para las plantas que los producen.....	- 33 -
Cuadro 3. Principales tipos de alcaloides y sus aminoácidos precusores.....	- 43 -
Cuadro 4. Actividad biológica de extractos de especies de <i>Argemone</i> sp.....	- 49 -
Cuadro 5. Actividad biológica de extractos de especies de <i>Solanum rostratum</i>	- 50 -
Cuadro 6. Actividad biológica de extractos de especies de <i>Datura stramonium</i>	- 52 -
Cuadro 7. Actividad biológica de extractos de especies de <i>Malva parviflora</i>	- 53 -
Cuadro 8. Actividad biológica de extractos de especies de <i>Phytolacca icosandra</i>	- 54 -
Cuadro 9. Características geográficas de los sitios de recolecta de seis especies vegetales (2016).	- 56 -
Cuadro 10. Comparación de medias del halo de inhibición de <i>C. gloeosporoides</i> de los extractos metanólicos de seis especies vegetales	- 65 -
Cuadro 11. Número de flores con síntomas típicos de <i>C. gloeosporoides</i> después de la aplicación de los tratamientos	- 68 -
Cuadro 12. Comparación de medias de severidad y efectividad del extracto metanólico de <i>P. icosandra</i> en <i>C. gloeosporoides</i> en frutos de papaya.....	- 70 -
Cuadro 13. Análisis fitoquímico de los extractos metanólicos crudos	- 74 -

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Vista simplificada de las vías principales de los metabolitos secundarios, biosíntesis y sus interrelaciones con el metabolismo primario.....	- 35 -
Figura 2. Esquema de la biosíntesis de terpenoides.....	- 37 -
Figura 3. En las plantas superiores, la mayoría de los compuestos fenólicos se derivan de la fenilalanina, un producto de la vía del ácido shikímico.	- 41 -

Figura 4. Árbol filogenético construido con el método de Máxima Parsimonia, para la confiabilidad de los nodos, se consideraron 1000 repeticiones bootstrap. - 62 -

Figura 5. Amplificación de la región correspondiente al Espacio Transcrito Interno del DNA ribosomal de 450 pares de bases (bp) aproximadamente.MP. - 63 -

Figura 6. Número de flores con síntomas típicos de antracnosis en la evaluación a los 10 d después de la inoculación y aplicación del extracto - 67 -

Figura 7. Comparación de medias de eficacia y crecimiento micelial del extracto metanólico de *P. icosandra* en flores de papaya infestadas con *C. gloeosporoides*.- 68 -

-

Figura 8. Resultados de inoculación y aplicación a los 12 d de: A) *P. icosandra* (50 %); B) Testigo absoluto; C) Merivon®; D) Porgranic®Mega (Extracto de *Larrea tridentata*) .. - 70 -

1 INTRODUCCIÓN GENERAL

La papaya es uno de los seis frutos más cultivados en las zonas del trópico mexicano, independientemente de los beneficios como fuente de trabajo, derrama económica en la zona de cultivo, impacto positivo en la vida de los productores (Olvera *et al.*, 1999). México se situó como el quinto mayor productor con 836 370 t en 2014, contribuyendo con el 6.6 % de la producción mundial. El principal país exportador de papaya en el mundo en 2013 fue México con un volumen de 115 054 t, por tanto, contribuyó con 39.21 % de las exportaciones (FAO, 2017). En nuestro país se siembran alrededor de 17 512.60 ha de papayo al año, lo cual genera una derrama económica de 256 288.82 (miles de pesos).

Las enfermedades fungosas afectan severamente a los frutos de papaya (*Carica papaya* L.). Durante su conservación y comercialización ocasionan pérdidas entre el 5 y el 40 % de la producción total (Vázquez *et al.*, 2010)

Una de las enfermedades causantes de pudriciones de los frutos de papaya en poscosecha se deben a la presencia de los hongos: *Ascochyta caricae* Pat., *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. *Phytophthora palmivora* (Butl.) *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. y *Rhizopus stolonifer* (Vuill) (Bolkan *et al.*, 1976; Torres *et al.*, 2013).

El hongo *Colletotrichum gloeosporioides* genera la enfermedad conocida como antracnosis que tiene distribución mundial, especialmente en áreas húmedas y cálidas. bajo condiciones favorables para el crecimiento del hongo, los tejidos afectados se cubren con masas de esporas de color rosado (Menezes y Hanlin, 1996; Tapia *et al.*, 2008). La antracnosis se caracteriza por atacar los brotes y hojas jóvenes, así como las

flores y frutos pequeños ocasionando pérdidas hasta de 60 % en la producción de fruta (Orozco *et al.*, 2007).

El control de esta enfermedad pre y poscosecha se ha realizado mediante la aplicación de plaguicidas sintéticos que pueden ocasionar resistencia en el patógeno, así como daños a la salud y al ambiente, deteriorando en ocasiones la calidad del producto con manchas, olores y sabores desagradables. El control biológico con microorganismos antagonistas y plantas con propiedades antimicrobianas ha sido una opción poco explorada (Bowers y Locke, 2000; Choi *et al.*, 1999; Janisiewicz y Criof, 1992). Actualmente, se considera el uso de extractos de plantas con propiedades fungicidas o fungiestáticas, una alternativa para el control de antracnosis debido a que éstos no generan resistencia, son biodegradables y no contaminan (Regnaul *et al.*, 2004). Los estudios de la actividad fungicida de los extractos vegetales y fitoquímicos se ha intensificado debido a la demanda de alimentos orgánicos (De Souza *et al.*, 2009) y a las exigencias actuales de la defensa fitosanitaria de los productos hortícolas (Roger *et al.*, 2004).

Las investigaciones con extractos vegetales para el control de fitopatógenos señalan la presencia de metabolitos principalmente secundarios responsables del amplio espectro de actividad biológica que presentan algunos vegetales. Grainge y Ahmed (1998) mencionan que aproximadamente 2400 especies vegetales tienen propiedades fungicidas, nematocidas, bactericidas e insecticidas; de las cuáles cerca de 400 presentan propiedades fungicidas contra 142 diferentes especies de hongos fitopatógenos. Las familias con mayor potencial fungicida reportadas son: *Apiaceae*, *Asteraceae*,

Brassicaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Ranunculaceaea, Rosaceae y Cactaceae, entre otras, que merecen ser valorados como productos fitosanitarios por sus principios activos con acción antimicrobiana (Souza *et al.* 2009). El criterio de selección de las plantas para realizar el presente trabajo fueron la actividad fungicida y bactericida que mostraron los extractos metanólicos de diversas especies descrita en la literatura (Cuadro 1).

Cuadro 1. Actividad biológica de seis especies vegetales seleccionadas para el presente estudio

Nombre científico	Parte de la planta	Disolvente	Referencia
<i>Argemone ochroleuca</i>	Hojas	Metanol	Shyam y Dhanapal, 2010; Mahmoud <i>et al.</i> , 2013; Reyes <i>et al.</i> , 2010
<i>Solanum rostratum</i>	Hojas	Metanol	Alanís <i>et al.</i> , 2007
<i>Datura stramonium</i>	Semilla	Metanol	Iranbakhsh <i>et al.</i> , 2010; Jalander y Gachande, 2012
<i>Equisetum arvense</i>	Tallo	Metanol	Garcia <i>et al.</i> , 2011
<i>Phytolacca icosandra</i> L	Semilla y hojas	Metanol	Igbinosa <i>et al.</i> , 2009; Grace y Olubunmi, 2009
<i>Malva parviflora</i>	Raíz y hojas	Metanol	Kalayou <i>et al.</i> , 2012

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad de los extractos vegetales de seis especies para el control del hongo *C. gloeosporioides* (antracnosis) *in vitro* y en el fruto de papaya cv. Maradol floración y poscosecha.

Objetivos específicos

1. Evaluar *in vitro* la efectividad de los extractos hexánico y metanólico de seis especies vegetales contra el hongo *C. gloeosporioides*.

2. Evaluar la incidencia y severidad de la antracnosis con el extracto vegetal que presente actividad fungicida contra *C. gloeosporioides* en floración del cultivo de papaya.
3. Evaluar la actividad fungicida del extracto vegetal que presente mayor eficacia *in vitro* en el fruto de papaya en poscosecha para el control de antracnosis (*C. gloeosporioides*).
4. Identificar la naturaleza química de los metabolitos secundarios presentes en los extractos hexánico y metanólico de cada especie.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Importancia

A nivel mundial, el cultivo de papaya es de gran importancia económica, en los últimos años se ha incrementado la superficie y el volumen de fruto producido a nivel mundial. En el 2014, la región que ocupa el primer lugar en producción es Asia con un volumen de 7 211 283 t, seguida de la región de América con 4 057 315 t. El principal país productor a nivel mundial es India con un volumen de 5 639 300 t., México se situó en el quinto lugar con 836 370 t. Entre los principales estados productores de México se encuentra: Oaxaca, Colima, Chiapas, Veracruz y Michoacán con un promedio de rendimiento de 2 910.80, 3 141.59, 2 010.50, 3 576.00 y 3 510.50, respectivamente (SIAP, 2016).

2.2 Principales plagas y enfermedades del cultivo de papaya

Existen distintas plagas y enfermedades que afectan la producción de diversos productos hortofrutícolas; entre los hongos fitopatógenos con importancia económica por el daño

que causan a diversos cultivos, se encuentran: *Alternaria solani* ocasiona la descomposición de hortalizas y frutos frescos antes y después de la cosecha; *Fusarium oxysporum* que perjudica a cultivos como sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), maíz (*Zea mays* L.), algodón (*Gossypium hirsutum* L.) y alfalfa (*Medicago sativa* L.), así como, a árboles frutales y forestales; *Penicillium* spp., causante de las pudriciones más comunes y a menudo las más destructivas en poscosecha; *Monilia fructicola* que provoca la pudrición café de frutos con semillas grandes; *Botrytis cinérea* que ocasiona la pudrición en frutos como fresa (*Fragaria xananassa* Duch) (Ibarra *et al.*, 2009); *Botryodiplodia theobromae* es responsable de severas pudriciones en mamey, guayaba (*Psidium guava*), mango (*Mangifera indica*), cítricos (*Citrus* sp), litchi (*Litchi chinensis*) y guanábana (*Annona muricata*) (Martínez *et al.*, 2008).

De manera específica para el cultivo de papaya, las enfermedades se destacan económicamente porque su presencia puede causar graves pérdidas económicas en la producción, comercialización y la exportación de fruta fresca que puede llegar en algunos casos a 100 %. Las enfermedades principales son virus (papaya ringspot virus y "meleira") en el campo, antracnosis y pudrición peduncular, en poscosecha. Las enfermedades foliares, como el punto negro, punto foliar y el punto graso, también pueden causar daños significativos a las frutas y reducir su comercialización cuando no se controlan adecuadamente (Ventura *et al.*, 2004).

En general, la importancia de las enfermedades del cultivo de papaya varía con la región donde se cultivan, en función de las condiciones climáticas; manejo de la huerta (prácticas culturales) poblaciones vectoriales, densidad de inóculo y destino de producción para mercados internos o externos (Ventura *et al.*, 2004).

Las enfermedades posteriores a la cosecha son principalmente de tres tipos: pudriciones superficiales, pudriciones peduncular y pudriciones internas de frutas que reducen la calidad de las frutas y causan graves pérdidas, alcanzando en algunos casos más de 90 % dependiendo de las condiciones de cosecha, transporte y envasado, que pueden afectar la comercialización en los mercados importadores (Ventura *et al.*, 2004).

2.2.1 Pudrición de tallo

La enfermedad también es conocida como pudrición del collar o pudrición de la raíz, es una de las enfermedades más importantes. Esta enfermedad ocasiona pérdidas totales si aparece en las primeras etapas de crecimiento y no se controla inmediatamente.

La enfermedad es causada por diferentes hongos *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani*, éstos se han reportado como el agente causal de esta enfermedad.

Los síntomas aparecen como zonas acuosas en el vástago a nivel del suelo, que agrandan y rodean la base del vástago. Los tejidos afectados se vuelven marrones, negros y posteriormente se pudren (Oluma y Oladiran, 1993). Las hojas terminales se vuelven amarillas, marchitas y caen. La fruta si se encuentra también se marchita y se cae. La planta entera cae y muere debido a la desintegración de los tejidos. El tejido interno parece un panal de abeja. Las raíces afectadas se deterioran y pierden el anclaje (Rawal, 2010).

Bajo condiciones convenientes la enfermedad puede terminar con las plantaciones enteras dentro de una estación, lo que provoca un suelo impropio para otros cultivos. La enfermedad aparece generalmente durante la estación de lluvia y la severidad depende de la intensidad de la precipitación junto con temperatura. Las plantas de una semana de edad son más susceptibles que las plantas de un año. Las plántulas que crecen en la

tierra infectada llevan los inóculos de la enfermedad. Tales plántulas desarrollan más adelante la putrefacción del vástago bajo condiciones favorables (Rawal, 2010).

2.2.2 Cenicilla

Esta es una enfermedad muy importante en el cultivo de papaya, la enfermedad es causada por *Oidium caricae-papayae* (CABI, 2017), el hongo crece superficialmente sobre todo en la superficie inferior de las hojas donde retira los nutrientes de las células de la superficie foliar por estructuras absorbentes especializadas, conocidas como haustorios. En la parte inferior de las hojas enfermas se encuentran masas polvorientas blanquecinas, que es el cuerpo principal del hongo y es la razón por la que la enfermedad se llama oidio. En la superficie superior, las hojas en el lado de la infección muestran manchas de color amarillo o verde pálido usualmente cerca de las venas, rodeadas de tejido normalmente coloreado. Los síntomas menos visibles consisten en puntos amarillos pálidos cerca de las venas. El micelio fúngico que crece en la superficie inferior de la hoja de la papaya produce cadenas de esporas que son llevadas por el viento a las hojas saludables. Estas esporas germinan y producen el ciclo de la enfermedad.

El hongo es parasito obligatorio y produce esporas al crecer en plantas de papaya vivas. A veces en casos severos el hongo también ataca a los frutos. El hongo también ataca el tallo de las plántulas jóvenes cuando se cultiva bajo condiciones de luz reducida. El típico crecimiento polvoriento se encuentra en el tallo de la planta y bajo ataques severos la parte superior de las plántulas puede morir. La enfermedad es más severa cuando la temperatura atmosférica oscila entre 16.4 - 22.92 °C, humedades relativas entre 65.21 - 86.40 % y una duración de la radiación solar 6.2 h (Rawal, 2010)

2.2.3 Tizón

Esta enfermedad es causada por *Phytophthora* (*P. nicotiana* var. *parásita*) las especies de los hongos del género *Phytophthora* son algunas de los patógenos más virulentos, esto causa la pudrición de la fruta y el tallo. El patógeno más común del grupo de *Phytophthora* es *nicotiana* var. *parásita*, que también ataca la piña, guayaba, tomate, entre otros (Rawal, 2010).

Los síntomas más comunes asociados con *Phytophthora* se encuentran en los tallos, en las cicatrices de la fruta u hoja o en cualquier ubicación del tallo. Estas áreas infectadas agrandan, y a menudo rodean totalmente el vástago de árboles jóvenes. Cuando el tallo está completamente ceñido, la parte superior de la planta se marchita y eventualmente muere. Algunas lesiones, particularmente en árboles más viejos pueden no rodear totalmente el vástago, pero debilitan el árbol provocando que con fuertes vientos caiga. El fruto de cualquier edad puede infectarse a medida que cuelga del árbol, mientras que la enfermedad progresa, las manchas se vuelven marrón oscuro. Las frutas momificadas en última instancia se vuelven negro pardusco, pierden peso y adquieren una textura arruga. Estas frutas momificadas son un reservorio del hongo y constituyen una fuente de inóculo (Rawal, 2010).

El hongo produce una masa fúngica blanquecina en frutos y tallos podridos, en los que se encuentran grandes cantidades de esporangios. Estos esporangios son llevados por las lluvias salpicando a las partes sanas de la planta donde germinan solamente en la presencia del agua para producir el gran número de monoesporas móviles, que infectan la planta e inician la enfermedad. Estas zoosporas pueden invadir el tejido foliar, el tallo o frutos no lesionados. A medida que el hongo crece a través del tejido, causa la muerte de la mayoría de las células y el agua que empapa propicia la putrefacción típica. Se ha

demostrado que la temperatura desempeña un papel importante en esta enfermedad. La temperatura óptima para el desarrollo de la enfermedad es 27.7 °C, sin desarrollo de la enfermedad a 15.5 °C o superior a 33.7 °C (Rawal, 2010).

2.2.4 Damping off

Es una de las enfermedades más importantes que se producen en la etapa del vivero. Es causada por un grupo de hongos como *Phytophthora parásita*, *Pythium aphanidermatum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*, entre ellos, los dos primeros hongos son más problemáticos (Rawal, 2010).

El síntoma típico causado por este hongo comienza en las partes húmedas del tejido. En caso de preemergencia, la plántula muere incluso antes de emerger fuera del suelo. La aparición se caracteriza como el amarillamiento, las lesiones empapadas de agua que rodean en los cotiledones llegan a ser debilitadas y mueren. Hay una putrefacción completa de las raíces donde está implicado el parásito de *Phytophthora*. En cuanto a los síntomas causados por *Pythium* spp. hay una lesión negra en el vástago que entra de la epidermis a los tejidos vasculares que bloquean el flujo y el transporte de alimentos de las raíces, por lo tanto, los síntomas de la enfermedad son obvios. En última instancia, la enfermedad derriba a las plántulas en la región de infección como resultado final. En caso de la infección causada por *Rhizoctonia solani*, los síntomas son parecidos a los ya mencionados, pero con coloración marrón color chocolate y seco al tacto. Del mismo modo, la pudrición de la raíz en *Fusarium solani* será seca y llena de crecimiento micelial blanco grisáceo. La enfermedad es más común cuando el vivero se levanta ya sea en temporada de lluvias o en temporada de primavera (Marin y Gomes, 2000).

2.2.5 Antracnosis

2.2.5.1 Generalidades

Colletotrichum es un habitante común en los cultivos y con frecuencia no ocasiona síntomas de enfermedad en los órganos de la planta; en los frutos de algunas especies frutales solo se manifiesta cuando el pericarpio es debilitado, o cuando ocurren aumentos en los niveles de etileno como resultado de procesos de maduración de los frutos (Adaskaveg y Hartin, 1997).

La enfermedad de antracnosis ocasionada por este hongo se encuentra distribuida a escala mundial y ocasiona pérdidas económicas en pre y poscosecha en regiones tropicales, subtropicales y de clima templado. Las enfermedades inducidas por este hongo incluyen: antracnosis, marchitamiento, pudrición radical, mancha foliar, pudrición de flores y tizón en plántulas (Wharton y Diéguez, 2004). El hongo Incluye una gran diversidad de hospedantes tales como gramíneas (maíz y sorgo), solanáceas (tomate, chile y papa), cucurbitáceas (melón, sandía y pepino) rosáceas (Sitterly y Keinath, 1996) y cultivos anuales como leguminosas (frijol, soya, chícharo y leguminosas forrajeras) (Lenné, 1992). Asimismo, se han reportado afectando que diversas especies de *Colletotrichum* afecta a un gran número de cultivos perennes como aguacate, plátano, cítricos, café, mango, papaya, pasiflora, guayaba, guanábana, cacao, hule, manzana, durazno, olivo y almendro, así como cultivos industriales: algodón, caña de azúcar y tabaco (Afanador *et al.*, 2003; Talhinhos *et al.*, 2005; Alarcón *et al.*, 2007).

El hongo *Colletotrichum* presenta un micelio septado de coloración hialina o castaña clara. Las conidias son producidas en estructuras especializadas llamadas acérvulos, que se forman en la superficie de los tejidos infectados. Los acérvulos separados tienen forma de disco o cojín, de textura cerosa y pueden ubicarse en forma subepidermal,

epidermal o subcuticular. Típicamente presentan setas o espinas negras en los bordes o entre el conidióforo; los acérvulos están formados por pseudoparénquima con paredes delgadas o gruesas, conidióforos simples, elongados con numerosas conidias. Las conidias son hialinas curvadas y fusiformes, y por lo general un acérvulo setoso (Barnett y Hunter 1998).

El género *Colletotrichum* tiene una enorme variación ecológica, morfológica y patogénica, las diferentes formas en la naturaleza varían desde saprófito a cepas parasíticas. *C. gloeosporioides* es el agente causal de una diversidad de daños y síntomas en diferentes frutales tropicales y subtropicales en México, y afecta diferentes órganos vegetales de la planta, así como en distintas etapas fenológicas del cultivo. Hasta 1992 se reconocieron 900 especies de *Colletotrichum* y cerca de 600 variantes de *Colletotrichum gloeosporioides* (Bailey y Jeger, 1992).

Las conidias son producidas en masas mucilaginosas típicamente hundidas, de color rosado y con un contorno irregular en las lesiones, este tipo de lesiones que con frecuencia se observa sobre las hojas, frutos y ramas es conocido como antracnosis; sin embargo, en algunos frutos también es frecuente observar lesiones como chancros, cicatrices, verrugas o costras con relieve (Bailey y Jeger, 1992).

2.2.5.2 Pérdidas por antracnosis

Es considerada una de las principales enfermedades poscosecha del cultivo de papaya, se presenta en todas las regiones de producción, se ha observado que causan grandes pérdidas en Brasil, Hawai (Estados Unidos) y México. El hongo infecta varias partes de la planta, pero su mayor importancia se produce en los frutos, que se convierten en no aptos para la comercialización. La infección latente, no detectada en la cosecha, se

convierte en el problema principalmente durante el transporte de los frutos para la exportación o en mercados locales. La ausencia de medidas de control y el uso de procedimientos poscosecha inapropiados pueden producir hasta 100 % de frutos enfermos de algunos huertos. De acuerdo con Zavala (2012), las pérdidas poscosecha de papaya en México fluctúan entre 18 y 30 %; sin embargo, la antracnosis, causada por *C. gloeosporioides* constituye la principal enfermedad.

2.2.5.3 Etiología del agente causal de antracnosis

El hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. SACC. en Penz., (fase teleomorfa) *Glomerella Cingulata* (Ston) Spauld. y Schrenk, es un patógeno común en diversas plantas frutales tropicales, habiendo sido divulgado en la forma teleomorfa en frutas y hojas (Costa *et al.*, 2001; Holliday, 1980).

El hongo forma acérvulos subcuticular y subepidérmica, confluyente con las masas de conidios rosado a naranjado que cubren los centros de la lesión, con los pelos, conidióforos septadas, marrón pálido con conidios hialinos con los extremos obtusos o elipsoides con un ápice redondeado y una base estrecha, truncada, más o menos cilíndrico (Costa *et al.*, 2001).

Costa *et al.* (2001) reportaron la ocurrencia de la fase perfecta (*Glomerella Cingulata*), con peritecios en varias partes del huésped (hojas muertas y frutos), solitaria o agregada, globosa a piriforme, de color marrón oscuro a negro, y ascuas con ocho esporas, espatulado a cilíndricas, con ascosporas estrechamente ovales a cilíndricas a fusiformes (Estrada *et al.*, 2000).

La ocurrencia de una nueva enfermedad de antracnosis en los frutos de la papaya causados por *Colletotrichum capsici* fue encontrada en la isla de Miyako, Prefectura de

Okinawa, situada en la parte sudoeste de Japón en 1994. Estas lesiones fueron inicialmente empapadas en agua, manchas marrones claras, gradualmente se agrandaron, se hundieron y se volvieron marrones negruzcos. Los acérvulos numerosos de antracnosis fueron producidos en las lesiones de la fruta. Los conidios eran falcadas, y se encontraron abundantes pelos negros (Yagushi *et al.*, 1998).

2.2.5.4 Síntomas

El hongo se puede establecer inicialmente en las flores, penetrando a través de estigmas y cicatrices dejadas por los pétalos, principalmente por heridas superficiales en estos tejidos. El mayor daño está en las frutas donde el hongo causa pequeñas, irregulares, acuosas manchas que más tarde se agrandan y se oscurecen en color. La infección por *C. gloeosporioides* puede ocurrir en cualquier etapa de desarrollo y permanecer quieta hasta que los frutos se maduren, penetrando de manera directa, a través de una infección o por heridas (Chau y Álvarez, 1983).

Cuando las frutas infectadas comienzan a madurar, se forman pequeñas gotas ("perlas") de látex exudadas en la superficie. Las lesiones en las frutas son redondas, profundas, y pueden alcanzar hasta 5 cm de diámetro. Con el desarrollo de las lesiones, se puede observar un crecimiento rosado, arreglado en anillos concéntricos de aspecto gelatinoso que posteriormente se vuelven oscuros, consistiendo en las estructuras reproductivas del hongo. El tejido interno del área infectada es firme, con una decoloración grisácea blanca que se torna marrón. Las lesiones se separan fácilmente en los tejidos sanos, dejando depresiones en la fruta, la lesión de la antracnosis causada por *C. gloeosporioides* de la en la fruta de la papaya, con la presencia de una masa gelatinosa típica del color anaranjado rosado, puede fusionarse formando una gran área de lesiones circulares

irregulares en la superficie de la fruta, de hasta 10 mm de diámetro, definidos bruscamente y ocasionalmente deprimidos. En ausencia de control y/o bajo condiciones climáticas altamente favorables, la presencia de estas lesiones se puede observar en frutos en las etapas iniciales de madurez. La fruta madura o dañada es más susceptible a la infección que la fruta inmadura. La infección foliar ocurre y aparece inicialmente como pequeñas manchas acuosas de forma irregular. Estas lesiones se vuelven marrones, con centros blancos grisáceos que a menudo se caen (Simone, 2002). En pecíolos, las lesiones oscuras se forman con abundantes acérvulos. Los peritecios de la etapa teleomorfa del hongo también se desarrollan sobre los pecíolos (Ventura, 2004).

Las lesiones en las hojas son menos frecuentes, cuando ocurren son circulares con las fronteras irregulares y los centros grisáceos, donde los "puntos negros", que son los cuerpos que fructifican (las estructuras) del hongo pueden ser observados. En ciertas condiciones el hongo no penetra profundamente en la carne de la fruta, en estos casos lesiones superficiales de color marrón amarillo, a menudo con un aspecto empapado de agua en los márgenes, que se refieren como "mancha de chocolate" (Naqvi, 2004).

Epidemiología. La infección ocurre generalmente en el campo durante las etapas iniciales del desarrollo del fruto, el patógeno permanece quieto hasta la fase de maduración de la fruta, cuando los síntomas se hacen visibles. Las frutas y las hojas senescentes infectadas por *C. gloeosporioides*, principalmente los pecíolos, tanto en la planta como en los que caen sobre el suelo, representan importantes fuentes de inóculo del patógeno. En el campo, la producción de conidios se produce en gran cantidad principalmente en los pecíolos de hojas senescentes y en frutos maduros, siendo éstos considerados la fuente de inóculo. Sin embargo, se requieren estudios adicionales para comprender su

importancia epidemiológica. Las gotas de lluvia y salpicaduras de agua de riego son las principales fuentes de diseminación del inóculo del patógeno. Cuando los conidios son favorables germinan (6 - 8 horas), forman apresorio (10 - 12 horas), en la superficie de las frutas, por acción enzimática penetran la cutícula, las hifas que están a nivel subcuticular, entran en reposo hasta el comienzo de la maduración de los frutos, que es cuando el crecimiento se reanuda y los síntomas de la enfermedad aparecen (Naqvi, 2004)

Los conidios dispersos en las fases iniciales del desarrollo de los frutos tienen menos probabilidades de sobrevivir que los que se depositan en los frutos desarrollados, que permanecen y forman las infecciones quiescentes o infectan los frutos después de la cosecha. La terminación de la quiescencia del hongo está relacionada con la acción de los compuestos antifúngicos (Prusky, 1996), o con la producción de etileno en la maduración de los frutos que favorece la germinación y formación del apresorio de *C. gloeosporioides* (Flaishman y Kolattukudy, 1994)

El mecanismo de quiescencia representa un caso de la coevolución del patosistema, esto le proporciona ventajas al patógeno y al anfitrión en el ecosistema, es decir, el patógeno se adapta a la fisiología del huésped, y el huésped adquiere resistencia al patógeno, paralizando la evolución de la infección de los tejidos de la fruta. Esto tiene la ventaja de hacer posible el desarrollo de las semillas, con la liberación de las semillas que ocurren después de la maduración de la fruta y la desintegración de la pulpa por el patógeno y el saprófito (Arauz, 2000)

Las condiciones climáticas que favorecen la incidencia de antracnosis son las temperaturas cercanas a 28 °C, que oscilan de 20 a 30 °C, humedad relativa del aire

superior al 95 %. Los conidios requieren agua en el estado libre para germinar y se liberan del acérvulos sólo cuando la humedad relativa es mayor que 95 %. La severidad de la enfermedad depende de condiciones ambientales, presentando menor severidad en períodos secos y temperaturas más bajas (Quimio, 1973).

2.2.5.5 Control

El manejo de la antracnosis en el campo debe comenzar con la elección del sitio (plantación), tomando en cuenta la historia previa (plantaciones antiguas), evitar exceso de humedad y las condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad, así como las prácticas culturales, la reducción del inóculo, el control químico y la resistencia genética. Medidas adoptadas durante las fases de producción y tratamiento poscosecha de los frutos (cuidado en la manipulación, la limpieza de los envases, del medio ambiente, el control de las temperaturas de almacenamiento, el uso de tratamientos térmicos y el control químico) influyen en la incidencia y severidad de la enfermedad y cuando se administran adecuadamente, reducen significativamente las pérdidas (Ventura y Costa, 2002).

2.2.5.6 Prácticas culturales

Fertilización equilibrada y manejo del riego. Las plantas con nutrición desequilibrada y estrés hídrico se predisponen a un aumento de la severidad de la antracnosis. Los estudios han demostrado que las dosis de boro y calcio mayores que la cantidad requerida por las plantas (0.77 g de B y 50 g de Ca por planta), contribuyen a un incremento de aproximadamente 70 % en la incidencia de antracnosis en frutos en comparación con dosis de 0.06 g de B y 2.5 g de Ca por planta (Tatagiba *et al.*, 1998).

La incidencia en frutos alcanzó 100 % con un contenido de boro en la planta de 50 mg por kg; el contenido medio requirió generalmente 23 por kg. En otro experimento realizado en la región norte de Espírito Santo, Brasil, donde se utilizó el riego por microaspersión, se observó una relación negativa entre las cantidades de agua utilizadas y la incidencia de antracnosis, lo que demostró la posibilidad de manejo de riego para el control de la enfermedad. La cantidad de 120 mm de reposición de la evapotranspiración (evaporación de clase a pan), además de contribuir a la mayor producción de frutos, se observó la menor incidencia de antracnosis. En el testigo sin aplicación de agua, la incidencia de la enfermedad en los frutos alcanzó el 100 % (Tatagiba *et al.*, 2001).

Eliminación de fuentes de inóculo. Para la limpieza de los huertos, la eliminación de frutos maduros (especialmente las frutas infectadas) y las hojas de senescentes, tanto en la planta, como en las que se encuentran en suelo, es un procedimiento importante que debe considerarse. La eliminación de las frutas y las hojas infectadas puede contribuir a la reducción del inóculo inicial y a la incidencia de antracnosis en los frutos (Naqvi, 2004).

Manejo de los frutos. Las frutas de la papaya se deben cosechar cuando el color de la piel cambia de verde oscuro a verde claro y cuando una raya amarilla comienza el desarrollo de la base hacia arriba. Las frutas en esta condición seguirán madurando normalmente después de la cosecha. Esas frutas cosechadas antes de esta etapa no mostrarán la maduración completa, y las cosechadas después son más susceptibles a los daños y contusiones durante el manejo (Naqvi, 2004). Después de la cosecha, la fruta se coloca en capas individuales en cajones de campo de color claro y poco profundo, preferiblemente conteniendo una capa de espuma para amortiguar. Todos los tallos

deben ser recortados después de la cosecha para asegurar que no se produzcan Roces de la fruta durante el transporte a las instalaciones de empaque. La fruta nunca debe ser lanzada. Los cajones de campo que contienen la fruta deben dejarse en condiciones sombreadas protegidas del sol y de la lluvia mientras se espera la recolección para su entrega a una instalación de empaque (Naqvi, 2004). Evitar al máximo lesiones a los frutos durante la cosecha, el transporte y el almacenamiento. Estas lesiones se convierten en puertos de entrada no sólo a antracnosis, sino también a otras enfermedades posteriores a la cosecha. También se debe evitar poner muchas frutas en las cajas de la cosecha en el campo, colocando como máximo dos capas. La clasificación debe realizarse lo antes posible después de la cosecha y la fruta dejada en condiciones ambientales para continuar madurando o colocada a 10 a 12 ° C para el enfriamiento y el almacenamiento. Al llegar a la instalación de envasado, la fruta debe lavarse en agua para eliminar el látex y los desechos, luego tratar para el control de enfermedades poscosecha. El lavado, tratamiento y clasificación pueden realizarse mediante sistemas mecanizados o manuales, dependiendo de los volúmenes de frutas. El almacenamiento de papaya inmadura por debajo de las temperaturas de 10 °C provocará una lesión por frío (Naqvi, 2004).

Saneamiento de instalaciones y equipos: la desinfestación de contenedores, equipos e instalaciones de almacenamiento es una práctica muy importante para eliminar las fuentes de inóculo. En el empaque se debe usar una solución de cloro (70 - 100 ppm) para la limpieza requerida, y los frutos de los huertos deben ser lavados y desinfestados con una solución (Naqvi, 2004).

2.2.5.7 Limpieza de las frutas

Las frutas se deben lavar en agua para quitar el suelo y otros residuos adherentes, también puede recibir un tratamiento con cloro para la desinfestación. Los pedúnculos deben recortarse y los frutos deben empacarse cuidadosamente cuando se sequen con la parte del pedúnculo hacia abajo y envueltos en papel seco. Este procedimiento puede reducir la infección por *C. gloeosporioides* y otros hongos que causan putrefacciones posteriores a la cosecha. Después de la limpieza, los frutos deben ser cuidadosamente sumergidos en tanques de agua caliente para el tratamiento hidrotermal (Naqvi, 2004).

2.2.5.8 Tratamiento hidrotermal

Se han utilizado tratamientos térmicos para controlar las enfermedades fúngicas y la infestación de insectos de frutos de papaya durante muchos años. El principal obstáculo para el uso generalizado del calor para controlar las enfermedades poscosecha es la sensibilidad de los frutos a las temperaturas necesarias para un tratamiento eficaz sin daños visibles en la fruta. Los equipos especializados para el mantenimiento de la temperatura y la circulación del agua son necesarios ya que las fluctuaciones de temperatura reducirán la efectividad del tratamiento y pueden dañar la fruta. El tratamiento hidrotermal consiste en la inmersión de los frutos en agua caliente de 48 °C (± 1 °C) durante 20 minutos, seguida inmediatamente por inmersión en agua fría de 8 °C (± 1 °C) por un período igual. La principal desventaja de este tratamiento es la necesidad de un sistema de calefacción con precisión para mantener la temperatura del agua constante durante 20 min, ya que las temperaturas inferiores a 47 °C no ejercen el control deseado y mayor que 49 °C puede causar quemaduras en los frutos. A pesar de la existencia de investigaciones asociadas a este método y a la radiación gamma para

controlar las enfermedades poscosecha, sólo se ha utilizado el tratamiento hidrotermal en escala comercial. El calentamiento o retardo excesivo en el enfriamiento de los frutos puede inhibir el proceso normal de maduración de los frutos, provocando en muchos casos escaldaduras, facilitando la colonización por otros hongos, afectando la calidad comercial de los frutos (Naqvi, 2004).

2.2.5.9 Tratamiento químico

El método de control más utilizado es la aplicación de fungicidas sintéticos; sin embargo, el uso de productos químicos en la fruticultura ha sido restringido en muchos países (Dayan *et al.*, 2009) por lo que hay otros métodos de control como el uso de tratamientos hidrotérmicos (Prusky *et al.*, 2001), aplicación de aire caliente (Coates *et al.*, 1993), luz ultravioleta (Stevens *et al.*, 1997), atmósferas modificadas, extractos de plantas y microorganismos como agentes de control biológico (Karabulut y Baykal, 2004).

Para el control químico de la antracnosis se han recomendado los fungicidas Azoxystrobin, Benomilo, Captan, Clorotalonil, Imazalil, Mancozeb, Metilresoxim, Procloraz y Thiabendazol (Zavala *et al.*, 2005). De estos fungicidas recomendados, solo Azoxystrobin, Clorotalonil, Mancozeb y Thiabendazol están permitidos para su uso en papaya por parte de la Agencia de Protección al Ambiente (EPA) de los Estados Unidos de América. Otros fungicidas que cuentan con registro de EPA son Ferbam, Maneb, Mefenoxam, Pyraclostrobin y Tryfloxystrobin (US Environmental Protection Agency). El control químico basado en el uso de fungicidas como benzimidazoles, ha provocado resistencia en *C. gloeosporioides* (Tavares y Souza, 2005). Entre los productos recomendados para el control de enfermedades poscosecha en frutales tropicales y

subtropicales se encuentran el Procloraz (ingrediente activo: N-propil-N-[2-(2,4,6-triclorofenoxi) etil] imidazol-1-carboxamida) e Imazalil (ingrediente activo: (RS)-1-(β -aliloxi-2,4-diclorofeniletil) que se utilizan ampliamente en Centro y Sudamérica, principalmente para el control de antracnosis en plátano y mango. Las Estrobilurinas (QoI) son un grupo de fungicidas que inhiben la respiración mitocondrial bloqueando el sitio Qo del complejo Ccitocromo bc₁, esta inhibición bloquea la transferencia de electrones entre el citocromo b y el citocromo c₁, con lo cual, se provoca una deficiencia en la producción de energía en las células del hongo, deteniéndose la producción de ATP, ha éste grupo pertenece el Azoxystrobin, Trifloxystrobin, Pyraclostrobin, estos productos se han registrado en numerosos países (Zavala *et al.*, 2005).

Las estrobirulinas tienen actividad principalmente preventiva, curativa, con efectos translaminares (penetra la lámina foliar). Las esporas de los hongos son más susceptibles a este grupo de fungicidas que el micelio de estos, por tanto, las estrobirulinas son altamente eficientes en el control de la germinación de esporas y la penetración al hospedero (Hamdy, 2007).

El azoxystrobin pertenece a la clase química de los metoxiacrilatos, su nombre químico es Metil (E)-2-2-6-(2-cianofenoxi) pirimidin-4-iloxi-fenil-3-metoxiacrilato, es un fungicida con actividad preventiva, curativa y erradicante, inhibe la germinación de esporas y el crecimiento micelial; con propiedades sistémicas y traslaminares (Hamdy, 2007). Es un fungicida que ha mostrado un control eficiente en varias enfermedades y cultivos, ha sido eficiente para el control de antracnosis por *Colletotrichum acutatum* en jitomate; en evaluaciones *in vitro* en mango, ya que inhibieron completamente el crecimiento de C.

gloeosporioides y aplicaciones de campo controlaron la enfermedad en panículas, hojas y frutos (Bubici *et al.*, 2006; Gutierrez *et al.*, 2006; Sundravadana *et al.*, 2007; Rui *et al.*, 2004). En precosecha la aplicación del fungicida redujo la incidencia de la antracnosis por *Colletotrichum gloeosporioides* en frutos de mandarina (Zhang y Timmer, 2007).

2.2.5.10 Métodos de control alternativos

2.2.5.10.1 Control biológico

El control biológico (CB), se define como cualquier condición o práctica por medio de la cual la sobrevivencia o actividad de un patógeno se reduce a través de la mediación de cualquier otro organismo, excepto el hombre, con disminución de la incidencia de la enfermedad (Garrett, 1965). Entre los más importantes se encuentran los hongos de los géneros *Penicillium oxalicum*, *Gliocladium viride* Matruchot, *Gliocladium roseum* Bainier, *Trichoderma harzianum* Rifai, *Cladosporium* sp., *Trichoderma harzianum*, *Gliocladium roseum*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces noursei* y *Streptomyces natalensis* (Zivkovic *et al.*, 2010). El microorganismo con mejores resultados en control biológico es *T. harzianum*, posee propiedades antagonistas, que se basan en la activación de múltiples mecanismos, que actúan sinérgicamente. Los microorganismos afectan a los hongos patógenos, ya sea directamente por micoparasitismo, o indirectamente al competir por los nutrientes y el espacio, cambian el microambiente, inducen mecanismo de defensa de las plantas localizadas o sistémicas y actúan como hormonas vegetales debido a que aumentan el enraizamiento de las plantas, también ayudan a mejorar la absorción de nutrientes (biofertilization) que resulta en un aumento del crecimiento de la planta, al respecto, se atribuyen cambios estructurales a nivel celular, tales como la desintegración del citoplasma y lisis celular (Benítez *et al.*, 2004).

El control biológico en antracnosis se ha reportado en diferentes cultivos tales como manzanas (Janisiewicz *et al.*, 2003), papaya (Gamagae *et al.*, 2004), aguacate y mango (Korsten *et al.*, 1997). La mayor parte de los experimentos de control biológico en enfermedades poscosecha se han realizado aplicando antagonistas en condiciones controladas de humedad y temperatura. Pocos trabajos se han realizado con aplicación de microorganismos en condiciones de campo, en donde la efectividad de los antagonistas es afectada por otros factores, como cambios de temperatura, humedad, luz ultravioleta e interacción con otros microorganismos. Paradójicamente uno de los mayores obstáculos para el desarrollo del control biológico en poscosecha es su relativa inhabilidad para controlar infecciones establecidas en precosecha, como son las infecciones latentes. La aplicación en campo de los agentes de control biológico puede propiciar la colonización de la superficie del fruto y prevenir el establecimiento de infecciones latentes en los frutos de la huerta productora (Ippolito y Nigro, 2000). Juárez (2001) reportó una extensiva búsqueda de microorganismos antagonistas al agente causal de la antracnosis del mango, donde se aislaron 120 cepas (cinco levaduras y 115 bacterias) de la filósfera de mango, de las cuales dos cepas (una bacteria y una levadura) fueron las que presentaron mayor actividad antagonista en ensayos *in vitro* contra *C.gloeosporioides*; dichas cepas fueron caracterizadas con mayor detalle (Patiño *et al.*, 2002) microscópica y bioquímicamente, identificándose a la bacteria *Bacillus subtilis* y la levadura *Rhodotorula minuta* Saito. La caracterización fue confirmada con técnicas de PCR, analizando RNA ribosomal. En bioensayos realizados *in vitro* la levadura *R. minuta* presentó principalmente el fenómeno de antagonismo por competencia y la bacteria *B. subtilis* por antibiosis (Patiño y Rodríguez, 2002). De estas dos cepas antagonistas seleccionadas, se probaron formulaciones líquidas a una concentración de 3×10^8 UFC

mL, asperjándolas cada 15 d durante los dos últimos meses previos a la cosecha de mango cultivar Keit. Las formulaciones de *R. minuta* o *B. subtilis* controlaron la antracnosis en niveles que fueron mejores o iguales que los alcanzados con la aplicación del fungicida químico comercial Mancozeb. También para los dos microorganismos finalmente seleccionados se probaron medios de cultivo de interés industrial usando materias primas de bajo costo y de disponibilidad comercial (Patiño *et al.*, 2002). Después de haber seleccionado el medio de cultivo se procedió a escalar el proceso de nivel matraz hasta un fermentador de 100 L, usando el criterio de potencia volumétrica constante. Las células viables obtenidas en el fermentador piloto superaron los valores que se habían obtenido en los matraces en agitación y en un tiempo menor (Patiño *et al.*, 2002) Por otra parte, Baños *et al.* (2004) evaluaron los efectos de bacterias antagonistas y extractos de plantas con propiedades fungitóxicas sobre características físicas, químicas y fisiológicas de la papaya Maradol inoculada con *C. gloeosporioides*. Se utilizaron tres aislamientos de *Bacillus firmus* Bredemann y Werner y cuatro de *Pseudomonas fluorescens* Migula, de los cuales solo dos de *B. firmus* redujeron *in vitro* el crecimiento de *C. gloeosporioides* (75.3 y 69.2 %) en un lapso de 96 h; sin embargo, en poscosecha no ejercieron ningún control del hongo. Algunos ejemplos de microorganismos antagonistas utilizados exitosamente para controlar enfermedades en poscosecha. *B. subtilis* contra *Alternaria citri* en naranja; *Monilia frutícola* en durazno y chabacano (Pusey y Wilson, 1984), *Rhizopus* spp. en nectarina y ciruelo (Pusey *et al.*, 1986), y *C. gloeosporioides* en mango (Spalding, 1986). *Pseudomona syringae* restringió a *B. cinerea* y a *Penicillium expansum* en pera (Janisiewics y Criof, 1992); *Trichoderma viridae* inhibió a *B. cinerea* y *P. expansum* en manzana; *Enterobacter cloacae* controló a *R. stolonifer* en durazno (Wisniewsky *et al.*, 1989). Otros microorganismos que resultaron

exitosos para el control biológico de enfermedades poscosecha sobre diferentes especies de frutales son *T. viride*, *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. (Papavizas, 1983).

2.3 Extractos vegetales

El uso de plaguicidas ha contribuido inmensamente al aumento de la productividad agrícola y a la mejora de la salud humana, en particular la erradicación de la enfermedad transmitida por vectores, indudablemente. Sin embargo, se ha establecido que el uso de plaguicidas orgánicos sintéticos, particularmente los hidrocarburos clorados ocasionan contaminación ambiental grave (agua, aire y suelo), afectan la salud humana y causan la muerte de organismos no dañinos (animales, plantas y peces) (Biswas *et.al.*, 2002). El uso excesivo de plaguicidas causa problema ambiental y de salud. Los estudios recientes han demostrado que una serie de plantas poseen actividad plaguicida. Los extractos de plantas y los aceites esenciales son inocuos, amigables con el medio ambiente y son más compatibles con los componentes medio ambientales en comparación con los plaguicidas sintéticos, por lo que se encuentran bajo la categoría de plaguicidas verdes (poco toxico). Ahora una tendencia creciente en el uso de botánicos con más de 2400 especies bioactivas de plantas identificadas por sus propiedades insecticidas y antipatógenas (Karunamoorthi, 2012). El uso de los extractos plantas como plaguicidas se ha practicado desde tiempos inmemorables. Durante su larga evolución, las plantas sintetizan una variedad diversa de metabolitos para prevenir su colonización por plagas, enfermedades y otros herbívoros, como mecanismo de defensa (Karunamoorthi, 2012).

El producto de origen vegetal tiene un bajo costo, no dañan el medio ambiente, han demostrado ser eficaces para el control de enfermedades poscosecha, por lo que se

consideran candidatos ideales para su uso como agroquímicos (Macías *et al.*, 2000). Maqbool *et al.* (2010) Encontraron que los aceites esenciales de hierba de limón (*Cymbopogon citratus*) y canela (*Cinnamomum zeylanicum*) tienen propiedades antifúngicas en contra de *Colletotrichum musae* en el cultivo de banana. Misra *et al.*, (1988) reportan la actividad antifúngica del aceite esencial de limón (*Citrus lemon*) debido a la presencia de diversos compuestos (cital y limoneno). Los extractos de hojas de limón y de papaya se han utilizado para el control de otros hongos poscosecha, como son *Fusarium spp.*, *Alternaria spp.*, *Pestalotiopsis spp.* y *Rhizopus spp.* Bautista *et al.* (2002) observaron que el extracto de hoja de limón inhibió completamente el desarrollo de *C. gloeosporioides in vitro*. El extracto de canela se ha reportado con efectos antimicrobiales (Goñi *et al.*, 2009). Nikos (2009) encontró que frutos de tomate tratados con aceite de canela redujo el desarrollo de colonias de *C. coccodes*, *B. cinerea*, *Cladosporium herbarum*, *R. stolonifer* y *Aspergillus niger*. La germinación conidial y el crecimiento micelial también fueron inhibidos completamente usando extracto de la misma especie sobre *C. musae*, *Fusarium sp.* y *Lasiodiplodia theobromae* (Kyu *et al.*, 2007).

En un estudio en donde se empleó extracto de ajo (*Allium sativum*) *in vitro*, se encontró que presentó amplio espectro de acción contra 14 hongos. Asimismo, *C. gloeosporioides* fue controlado por este extracto, manteniendo sanos hasta un 65.2 % de frutos de aguacate (Reyes, 1996). En estudios realizados por Baños *et al.* (2004) se evidenció que extractos de ajo y eucalipto (*Eucalyptus globulus*) redujeron la severidad de la antracnosis en frutos de papaya en 45 y 41.7 %, respectivamente. Bianchi *et al.* (1997) observaron que los extractos de bulbo de ajo inhibieron en 80 % el crecimiento micelial de *C.*

lindemuthianum. El extracto de hoja de *C. papaya* inhibió in vitro completamente las pudriciones ocasionadas por *C. gloeosporioides* (Marín *et al.*, 2006).

2.3.1 Metabolitos secundarios

Un tejido vegetal, como toda materia viva, se encuentra en un estado dinámico desde el punto de vista químico. Existe constante síntesis y degradación de biomoléculas o metabolitos que determina el dinamismo de los sistemas biológicos, pero a su vez, al estar en equilibrio la velocidad de síntesis o aparición con la degradación o desaparición de componentes celulares, las concentraciones de los mismos se mantienen aproximadamente constantes, estacionarias. Los compuestos químicos celulares (metabolitos) pueden ser clasificados en *primarios* y *secundarios*. Los *compuestos primarios* son todos aquellos esenciales para el funcionamiento de toda materia viva, responsables de su estructura y de todas las reacciones necesarias para mantener el estado vital y posibilitar el crecimiento, el desarrollo y la reproducción, comprenden los carbohidratos, los lípidos y las proteínas (Ringuelet y Viña, 2013). Además de los productos metabólicos comunes en todo organismo (nucleótidos, ácidos nucleicos y aminoácidos, proteínas y carbohidratos) los llamados productos metabólicos primarios, existen productos especializados de origen aliado que se encuentran exclusivamente en plantas, aunque no en todas las plantas (Endress, 1994). Éstos son considerados compuestos secundarios debido a: 1). una distribución taxonómica aparentemente limitada; 2). síntesis que ocurre solamente bajo ciertas condiciones derivados de los metabolitos primarios; y, 3). ninguna necesidad evidente para la vida (Endress, 1994).

Los compuestos secundarios cumplen funciones que no resultan estrictamente vitales en los tejidos y representan en ocasiones compuestos de desecho del metabolismo. Los metabolitos secundarios en general no están directamente involucrados con el crecimiento y desarrollo, ni participan en procesos tales como la obtención de energía. Muchos de ellos son aprovechados por la planta que los sintetiza para interactuar con el medio, ya sea para atraer insectos y otros polinizadores, repeler predadores o seres dañinos, impedir la competencia con otras plantas, adaptarse a condiciones adversas de suelo o clima, etc. Los metabolitos secundarios cumplen preferentemente funciones ecológicas (Kabera *et al.*, 2014).

Gran diversidad de metabolitos secundarios ha sido y son utilizados por el hombre para aplicarlos en la industria farmacéutica, de la perfumería, alimentaria (como suplementos, aditivos o colorantes), entre otros. Éstos son los comúnmente llamados productos naturales vegetales y representan moléculas con variadas estructuras, diferentes propiedades de solubilidad y distintos orígenes biosintéticos. En muchos casos los metabolitos secundarios pueden ser materia prima para sintetizar otros compuestos útiles, originando productos de semisíntesis (Kabera *et al.*, 2014).

Se menciona que pueden llegar a existir más de 100 000 metabolitos secundarios involucrados en la defensa de todas las especies de plantas y de los cuales solo se conoce el 10 % (Mazid, 201).

Cuadro 2. Número estimado de metabolitos secundarios descritos y sus funciones principales para las plantas que los producen (Feil, 2016)

Clase	Numero de estructuras	Toxico o repelente para herbívoros	Actividad antimicrobial	Atracción de polinizadores o dispersores de fruta
Con nitrógeno				
Alcaloides	27 000	++++	++	--
Los aminoácidos no proteicos (NPAA)	700	++++	+++	--
Glucósidos cianogénicos / HCN	60	++++	+	-
Aceites de mostaza (Glucosinolatos)	150	++++	++++	+/-
Aminas	100	+++	+	+++
Lectinas, Péptidos, AMPs	2 000	+++	+++	-
Sin nitrógeno				
Terpenos				
Monoterpenos (incluidos los iridoides glucósidos)	3 000	++	+++	+++
Sesquiterpenos	5000	+++	+++	++
Diterpenos	2500	+++	+++	-
Triterpenos, esteroides, saponinas (Incluyendo glucósidos cardiacos)	5000	+++	+++	-
Tetraterpenos	500	+	+	+++
Fenoles				
Fenilpropanoides, cumarinas y lignanos	2 000	+++	+++	++
Flavonoides, antocianinas, taninos	4000	+++	+++	++
Polyketides (antraquinonas)	800	++++	+++	-
Otros				
Poliacetilenos	1500	++++	++++	-
Hidratos de carbono, ácidos orgánicos	600	+	++	+

Actividad: -= nula actividad; +/-= muy poca actividad; += poca actividad; ++= mucha actividad; +++=más actividad; ++++= actividad completa

2.3.1.1 Clasificación de los metabolitos secundarios

A primera vista, las estructuras de metabolitos secundarios pueden parecer desconcertantemente diversas. Sin embargo, la mayoría de estos compuestos pertenecen a una de varias familias, cada una de las cuales tiene características estructurales particulares que surgen de la forma en que se construyen en la naturaleza, es decir, de su biosíntesis (Hanson, 2003). En la mayoría de las referencias, se afirma que los metabolitos secundarios extraídos de las plantas se subdividen en tres clases principales (Kabera *et al.*, 2014) (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**):

- Terpenoides
- Compuestos fenólicos
- Compuestos que contienen nitrógeno

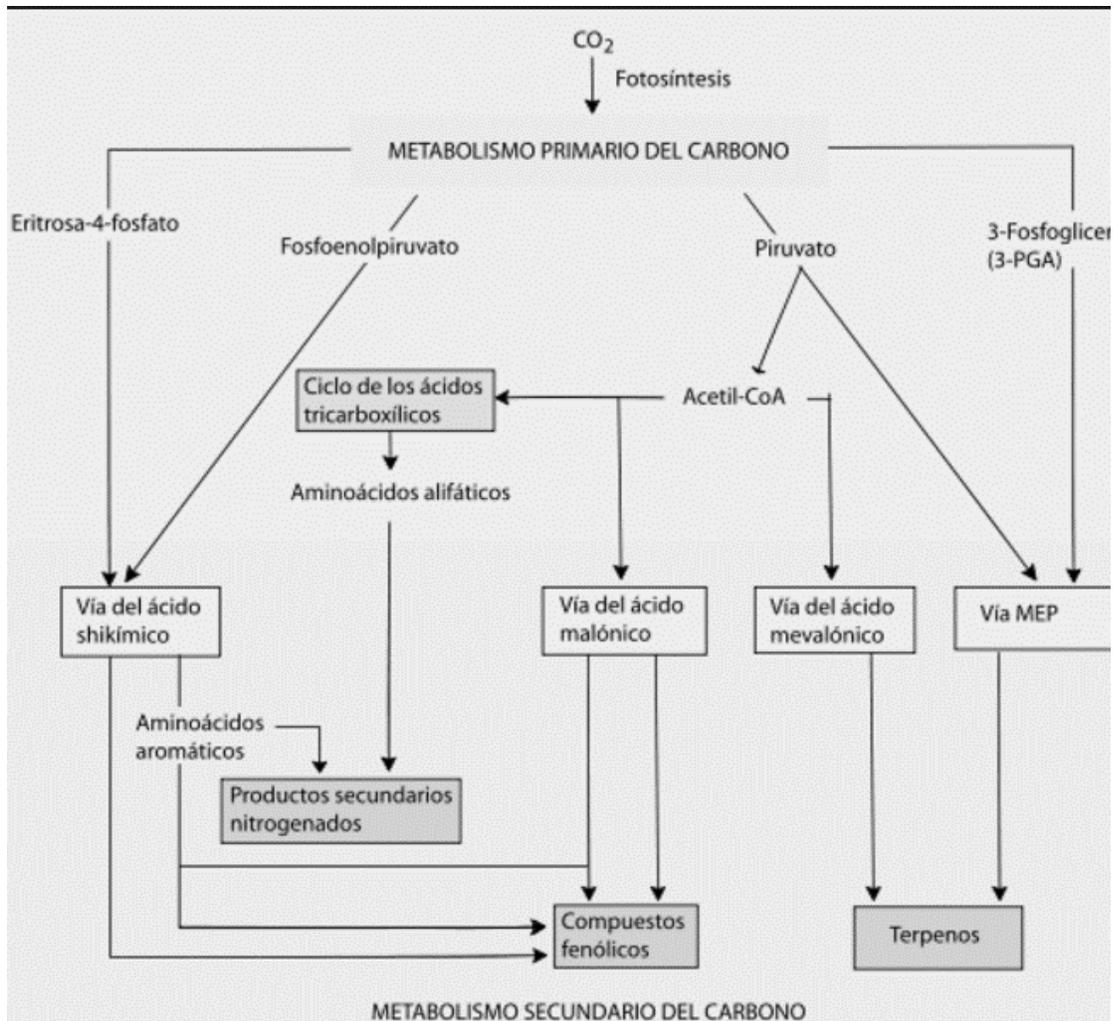


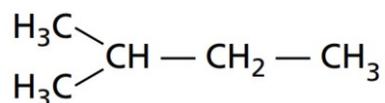
Figura 1. Vista simplificada de las vías principales de los metabolitos secundarios, biosíntesis y sus interrelaciones con el metabolismo primario (Taiz y Zeiger, 2006).

Terpenoides

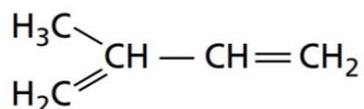
El nombre terpenoide, o terpeno, deriva del hecho de que los primeros miembros de la clase fueron aislados de trementina ("terpentina" en Alemania) (Croteau *et al.*, 2000).

Los terpenos, o terpenoides, constituyen la clase más grande de metabolitos secundarios. Las diversas sustancias de esta clase son generalmente insolubles en agua. Se biosintetizan a partir de acetil-Co A o intermedios glicolíticos. Los terpenoides se forman por la fusión de unidades de isopreno de cinco carbonos. Todos los terpenos

se derivan de la unión de cinco elementos de carbono que tienen el esqueleto de carbono ramificado de isopentano (Figura 2) (Taiz y Zeiger, 2006):



Los elementos estructurales básicos de los terpenoides se denominan a veces unidades de isopreno porque los terpenos pueden descomponerse a altas temperaturas para dar isopreno (Taiz y Zeiger, 2006):



Así, todos los terpenoides se denominan ocasionalmente isoprenoides. Los terpenoides se clasifican por el número de unidades de cinco carbonos que contienen, aunque las modificaciones metabólicas extensas pueden a veces dificultar la selección de los residuos originales de cinco carbonos. Los terpenoides de diez carbonos, que contienen dos unidades C₅, se llaman monoterpenos; terpenos de 15 carbonos (tres unidades C₅) son sesquiterpenos; y terpenos de 20 carbonos (cuatro unidades C₅) son diterpenos. Los terpenos más grandes incluyen triterpenos (30 carbonos), tetraterpenos (40 carbonos) y politerpenoides (carbonos [C₅] n, donde n > 8 (Taiz y Zeiger, 2006)) (Figura 2)

Existen dos vías para la biosíntesis de terpenoides, los terpenos son biosintetizados a partir de metabolitos primarios en al menos dos maneras diferentes. En la bien estudiada vía del ácido mevalónico, tres moléculas de acetil-CoA se unen por etapas para formar ácido mevalónico (Figura 5). Este intermediorio clave de seis carbonos es entonces pirofosforilado, descarboxilado y deshidratado para producir difosfato de isopentenilo

(IPP2). El IPP es el bloque de construcción activado de cinco carbonos de terpenoides. Recientemente, se descubrió que el IPP también puede formarse a partir de intermedios de glucólisis o el ciclo de reducción de carbono fotosintético a través de un conjunto separado de reacciones denominado vía de fosfato de metileritritol (MEP) que opera en cloroplastos y otros plastidios (Lichtenthaler 1999). Aunque todos los detalles aún no se han aclarado, el gliceraldehído-3-fosfato y dos átomos de carbono derivados de piruvato parecen combinarse para generar un intermedio que eventualmente se convierte en IPP (Taiz y Zeiger, 2006).

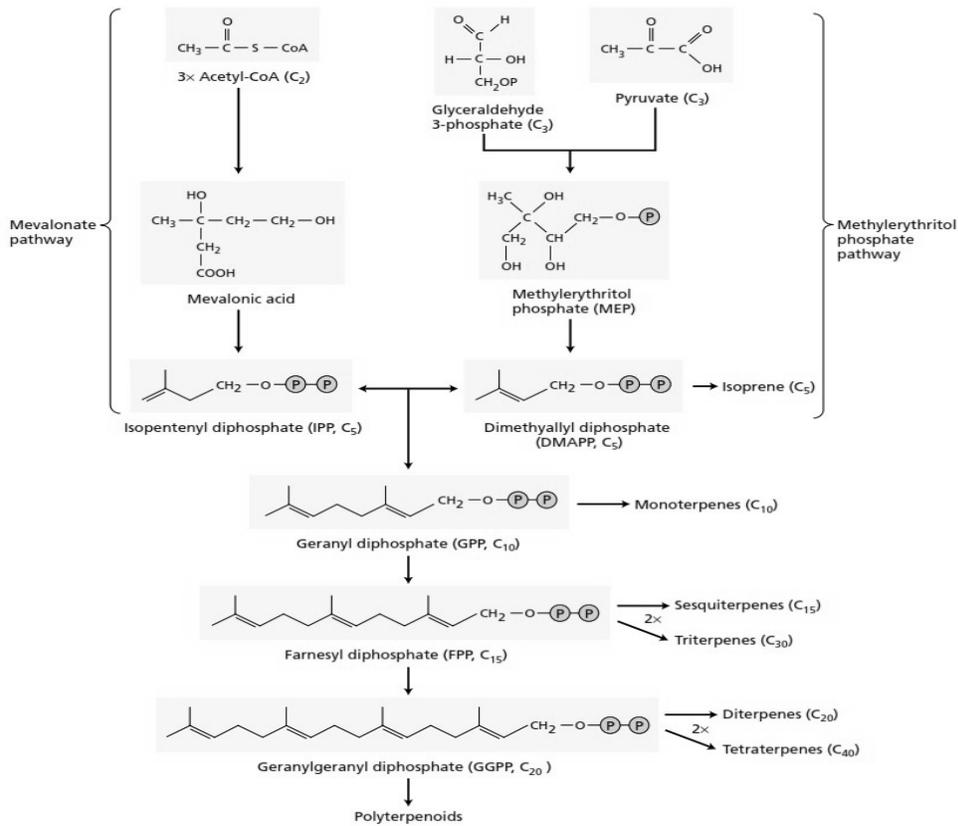


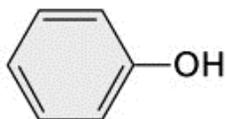
Figura 2. Esquema de la biosíntesis de terpenoides. Las unidades básicas de 5-carbono de terpenoides se sintetizan por dos vías diferentes. Los intermedios fosforilados, IPP y DMAPP, se combinan para formar terpenos de 10 carbonos, 15 carbonos y mayores (Taiz y Zeiger, 2006).

Funciones

Los tejidos vegetales éstos metabolitos están relacionados con la adaptación a factores de estrés, tanto abióticos como bióticos, tales como herbívoros y patógenos. Sin embargo, la alta volatilidad y la reactividad de algunos terpenoides también pueden afectar a la composición de la atmósfera (Maffei *et al.*, 2011). La volatilidad de los terpenoides proporciona, para las plantas sésiles, una herramienta de comunicación con otros organismos como las plantas vecinas, polinizadores y enemigos herbívoros, a través de infoquímicos por el aire. Desde un punto de vista fisiológico, brevemente, los volátiles vegetales están involucrados en tres procesos críticos: 1) aviso, la interacción planta-planta; 2) la señalización entre organismos simbióticos, y 3) la atracción de insectos polinizadores. Su papel en estas actividades domésticas subyace a las aplicaciones agrícolas que van desde la búsqueda de métodos sostenibles para el control de plagas hasta la producción de sabores y fragancias (Maffei, 2010).

2.3.1.1.1 Compuestos fenólicos

Las plantas producen una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol, un grupo funcional hidroxilo en un anillo aromático:



Estas sustancias se clasifican como compuestos fenólicos. Los fenólicos vegetales son un grupo químicamente heterogéneo de casi 10 000 compuestos individuales: algunos son solubles sólo en disolventes orgánicos, algunos son ácidos carboxílicos, solubles en

agua, o como glicósidos, y otros son grandes, polímeros insolubles. De acuerdo con su diversidad química, los fenólicos juegan una variedad de funciones en la planta. Muchos sirven como compuestos de defensa contra herbívoros y patógenos. Otros funcionan como comunicadores en la atracción de polinizadores, en la absorción de la radiación ultravioleta dañina, o en la reducción del crecimiento de plantas competidoras cercanas (Taiz y Zeiger, 2006).

La fenilalanina es un intermediario en la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos, por lo tanto, constituyen un grupo heterogéneo desde un punto de vista metabólico. Están involucradas dos vías básicas: la vía del ácido shikímico y la vía del ácido malónico (Figura 3). La vía del ácido shikímico participa en la biosíntesis de la mayoría de las plantas fenólicas. La vía del ácido malónico, aunque es una fuente importante de productos secundarios fenólicos en hongos y bacterias, es menos significativa en las plantas superiores. La vía del ácido shikímico convierte los precursores de carbohidratos simples derivados de la glicólisis y la vía de la pentosa fosfato a los aminoácidos aromáticos (Herrmann y Weaver, 1999). Uno de los intermediarios de la vía es el ácido shikímico, que ha dado su nombre a toda esta secuencia de reacciones. Algunos herbicidas como el glifosato de amplio espectro al bloquear un paso de esta vía, elimina a las plantas. La vía del ácido shikímico está presente en plantas, hongos y bacterias, pero no se encuentra en animales. Los animales no tienen forma de sintetizar los tres aminoácidos aromáticos: fenilalanina, tirosina y triptófano, que son por lo tanto nutrientes esenciales en las dietas de los animales. Las clases más abundantes de compuestos fenólicos secundarios en las plantas se derivan de la fenilalanina mediante la eliminación de una molécula de amoníaco para formar ácido

cinámico (Figura 3). Esta reacción es catalizada por la fenilalanina amoniacasa (PAL), quizás la enzima más estudiada en el metabolismo secundario de la planta. PAL está situado en un punto de ramificación entre el metabolismo primario y secundario, por lo que la reacción que cataliza es un importante paso regulador en la formación de muchos compuestos fenólicos. La actividad del PAL se ve incrementada por factores ambientales, como niveles bajos de nutrientes, luz (a través de su efecto sobre el fitocromo) e infección fúngica. El punto de control parece ser la iniciación de la transcripción. La invasión de hongos, por ejemplo, desencadena la transcripción de ARN mensajero que codifica PAL, aumentando así la cantidad de PAL en la planta, que luego estimula la síntesis de compuestos fenólicos. La regulación de la actividad PAL en las plantas es más compleja por la existencia en muchas especies de múltiples genes que codifican PAL, algunos de los cuales se expresan sólo en tejidos específicos o sólo bajo ciertas condiciones ambientales (Logemann *et al.*, 1995).

Las reacciones posteriores a la catalizada por PAL conducen a la adición de más grupos hidroxilo y otros sustituyentes. El ácido trans-cinámico, el ácido p-cumárico y sus derivados son compuestos fenólicos simples llamados fenilpropanoides porque contienen un anillo de benceno y una cadena lateral de tres carbonos. Los fenilpropanoides son bloques de construcción importantes de los compuestos fenólicos más complejos. En algunos casos, enzimas específicas, entre ellas PAL, son importantes para controlar el flujo a través de la vía. Se ha demostrado que varios factores de transcripción regulan el metabolismo fenólico uniéndose a las regiones promotoras de ciertos genes biosintéticos y activando la transcripción. Algunos de estos factores activan la transcripción de grandes grupos de genes (Jin y Martin 1999).

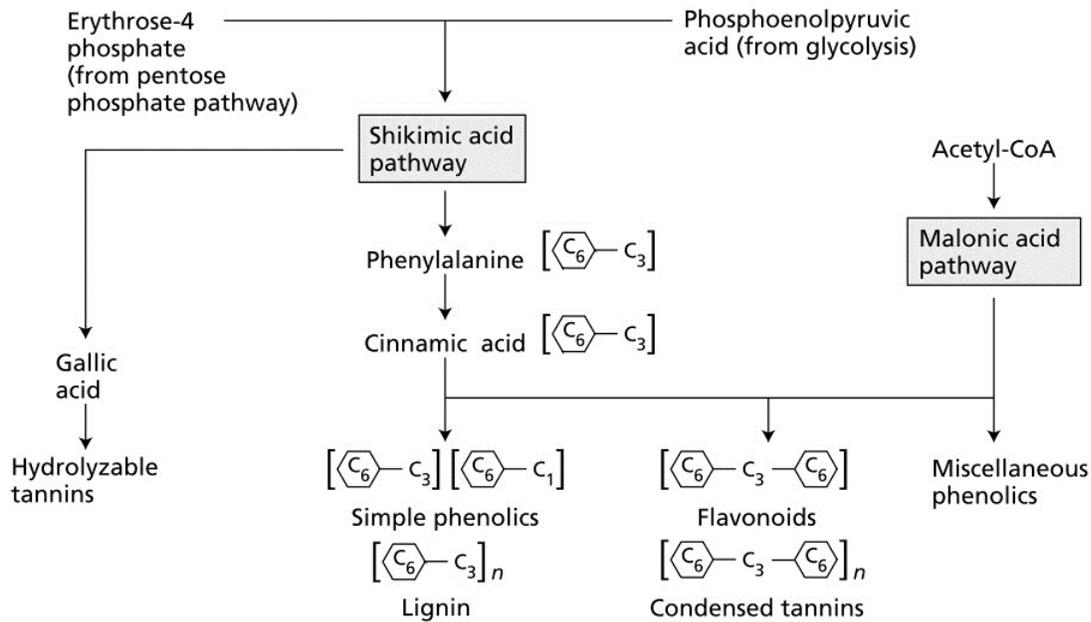


Figura 3. En las plantas superiores, la mayoría de los compuestos fenólicos se derivan de la fenilalanina, un producto de la vía del ácido shikímico. Las fórmulas entre paréntesis indican la disposición básica de los esqueletos de carbono (Jin y Martin 1999).

3.7.1.3 Compuestos que contiene nitrógeno

Una gran variedad de metabolitos secundarios de plantas contienen nitrógeno en su estructura. Se incluyen en esta categoría las defensas antiherbívoras conocidas como alcaloides y glicósidos cianogénicos, que son de considerable interés por su toxicidad para los seres humanos y por sus propiedades medicinales. La mayoría de los metabolitos secundarios nitrogenados son biosintetizados a partir de aminoácidos comunes, como alcaloides, glicósidos cianogénicos, glucosinolatos y aminoácidos no proteicos (Taiz y Zeiger, 2006).

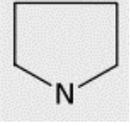
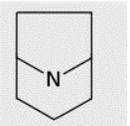
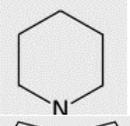
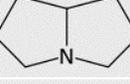
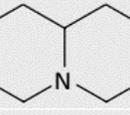
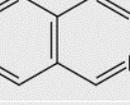
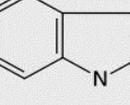
Los alcaloides son una gran familia de más de 15 000 metabolitos secundarios, se encuentran en aproximadamente el 20 % de las especies de plantas vasculares. El átomo de nitrógeno en estas sustancias es normalmente parte de un anillo heterocíclico, un

anillo que contiene átomos de nitrógeno y carbono. Como grupo, los alcaloides son más conocidos por sus sorprendentes efectos farmacológicos en animales vertebrados. Como sugiere su nombre, la mayoría de los alcaloides son alcalinos, a valores de pH comúnmente encontrados en el citosol (pH 7.2) o la vacuola (pH 5 a 6), se protona el átomo de nitrógeno. Por lo tanto, los alcaloides están cargados positivamente y son generalmente solubles en agua (Kabera *et al.*, 2014).

Los alcaloides son usualmente sintetizados a partir de uno de los siguientes aminoácidos, lisina, tirosina y triptófano. Sin embargo, el esqueleto de carbono de algunos alcaloides contiene un componente derivado de la vía terpenica. En el Cuadro 2 se enumeran los principales tipos de alcaloides y sus precursores (aminoácidos). Varios tipos incluyendo la nicotina y sus derivados (Cuadro 3), se biosintetizan de la ornitina, un intermediario en la biosíntesis de arginina. El ácido nicotínico de la vitamina B (niacina) es un precursor del anillo de piridina (seis miembros) de este alcaloide. El anillo de nicotina de pirrolidina (de cinco miembros) surge de la ornitina (Cuadro 3). El ácido nicotínico es también un constituyente de NAD + y NADP +, que sirven como portadores de electrones en el metabolismo. El papel de los alcaloides en las plantas ha sido objeto de especulación durante al menos 100 años. Se pensó que los alcaloides eran desechos nitrogenados (análogos a la urea y al ácido úrico en los animales), compuestos de almacenamiento de nitrógeno o reguladores del crecimiento, pero hay poca evidencia que apoye cualquiera de estas funciones. Se ha demostrado que la mayoría de los alcaloides funcionan como defensa contra depredadores, especialmente mamíferos, debido a su toxicidad y capacidad de disuasión. Un gran número de muertes de ganado son causadas por la ingestión de plantas que contienen alcaloides. En Estados Unidos, un porcentaje

significativo de todos los animales de ganadería de pastoreo se envenenan cada año por el consumo de grandes cantidades de plantas que contienen alcaloides, como los lupinos (*Lupinus*), larkspur (*Delphinium*) y groundsel (*Senecio*). Este fenómeno puede deberse al hecho de que los animales domésticos, a diferencia de los animales salvajes, no han sido sometidos a selección natural para evitar plantas tóxicas (Hartmann 1992).

Cuadro 3. Principales tipos de alcaloides y sus aminoácidos precursores (Taiz y Zeiger, 2006)

Clase de Alcaloides}	Estructura	Precursor biosintético	Ejemplo	Usos
Pirrolidina		Ornitina (aspartato)	Nicotina	Estimulante, depresivo, tranquilizante Tropano
Tropano		Ornitina	Atropina	Prevención de espasmos intestinales, antídoto contra otros venenos, dilatación de pupilas
Piperidina		Lisina (o acetato)	Coniine	Neurotoxina venenosa (paraliza las neuronas motoras), usado en homeopatía en pequeñas dosis
Pirrolizidina		Ornithine None	Retrorsine	Ninguno
Quinolizidina		Lisina	Lupinina	Restauración del ritmo cardíaco
Isoquinolina		Tirosina	Codeína	Analgésico (alivio del dolor), tratamiento de la tos
Indol		Triptófano	Psilocibina	Alucinógeno

2.3.2 Plaguicidas botánicos

Las plagas son uno de los graves problemas a los que se enfrenta la agricultura de hoy. Aunque hay muchas maneras de reducir o matar plagas, cada método de manejo de plagas tiene ciertas desventajas. Los plaguicidas sintéticos que se han comercializado son hidrocarburos halogenados u organofosforados que tienen larga vida medioambiental y poseen propiedades toxicológicas. Teniendo en cuenta lo anterior, existe una creciente necesidad de alternativas, ambientalmente benignas, toxicológicamente seguros, más selectivos y eficaces. Los plaguicidas botánicos son metabolitos secundarios de plantas, por lo que ofrecen una alternativa atractiva y favorable para el manejo de plagas (McLaren, 1986).

La literatura documenta que los metabolitos secundarios de plantas están implicados en la interacción de la planta con otras especies, principalmente en la respuesta de defensa de la planta contra las plagas. Así, los compuestos secundarios llamados botánicos representan un gran reservorio de estructuras químicas con actividad plaguicida, este recurso está en gran parte sin explotar para su uso como plaguicida. Hay varias ventajas de los plaguicidas botánicos como la degradación rápida por la luz solar, la humedad o por las enzimas de desintoxicación, muestran menos fitotoxicidad que los sintéticos. Las plantas superiores producen una diversidad de metabolitos secundarios que incluyen fenoles, terpenoides, alcaloides, lignanos y sus respectivos glucósidos. Estos juegan un papel importante en el sistema de defensa de las plantas y ofrecen una serie de prototipos estructurales para el desarrollo de moléculas que pueden servir como nuevos agentes para el control de plagas (Guleria y Tikku, 2009)

Estos son plaguicidas basados en sustancias naturales que controlan las plagas por mecanismos no tóxicos, en contraste con los plaguicidas químicos que contienen moléculas sintéticas que matan directamente a la plaga. Los plaguicidas bioquímicos caen en diferentes clases biológicamente funcionales, incluyendo feromonas y otros semioquímicos, extractos de plantas y reguladores naturales del crecimiento de los insectos (Montesinos y Bonaterra, 2009). Cuando se utilizan como un componente de los programas manejo integrados de plagas (IPM), los bioplaguicidas pueden disminuir considerablemente el uso de plaguicidas convencionales, mientras que los rendimientos de los cultivos permanecen altos. Existe ahora creciente preocupación entre los consumidores por la inocuidad de los alimentos y las prácticas ambientalmente racionales, dando cada vez más importancia al uso de biofertilizantes y bioplaguicidas (bioagentes) como alternativa a los productos químicos agrícolas. La producción mundial total de bioprotectos es superior a 3 000 t al año, la que aumenta a un ritmo acelerado. La cuota de mercado de los bioplaguicidas es sólo el 2.5 % del mercado total de plaguicidas (Gupta y Dikshit, 2010).

Las evaluaciones mundiales de los mercados de biocontrol muestran que el porcentaje de bioplaguicidas ha aumentado constantemente desde 1997, y se prevé que el impulso continúe a una tasa de 10 % anual. Las ventas mundiales de bioplaguicidas totales se estimaron en 460 millones de dólares en EE.UU. en 2000 y han aumentado anualmente, con proyecciones para llegar a más de mil millones de dólares en 2010 (Singh, 2014).

Por otro lado, las plantas, en su evolución han desarrollado mecanismos de defensa contra insectos, hongos, bacterias y otros organismos nocivos, y los metabolitos secundarios producidos por ellas constituyen una de esas barreras; por dicha razón, las plantas han sido capaces de protegerse de plagas por sí mismas antes de que el hombre

contribuya a su protección (Wilson, 1997). Así mismo, el hombre ha aprovechado estas propiedades y utiliza plantas para repeler o eliminar las plagas que afectan sus cultivos y alimentos almacenados (Chirinos, 2009).

El uso de extractos naturales para el control de enfermedades de importancia agrícola es cada vez más aceptado debido a la necesidad de emplear compuestos eficaces que no provoquen efectos negativos en la salud y en el ambiente (Chirinos, 2009), aunque es conveniente para la preparación de extractos no utilizar plantas que estén en vías de extinción, o difíciles de encontrar. De acuerdo con Singh (2014) las características que debe tener la planta bioplaguicida ideal son:

- a) Debe ser perenne.
- b) Debe tener una amplia distribución y estar presente ampliamente en la naturaleza; de lo contrario, deberá ser posible cultivarse mediante procedimientos agrícolas como cultivos de tejidos e ingeniería genética.
- c) Las partes de la planta que se van a utilizar deben ser desmontables: hojas, flores o frutos.
- d) La cosecha no significa la destrucción de la planta (evitar el uso de raíces o cortezas).
- e) Las plantas deben requerir poco espacio, manejo reducido y poca agua y fertilización.
- f) Las plantas podrán tener usos adicionales (uso medicinal).
- g) Las plantas utilizadas no deberían tener un valor económico elevado.
- h) Los ingredientes activos preferiblemente deben ser eficaces a bajas concentraciones.

La búsqueda de extractos vegetales está orientada a la obtención de productos con actividad selectiva, que no generen resistencia y con adecuada biodegradabilidad, condición que cumplen la mayoría de los metabolitos secundarios vegetales presentes en los extractos. A estas condiciones se agrega que el producto tenga la disponibilidad asegurada o sea potencialmente capaz de ser producido a costos razonables para los sistemas agrícolas a utilizarse (Arango, 2013).

De acuerdo con Chirinos (2009), las principales ventajas del uso de los extractos naturales son los siguientes:

- Por ser biodegradables no producen desequilibrios en el ecosistema, al ser de origen vegetal, estos bioplaguicidas provocan un impacto mínimo sobre la fauna benéfica, son efectivos contra enfermedades y no tienen restricciones toxicológicas.
- Son conocidos por el agricultor ya que generalmente se encuentran en su medio.
- La mayoría de los extractos tiene diversos usos, como lo es el caso de aquellos empleados por sus propiedades terapéuticas y efectos repelentes, entre otros.
- Su rápida degradación disminuye el riesgo residual en los alimentos.
- Algunos pueden ser usados poco tiempo ante de la cosecha.
- Muchos de estos compuestos no causan fitotoxicidad.
- Desarrollan resistencia más lentamente que productos sintéticos.

2.3.3 Plantas seleccionadas para el estudio

2.3.3.1 *Argemone ochroleuca*

A. ochroleuca Sweet (Papaveraceae) se conoce como "chicalote", es una mala hierba nativa de América del Norte, ampliamente extendida desde el sur de Estados Unidos

hasta el centro de México (Martínez, 1996). Se utiliza en medicina tradicional por los habitantes de Tepotzotlán, Estado de México. Con base en la información obtenida de sanadores en la región se ha reportado que las infusiones de la parte aérea se utilizan para aliviar las infecciones oculares manchas, verrugas, bombate el insomnio, la tos y los trastornos dermatológicos. *A. ochroleuca* es una hierba anual o perenne de corta vida (Neri, 1996) Hay algunas publicaciones sobre la composición química de *A. ochroleuca*, se han identificado ácidos grasos (Fletcher *et al.*, 1993), flavonoides (Stermitz *et al.*, 1969, Bhardwaj *et al.*, 1982, Saleh *et al.*, 1987, Fletcher *et al.*, 1993) y varios alcaloides tales como atropina, berberina (Espinosa y Sarukhan, 1997), queletrina, protopina, sanguinarina, dihidrosanguinarina, dihidroqueletrina, α -allacriptopina, heleritina, queilantifolina, reticulina y cospitina (Fletcher *et al.*, 1993). En el Cuadro 4 se muestra algunas de las propiedades biológicas de esta especie.

Cuadro 4. Actividad biológica de extractos de especies de *Argemone* sp.

Especie	Organismo	Metabolito	Literatura
Argemone sp.	<i>Fusarium sporotrichum</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Trichophyton</i> <i>mentagrophytes</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>Vibrio</i> <i>cholerae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Salmonella typhi</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	Isoquinolina alcaloide berberina	Reyes <i>et al.</i> (2011)
	<i>Meloidogyne incognita</i> y <i>Meloidogyne javanica</i>	-	Ramanat <i>et al.</i> (1982)
	Menor incidencia de <i>Meloidogyne incognita</i> en papaya	-	Reddy <i>et al.</i> (2012)
	Reducción de la incidencia de la población de mujeres adultas y caídas y aumento del ciclo de vida de <i>Meloidogyne incognita</i>	-	Hasan (1992)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Flavonoides, taninos, esteroles / terpenos y alcaloides	Sahu <i>et al.</i> (2012)
	<i>Aedes aegypti</i>	-	Sakthivadivel y Thilagavathy (2003)
	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Alternaria</i> <i>brassicae</i> , <i>Alternaria</i> <i>Cajani</i> , <i>Bipolaris</i> sp., <i>Curvularia lunata</i> , <i>Curvularia</i> sp., <i>Colletotrichum</i> <i>musae</i> , <i>Fusarium udum</i> , <i>Helminthosporium</i> sp., <i>pennisetti</i> <i>Helminthosporium</i> y <i>speciferum</i> <i>Helminthosporium</i>	Alcaloides terciarios y cuaternarios	Singh <i>et al.</i> (2010)

2.3.3.2 *Solanum rostratum*

Solanum rostratum Dun., es una planta nativa de América del Norte, es una especie de mala hierba nociva generalizada (Huang *et al.*, 2017). Muchos grupos indios en el centro y sur de México utilizan esta hierba como un remedio para el tratamiento de trastornos gastrointestinales y para dolencias renales. Estudios previos de *S. rostratum* condujeron

al aislamiento de alcaloides (solasonina y solamargina) (Novruzov *et al.*, 1973), cuscohygrine (Evans y Bilsborrow 1989), solanina (Dewick 2002), metilprotodioscina (Bah *et al.*, 2004). La presencia de estos alcaloides explica la toxicidad de la especie en el ganado y en el humano. Se ha reportado algunos beneficios para la salud humana, antioxidante, antibacteriano y citotóxico (Morais *et al.*, 2015, Ombra *et al.*, 2015).

Cuadro 5. Actividad biológica de extractos de especies de *Solanum rostratum*

Especie	Organismo	Metabolito	Literatura
<i>Solanum rostratum</i>	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i> , <i>Penicillium expansum</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> y <i>Fusarium poae</i>	-	Tequida <i>et al.</i> , (2002)

2.3.3.3 *Datura stramonium*

Datura stramonium es una planta con propiedades alucinógenas pertenecientes a la familia *Solanaceae* (Angiospermae dicotyledoneae). La familia *Solanaceae* es de gran importancia económica porque muchas de sus especies originarias de las Américas se han cultivado a lo largo de los años (Mino *et al.*, 2005). Otras plantas con propiedades psicoactivas de la misma familia son mandrágora (*Mandragora officinarum*), belladona (*Atropa belladonna*), henbane (*Hyoscyamus niger*) y tabaco (*Nicotiana tabacum*).

La familia también incluye plantas comestibles comunes como el tomate (*Lycopersicon esculentum*), la pimienta (*Capsicum annum*) y la papa (*Solanum tuberosum*). En particular, la papa es una de las más de 900 especies cultivadas pertenecientes al género *Solanum*, que también contiene la berenjena (*Solanum melogena*) (Friedman, 2004). El género *Datura* también incluye *Datura inoxia*, *Datura metel*, *Datura arborea* y *Datura stramonium*, que se denominan generalmente *D. stramonium*. *D. stramonium* es una

planta herbácea anual con una raíz fusiforme, un tallo vertical con bifurcaciones ramosas y una altura que a veces puede exceder un metro.

D. stramonium, similar a las otras especies *D. inoxia* y *D. metel*, es una planta altamente venenosa debido a una alta concentración de alcaloides potentes y tóxicos como la hioscina (también llamada escopolamina), la hiosciamina y la atropina, comúnmente conocida como "Daturinas". Estos alcaloides están presentes en concentraciones variables en todos los tejidos vegetales, principalmente en las semillas (Patterson y O'Hagan, 2002). La variación en la concentración de alcaloides depende de la etapa de desarrollo de la planta y de las condiciones ambientales en las que ha crecido. Hay una disminución en la concentración de alcaloides durante el día y un aumento en la noche, así como una caída después de un período lluvioso en lugar de un clima claro (Miraldi *et al.*, 2001). *D. stramonium* también contiene ácido málico, tanino, caucho, grasas, sales de calcio y potasio (Patterson y O'Hagan 2002). La planta se utiliza en la industria farmacéutica por sus propiedades antiinflamatorias, antiasmáticas, antiespasmódicas y antihelmínticas (Mino *et al.*, 2005). Además, se ha demostrado que los extractos de plantas de *D. stramonium* son eficaces contra la disnea, la tos nerviosa, la tos ferina, el asma, la enuresis, la epilepsia y la neuralgia. Además, tiene propiedades hipnóticas, anticlaspa, midriática, narcótica, analgésica y anestésica. La estructura química de algunos alcaloides también se encuentra similar a la acetilcolina, que es el neurotransmisor principal que proyecta impulsos del cerebro a las uniones neuromusculares. Por lo tanto, las propiedades de algunos de los alcaloides de *D. stramonium* se deben a la interferencia con los receptores de acetilcolina, tal vez compitiendo con ellos en las uniones sinápticas, bloqueando así o inhibiendo la neurotransmisión. Todas las partes de *D. stramonium* son venenosas, tanto las hojas

frescas como las secas y las semillas son altamente tóxicas y a veces letales. De hecho, dependiendo de la cantidad consumida, varios alcaloides de *D. stramonium* pueden tener efectos sinérgicos que resultan en pérdida de memoria, estupor, amnesia, euforia, alucinaciones y coma (Boumba *et al.*, 2004).

Cuadro 6. Actividad biológica de extractos de especies de *Datura stramonium*

Especie	Organismo	Metabolito	Literatura
<i>Datura stramonium</i>	<i>Fusarium mangiferae</i>	Alcaloides y terpenoides	Usha <i>et al.</i> (2009)
	<i>Tylenchulus semipenetrans</i> y <i>Anguina tritici</i>	Alcaloides, atropina, nicotina, hiosciamina y escopolamina	Mesh <i>et al.</i> (1986)
	<i>Meloidogyne incognita</i> y <i>Fusarium oxysporum</i>	Alcaloides	Sharma y Trivedi (2002)
	<i>Macrophomina phaseolina</i>	Daturina	Javaid y Saddique (2012)

2.3.3.4 *Malva parviflora*

Malva parviflora L. pertenece a la familia Malvaceae que incluye árboles, arbustos y hierbas. Las plantas de esta familia se caracterizan por su importancia económica, hortícola y medicinal (Beer y Howie, 1990). Los curanderos tradicionales y herbolarios utilizan polvo seco o una infusión hecha de hojas y raíces de *M. parviflora* para limpiar heridas y llagas. Una cataplasma caliente hecha de hojas también se usa para tratar heridas e hinchazón, se incorpora en una loción para tratar miembros lesionados y rotos (Shale *et al.*, 1999). Sin embargo, si se ingiere podría ser tóxico, ya que *M. parviflora* causa mortalidad en el ganado forrajero, como ovejas, caballos y ganado. Las ovejas son las más afectadas y desarrollan signos clínicos que incluyen escalofriante, tembloroso arqueado hacia atrás y respiración dificultosa. El ácido malvalico, un ácido graso

insaturado conocido anteriormente como ácido halfénico, puede contribuir a los efectos tóxicos de la especie. En un estudio reciente, se encontró que la fracción metanólica de polifenoles de las hojas y los tallos de esta planta contiene diferentes cantidades de fenoles, flavonoides, saponinas, alcaloides, esinas y taninos (Farhan *et al.*, 2012).

Cuadro 7. Actividad biológica de extractos de especies de *Malva parviflora*

Especie	Organismo	Metabolito	Literatura
<i>Malva parviflora</i>	<i>Fusarium graminearum</i>	(CW-1 y CW-3 de vicilin, CW-2 y CW-4 a partir de albúmina 2S)	Wang <i>et al.</i> (2001)
	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Proteus vulgaris</i>	Alcaloides, aceites esenciales y fenólicos	Islam <i>et al.</i> (2007)
	<i>Tribolium confusum</i>	Alcaloides	Khalis <i>et al.</i> (2013)

2.3.3.5 *Phytolacca icosandra*

La maleza tropical, *Phytolacca icosandra*, pertenece a la familia *Phytolaccaceae* es una planta con flores, nativa de América tropical desde México a Perú, también se encuentra en las Islas del Caribe. Las bayas de *P. icosandra* se han utilizado tradicionalmente como jabón para lavar ropa de algodón, también presentan propiedades molusquicidas, espermicidas y hemolíticas (Treyvaud *et al.*, 2000). Las hojas y las raíces se utilizan para diversas dolencias humanas y animales como la sarna, la tiña, la caspa, la picazón, el dolor de cabeza, el reumatismo, las irritaciones de la piel, el dolor de estómago y las lombrices intestinales de los niños. Las hojas de *P. icosandra* contienen altas concentraciones de triterpenoides y saponinas (Treyvaud *et al.*, 2000).

Cuadro 8. Actividad biológica de extractos de especies de *Phytolacca icosandra*.

Especie	Organismo	Metabolito	Literatura
	<i>Haemonchus contortus</i>	Saponinas	Hernández <i>et al.</i> (2011)
<i>Phytolacca icosandra</i>	<i>B. glabrata</i>	Ácido 3-O-1-D-glucopiranosilserjánico	Treyvaud <i>et al.</i> (2000)

3 PUBLICACION

Extractos de plantas para el control de antracnosis en *Carica papaya* durante el periodo de floración y poscosecha

3.1 Introducción

En 2014, México ocupó el quinto lugar de producción de papaya (*Carica papaya* L.) a nivel mundial con un rendimiento de 764 514 t (FAO, 2016). Sin embargo, su cultivo presenta problemas fitosanitarios por la presencia de plagas y enfermedades, las más importantes causadas por diversos tipos de hongos como *Colletotrichum gloeosporioides*, *Ascochyta caricae*, *Phytophthora palmivora*, *Fusarium solani* y *Rhizopus stolonifer* (CABI, 2016). *Colletotrichum gloeosporioides* es causante de antracnosis, enfermedad distribuida especialmente en cultivos ubicados en regiones húmedas (80 % humedad relativa) y cálidas (temperaturas medias anuales superiores a 22 °C) (Paull *et al.*, 1997), características climáticas particulares del cultivo de papaya. La incidencia de antracnosis (10 a 40 %) también se presenta en poscosecha, lo que repercute en pérdidas económicas para el productor (Vázquez *et al.*, 2005). El fruto es atacado por *C. gloeosporoides* antes de la madurez fisiológica, el hongo se mantiene latente durante meses hasta que se inicia la maduración del fruto, momento en el cual se presentan los cambios físicos-químicos necesarios para el desarrollo de lesiones (Dickman y Alvarez, 1983). Cuando las condiciones son favorables para el desarrollo de la enfermedad, el

tejido infectado se cubre con masas de esporas de color rosado (Menezes y Hanlin, 1996).

El control de antracnosis en papaya (pre y poscosecha) se realiza mediante la aplicación de plaguicidas sintéticos (Flavia *et al.*, 2001) lo que ha ocasionado: 1) resistencia en el patógeno; 2) daños en la salud del consumidor y el ambiente; y 3) deterioro de la calidad del producto con manchas, olores y sabores desagradables.

El control biológico con microorganismos antagonistas, así como, la aplicación de extractos vegetales con propiedades antimicrobianas son otras alternativas para el control de esta enfermedad (Ippolito *et al.*, 2005). Sin embargo, los estudios de la actividad fungicida de extractos vegetales y de sus componentes se han intensificado debido a la demanda de alimentos orgánicos por los consumidores (Tavares *et al.*, 2009) y a las exigencias actuales de la defensa fitosanitaria de los productos hortícolas (Regnault *et al.*, 2004). En la actualidad, los extractos vegetales con propiedades fungistáticas (inhibición del desarrollo del hongo) y/o fungicidas (destrucción) presentan varias ventajas debido a que no generan resistencia, son biodegradables y no contaminan (Regnault *et al.*, 2004).

El control de fitopatógenos con extractos vegetales se debe principalmente a la presencia de metabolitos secundarios, sintetizados en los vegetales como parte de su mecanismo de defensa. La diversidad de componentes en los extractos explica su amplio espectro de actividad biológica (Regnault *et al.*, 2004). Grainge (1988) menciona que aproximadamente 2,400 especies vegetales tienen propiedades fungicidas, nematocidas, bactericidas e insecticidas; de las cuáles cerca de 400 presentan propiedades fungicidas

contra 142 diferentes especies de hongos fitopatógenos. Entre las principalmente familias vegetales reportadas con actividad fungicida destacan *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Fabaceae*, *Lamiaceae*, *Ranunculaceae*, *Rosaceae* y *Cactaceae*, entre otras (Grainge, 1988). Sin embargo, a pesar de la gran diversidad vegetal que existe en México, son pocas las especies vegetales que han sido estudiadas para el control del hongo *C. gloeosporioides*, entre las que destacan *Argemone ochroleuca*, *Solanum rostratum*, *Datura stramonium*, *Malva parviflora*, *Phytolacca icosandra* y *Equisetum arvense*. Por lo tanto, el objetivo del estudio fue evaluar la actividad fungistática de los extractos hexánico y metanólico de seis especies vegetales en pre y poscosecha del fruto de papaya cv. Maradol (*Carica papaya* L.).

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Colecta del material y preparación de los extractos

Se recolectaron diferentes tejidos de las especies *Argemone ochroleuca* S., *Solanum rostratum* D., *Datura stramonium* L., *Malva parviflora* L., *Phytolacca icosandra* L., y *Equisetum arvense* L. libres de plagas y enfermedades (Cuadro 1). Para su certificación taxonómica se preparó un ejemplar de herbario de cada especie y se depositó en el Herbario-Hortorio “Jorge Espinoza Salas” de Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo (Cuadro 9).

Cuadro 9. Características geográficas de los sitios de recolecta de seis especies vegetales (2016).

Especie	Tejido	Lugar de recolecta en México	Localización	Número de registro*
<i>Argemone ochroleuca</i> S.	Hojas	Chinameca, Morelos	18°37'34.7" N, 98° 59'31.8" O	313096
<i>Datura stramonium</i> L.	Semilla	Texcoco, Edo. Mex.	19°9'10.3" N, 98°53'35.4" O	313097
<i>Equisetum arvense</i> L.	Partes áreas	Zamora, Michoacán	19°56'38.6" N, 102° 15'56.5" O	313098
<i>Malva parviflora</i> L.	Hojas y raíz	Texcoco, Edo. Mex.	19°29'26.1" N, 98° 52'23.4" O	313099
<i>Phytolacca icosandra</i> L.	Fruto	Tepetlixpan, Edo. Mex.	18°59'26.3" N, 98°51'30.9" O	313100
<i>Solanum rostratum</i> D.	Hojas	Chinameca, Morelos	18°37'23.7" N, 98° 59'23.0" O	313101

*Herbario-Hortorio "Jorge Espinoza Salas" de Preparatoria Agrícola de la UACH.

La muestra seca y molida de cada especie se colocó en un equipo soxhlet a reflujo constante en hexano durante 48 h; posteriormente, el extracto metanólico se obtuvo mediante el mismo procedimiento con el residuo vegetal libre de hexano. Los extractos orgánicos (metanólico y hexánico) se concentraron a presión reducida en un rotaevaporador Büchi (r-210) para obtener los extractos crudos (hexánico y metanólico) (García Mateos *et al.*, 2007). A partir de cada extracto por dilución seriada se prepararon tres concentraciones (10, 25 y 50 %) para cada bioensayo.

3.2.2 Cultivo de papaya para los bioensayos en pre y poscosecha

En un semillero de unicel con sustrato (turba + agrolita en una proporción 2:1) se establecieron las semillas viables de papaya cv. Maradol adquiridas en una casa comercial. Se realizaron tres riegos por día de manera automática mediante microaspersores con un caudal de 27 L h⁻¹ y una duración de 10 min. Las plántulas de papaya, a los dos meses de la germinación, fueron trasplantadas a una parcela de la Comunidad de Chinameca, Morelos, México región que se localiza a 1400 m, con clima cálido subhúmedo, precipitación y temperatura media anual de 800 mm y 24 °C, respectivamente (García, 2004).

3.2.3 Aislamiento y caracterización de *C. gleosporioides*

El hongo se aisló de frutos de papaya cv. Maradol con lesiones características visuales de antracnosis (lesiones superficiales, hundidas, redondas o angulares, con masas de conidios de color rosa salmón a oscuras) (Bailey *et al.*, 1993), provenientes de dos estados de la República Mexicana (Colima y Morelos). El fruto se fraccionó en cinco

secciones (1 x 1 cm), cada fracción se colocó en cajas Petri con medio de cultivo de Papa Dextrosa Agar (PDA, BD Bioxon®), se encubaron a 28 ± 2 °C durante 3 d (Acosta *et al.*, 2002). Posteriormente, se tomó una muestra del hongo en desarrollo para obtener un cultivo monoconidial según la técnica descrita Leslie y Summerell (2008) con la finalidad de obtener inóculo puro (IP) proveniente de una sola colonia.

3.2.4 Identificación Molecular

El hongo (IP) se identificó mediante análisis molecular de acuerdo a CTAB 2 % (Doyle y Doyle, 1990). La técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction) para los aislamientos se llevó a cabo utilizando los iniciadores ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.*, 1990), los cuales permitieron amplificar los espacios internos transcritos y el gen 5.8S del ADN ribosomal (región ITS). Los fragmentos amplificados por PCR fueron analizados en un secuenciador ABI PRISM® 3700 Genetic Analyzer.

3.2.5 Bioensayo de sensibilidad *in vitro*

Para la evaluación *in vitro* se utilizó el método de medio de cultivo envenenado modificado (Guerrero *et al.*, 2007). Diferentes concentraciones (10, 25 y 50 %) de cada extracto (1 mL) se distribuyeron superficialmente en una caja Petri (UE) con el medio de cultivo PDA, se dejó reposar durante 1 h hasta la absorción en el medio. Por otro lado, se obtuvo un cilindro (8 mm) de diámetro de medio de cultivo de PDA con el inóculo (IP) y se colocó en centro de cada unidad experimental. Las unidades experimentales se encubaron a 27 ± 2 °C. Se consideraron un testigo absoluto (agua esterilizada) y dos testigos comerciales: Merivon® (Fluxapyroxad + Piraclostrobina) (0.5 g L^{-1}) y Progranico®Mega Extracto de *Larrea tridentata* comercial (7.5 mL L^{-1}). Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento en un diseño completamente al azar, cada tratamiento correspondió a una

concentración por extracto de planta y los tres tratamientos de los testigos sumaron 38 tratamientos. Después de 12 d de crecimiento se midió el halo de inhibición del crecimiento (mm) utilizando un pie de rey (Vernier®), el porcentaje de inhibición se calculó con la fórmula: $\% I = (\text{área de crecimiento tratamiento} / \text{área de testigo}) * 100$. La efectividad biológica de los tratamientos se calculó mediante la fórmula de Abbott (1925): $ET = [(IT - it) / IT] * 100$, donde: ET=Efectividad del tratamiento, IT= porcentaje de infección del testigo positivo, it= porcentaje de infección de cada tratamiento.

3.2.6 Efectividad biológica en etapa de floración

Las plantas establecidas en campo, se inocularon con el IP a una concentración 1×10^5 UFC.mL⁻¹ de *C. gloeosporioides*. Las flores se asperjaron con cada concentración del extracto a los 6, 10 y 14 d después del inicio de floración con ayuda de una aspersora de mochila motorizada a 120 psi. La medición de la variable respuesta se realizó a los 10, 14 y 20 d. Se consideraron un testigo positivo (agua esterilizada) y dos testigos negativos: Merivon® (0.5 g L⁻¹) y Extracto de *Larrea tridentata* comercial (7.5 mL L⁻¹).

El experimento se estableció bajo un diseño de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones (cuatro plantas por repetición), con un total de 16 plantas por tratamiento. Los tratamientos consistieron fueron: extracto *P. icosandra* en tres concentraciones (10, 25 y 50 %), se consideraron: un testigo positivo (agua esterilizada) y dos testigos negativos: Merivon® (0.5 g L⁻¹) y Extracto de *Larrea tridentata* comercial (7.5 mL L⁻¹). La evaluación se realizó en 120 flores (30 flores por repetición) elegidas al azar. La Incidencia se evaluó por triplicado como el número de flores que mostraron síntomas típicos de la enfermedad descritos por Vasquez *et al.* (2012) con respecto al número total de flores muestreadas; la incidencia fue expresada en porcentaje para determinar el

control de la enfermedad. La efectividad se evaluó con la fórmula Abbott (1925) de los datos obtenidos de la incidencia.

3.2.7 Efectividad biológica en frutos poscosecha

Las plantas establecidas en campo, se inocularon con el IP a una concentración 1×10^5 UFC.mL⁻¹ de *C. gloeosporioides*. Las flores (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) se asperjaron con cada concentración del extracto a los 6, 10 y 14 d después del inicio de floración con ayuda de una aspersora de mochila motorizada a 120 psi. La medición de la variable respuesta se realizó a los 10, 14 y 20 d. Se consideraron un testigo positivo (agua esterilizada) y dos testigos negativos: Merivon® (0.5 g L⁻¹) y Extracto de *Larrea tridentata* comercial (7.5 mL L⁻¹).

El experimento se estableció bajo un diseño de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones (cuatro plantas por repetición), con un total de 16 plantas por tratamiento. Los tratamientos consistieron fueron: extracto *P. icosandra* en tres concentraciones (10, 25 y 50 %), se consideraron: un testigo positivo (agua esterilizada) y dos testigos negativos: Merivon® (0.5 g L⁻¹) y Extracto de *Larrea tridentata* comercial (7.5 mL L⁻¹).

La evaluación se realizó en 120 flores (30 flores por repetición) elegidas al azar. La Incidencia expresada en porcentaje para determinar el control de la enfermedad, se evaluó por triplicado como el número de flores que mostraron síntomas típicos de la enfermedad descritos por Vasquez *et al.* (2012) con respecto al número total de flores muestreadas, se calculó: Incidencia = (Número de flores con síntomas / número total de flores evaluadas) * 100. La efectividad fue evaluada por Abbott (ET) = 100, donde: ET = efectividad del tratamiento, IT = porcentaje de incidencia de control positivo, = porcentaje de incidencia de cada tratamiento.

3.2.8 Análisis fitoquímico

Se detectó cualitativamente por cromatografía en capa fina (CCF) la presencia de alcaloides, flavonoides y terpenoides en los extractos metanólicos y hexánicos de cada especie vegetal mediante la aplicación de 1 μ L de extracto en cromatoplasmas de gel de sílice 60 F 254 (Merck). Para la identificación de alcaloides se usó como eluyente metanol:diclorometano (8:2 % v/v) y el agente cromogénico fue el reactivo Dragendorff; la presencia de manchas color marrón en la cromatoplasma indicaron la presencia de alcaloides (Wagner *et al.*, 1996). Para la identificación de flavonoides se empleó como eluyente una mezcla de butanol:ácido acético:agua (BAW) en una proporción de 40:10:50 % (v/v), los agentes cromogénicos fueron 2-aminoetil difenilborinato (NP) y polietilenglicol 4000 (PEG); los componentes se visualizaron mediante UV a una longitud de onda de 365 nm para observar la fluorescencia de color anaranjado característica de flavonoides (Wagner *et al.*, 1996). Para la identificación de terpenoides se utilizó como eluyente una mezcla de tolueno:acetato de etilo (85:15 % v/v), el agente cromogénico empleado fue vainillina al 1% v/v en etanol y ácido sulfúrico al 10 % v/v en etanol, la presencia de manchas en la placa de color violeta indicó prueba positiva para terpenoides (Wagner *et al.*, 1996).

3.3 Resultados y discusión

3.3.1 Caracterización de *C. gleosporioides*

La amplificación del ADN mediante PCR con los iniciadores especie-específicos para *C. gleosporioides* en combinación con los iniciadores universal ITS4 permitió la

identificación de *C. gloeosporioides* con una confiabilidad de 97 % (Figura 4). La amplificación permitió observar 450 pares de bases, previamente reportado para la misma especie por Tapia *et al.* (2008) quienes caracterizaron a este patógeno como el agente causal de antracnosis. Asimismo, Talhinhos *et al.* (2002) caracterizaron el agente causal de antracnosis en *Lupinus* spp. reportando la misma cantidad de pares de bases para *C. gloeosporioides*.

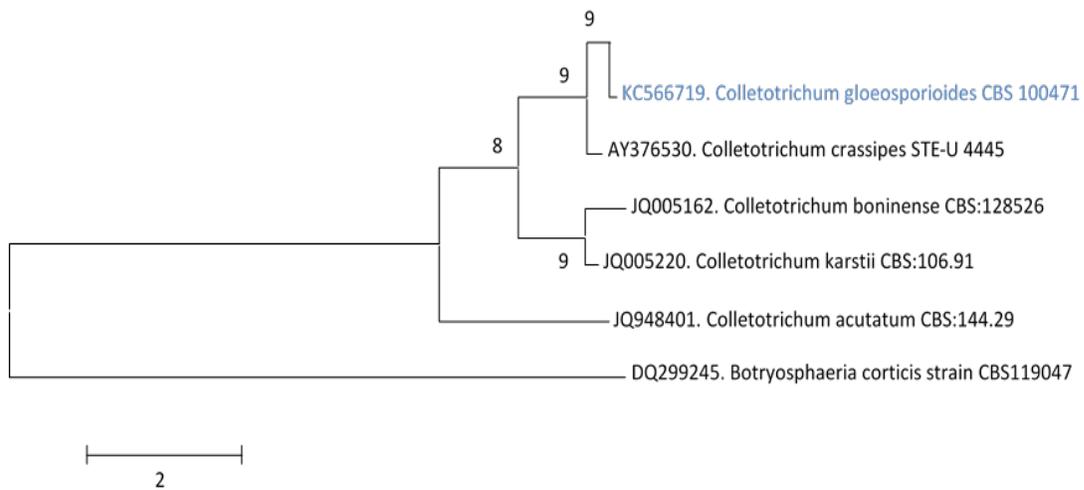


Figura 4. Árbol filogenético construido con el método de Máxima Parsimonia, para la confiabilidad de los nodos, se consideraron 1000 repeticiones bootstrap.

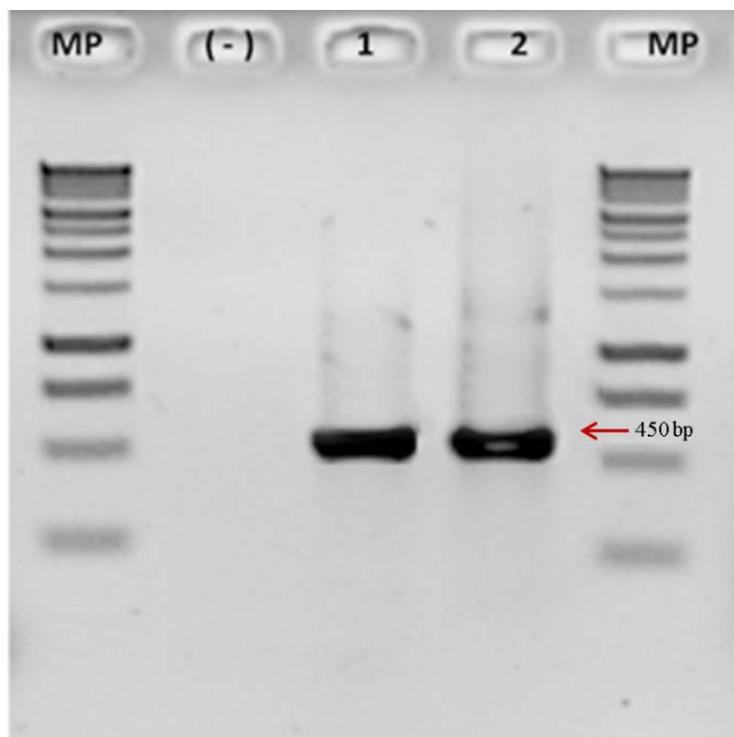


Figura 5. Amplificación de la región correspondiente al Espacio Transcrito Interno del DNA ribosomal de 450 pares de bases (bp) aproximadamente. MP: Marcador de peso molecular de 1KB. (-): Control negativo. Carril 1: Muestra obtenida por aislamiento monoconidial. Carril 2: Muestra obtenida por aislamiento realizado por punta de hifa.

3.3.2 Bioensayo de sensibilidad

El extracto hexánico de las seis especies no mostró actividad biológica contra *C. gloeosporoides* (datos no mostrados). El análisis estadístico de la evaluación *in vitro* de los extractos metanólicos de las seis especies mostraron diferencias significativas del halo de inhibición entre extractos y los testigos. El extracto metanólico de *P. icosandra* a la concentración más baja (10 %) (Cuadro 10) fue el que presentó mayor efecto de inhibición de crecimiento micelial en comparación con los extractos metanólicos de las especies restantes a la misma concentración. Todos los extractos a la concentración más baja (10 %) (Cuadro 10) mostraron menor halo de inhibición en comparación con los fungicidas comerciales: Merivon® y Extracto de *Larrea tridentata*; la misma tendencia se

observó en los extractos de todas las especies a la concentración de 25 % con respecto a los testigos: testigo positivo (agua esterilizada) y dos testigos negativos: Merivon® (0.5 g L⁻¹) y Extracto de *Larrea tridentata* comercial (7.5 mL L⁻¹). Sin embargo, el extracto de *P. icosandra* a la concentración más elevada (50 %) resultó más eficaz que los extractos restantes y que el Extracto de *Larrea tridentata*, pero menor actividad que el fungicida sintético (Cuadro 3).

El efecto fungistático observado desde la menor concentración del extracto metanólico de *P. icosandra* se podría deber a la presencia de terpenoides, como se encontró en el análisis fitoquímico, aunque no se ha reportado la actividad biológica de terpenoides en hongos fitopatógenos. Algunos autores mencionan la actividad insecticida *in vitro* del extracto de *P. icosandra* en larvas de *Haemonchus contortus* en el estadio larvar (L3) y en huevos es debido a la presencia de cumarinas, flavonoides, esteroides, terpenos y/o saponinas o a un efecto sinérgico de los componentes (Hernandez *et al.*, 2011). Asimismo, se ha reportado la actividad molusquicida de esta especie posiblemente por la presencia de saponinas (Treyvaud *et al.*, 2000); también se encuentra reportada la actividad del extracto metanólico de esta especie en mosquita blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) en un cultivo de tomate en condiciones de invernadero (Angeles *et al.*, 2011).

Cuadro 10. Comparación de medias del halo de inhibición de *C. gloeosporioides* de los extractos metanólicos de seis especies vegetales

Tratamiento	Concentración (10 %)		Concentración (25 %)		Concentración (50 %)	
	Halo de inhibición (cm)	Efectividad (%)	Halo de inhibición (cm)	Efectividad (%)	Halo de inhibición (cm)	Efectividad (%)
<i>Argemone ochroleuca</i> S.	6.127 c-d	16.8	4.095 c	44.4	1.925 d	73.8
<i>Solanum rostratum</i> D.	7.128 b	3.3	6.402 b	12.8	5.225 c	29.1
<i>Datura stramonium</i> L.	5.928 d	19.5	3.415 d-c	53.7	1.500 e	79.6
<i>Malva parviflora</i> L.	6.448 c	12.5	4.050 d-c	45.0	1.550 e	78.4
<i>Equisetum arvense</i> L.	7.475 a-b	1.9	7.230 a-b	12.6	6.400 b	12.5
<i>Phytolacca icosandra</i> L.	5.070 e	31.2	3.163 d	46.0	1.100 f	85.15
Merivon	0.525 g	92.8	0.500 f	92.8	0.500 a	92.8
Progranic® mega	1.550 f	78.9	1.500 e	78.9	1.500 g	78.9
Testigo	7.825 a	-	7.800 a	-	7.800 d	-
C.V.	2.7934		8.45427		1.4070	

No se ha reportado la actividad fungicida de *P. icosandra* en *C. gloeosporioides*, aunque existen estudios de otras especies, como los extractos de ajo (*Allium sativum* L.), acuyo (*Piper auritum* HBK.), guayaba (*Psidium guajava* L.) y eucalipto blanco (*Eucalyptus globulus* Labill.) que reducen significativamente el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* en 54.3, 48.8, 47.7 y 39 %, respectivamente (Baños *et al* 2004).

3.3.3 Evaluación en floracion

El extracto metanólico de *P. icosandra* supero estadísticamente en efectividad en la evaluación *in vitro* (31.2, 46.0 y 85.15; para la concentración de 10, 25 y 50 % respectivamente) a los extractos restantes, por lo tanto, fue el único que se evaluó en

etapa de floración en 6, 10 y 14 d de floración, considerados después de 120 días después de la germinación. Del número total de flores evaluadas a los 6, 10 y 14 d (en cada evento se eligieron flores diferentes) solamente 43, 38, 35 flores (35.83, 31.66 y 29.16 % respectivamente) presentaron síntomas de la enfermedad (necrosis y pudrición) descritos por Vasquez *et al.* (2012) (Figura 3), no dieron origen a frutos (de los Santos *et al.*, 2000).

La efectividad del extracto metanólico de *P. icosandra* aumentó a los 10 y 14 d, pero fue estadísticamente inferior a la de los fungicidas comerciales (Cuadro 11) (Figura 6), lo que explica la mayor incidencia del hongo en las flores en donde se aplicó el extracto en comparación con los testigos comerciales. Es importante señalar a el extracto de *P. icosandra* como el extracto comercial presentaron menor incidencia (14 d) que el fungicida sintético posiblemente a la posible degradación por características ambientales (Figura 6).

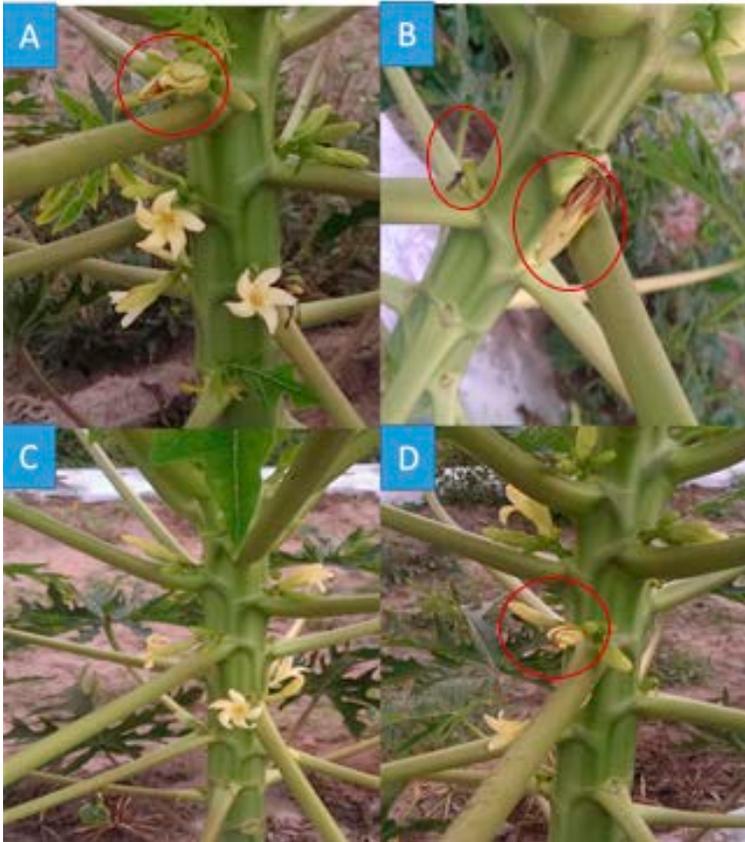
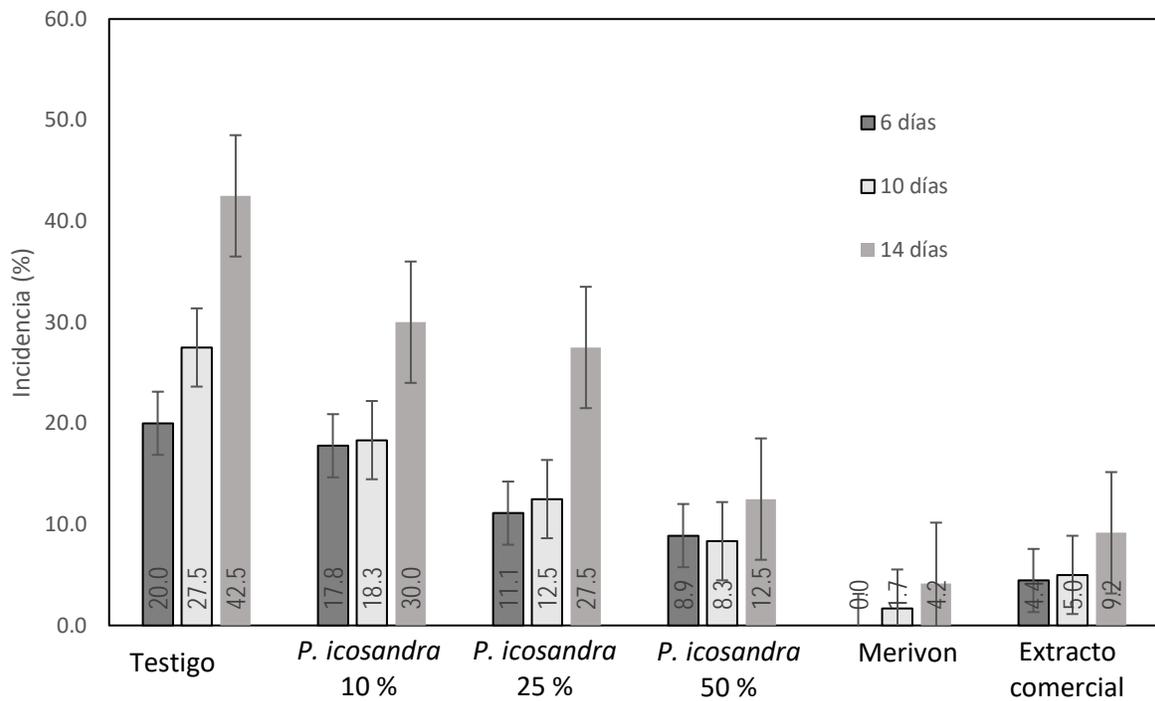


Figura 6. Número de flores con síntomas típicos de antracnosis en la evaluación a los 10 d después de la inoculación y aplicación del extracto: A) *P. icosandra* (50 %); B) Testigo absoluto; C) Merivon®; D) Porgranic®Mega (Extracto de *Larrea tridentata*).



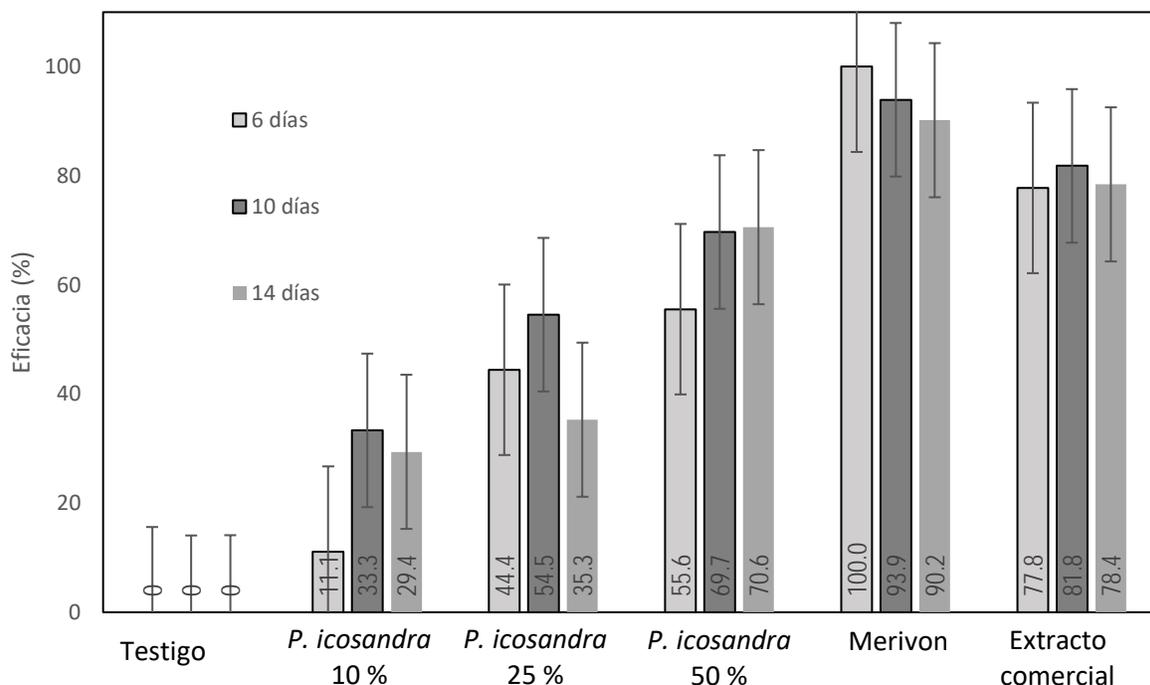


Figura 7. Comparación de medias de eficacia y crecimiento micelial del extracto metanólico de *P. icosandra* en flores de papaya infestadas con *C. gloeosporoides*.

Cuadro 11. Número de flores con síntomas típicos de *C. gloeosporoides* después de la aplicación de los tratamientos

Tratamiento	Dosis	Evaluación	Evaluación	Evaluación	Tasa de crecimiento
		6 d	10 d	14 d	
		Numero de flores	Numero de flores	Numero de flores	
Testigo absoluto	-----	6.25 a	8.25 a	12.75 a	5.8
<i>Phytolacca icosandra</i>	10*	5 ab	5.5 b	9 b	4.5
<i>Phytolacca icosandra</i>	25	3.5 bc	3.75 bc	8.25 b	2.8
<i>Phytolacca icosandra</i>	50	2.25 dc	2.5 cd	3.75 c	2.1
Meribon	1.6**	0 e	0.5 e	1.25 d	1.3
Extracto de gobernadora	7.5	1.5 ed	1.5 de	2.75 cd	1.3
DMSH		1.7962	1.9461	1.8156	

*= %; ** = mL.L⁻¹

3.3.4 Poscosecha

El fruto tratado con el extracto metanólico de *P. icosandra* al 50 % mostro una severidad aceptable (5 %) a los 8 d después de la inoculación (Figura 8), esta concentración fue

estadísticamente igual al testigo comercial extracto de *Larrea tridentata*, pero las tres concentraciones (10, 25 y 50 %) de *P. icosandra* mostraron en el fruto severidades menores a las del testigo absoluto (agua destilada), la misma tendencia se observó a los 12 d después de la inoculación (Cuadro 12). Cabe mencionar que las investigaciones realizadas para el control de antracnosis mediante extractos vegetales son pocas.

Al respecto, Baños *et al.* (2004) señalan que los extractos de ajo y de eucalipto redujeron la severidad de antracnosis en frutos de papaya almacenados a 25 °C en 45 y 41.7 %, respectivamente. De igual manera, los extractos de hojas de anona roja (*Annona reticulata*) y de hoja y semilla de papaya (*Carica papaya*) combinadas con quitosano (2.5 %) redujeron el desarrollo en 20 % (Bautista *et al.*, 2003).

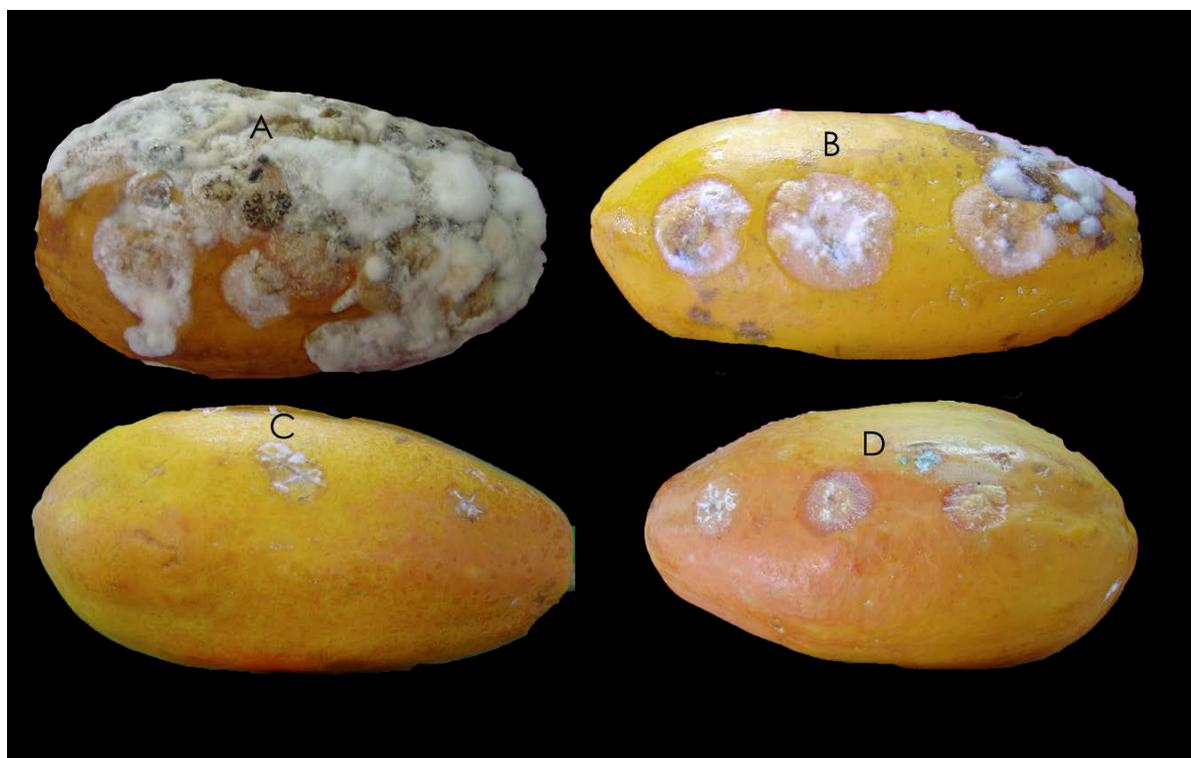


Figura 8. Resultados de inoculación y aplicación a los 12 d de: A) *P. icosandra* (50 %); B) Testigo absoluto; C) Merivon®; D) Porgranico®Mega (Extracto de *Larrea tridentata*)

Cuadro 12. Comparación de medias de severidad y efectividad del extracto metanólico de *P. icosandra* en *C. gloeosporoides* en frutos de papaya.

Tratamiento	8 d		12 d	
	Severidad	Efectividad (%)	Severidad	Efectividad (%)
<i>Phytolacca icosandra</i> L.	9.167 b	47.6	20.8 b	51.9
<i>Phytolacca icosandra</i> L.	5.833 bc	66.7	15.5 bc	64.2
<i>Phytolacca icosandra</i> L.	5 c	71.4	11.83 c	72.7
Merivon®	0 d	100	4 d	90.8
Extracto de <i>Larrea tridentata</i>	5.333 c	69.5	12.1 c	71.9
Testigo absoluto	17.5 a	-	43.3 a	-

3.3.5 Análisis fitoquímico

El rendimiento del extracto metanólico de *P. icosandra* fue mayor (40.1 g 100 mg⁻¹ p. s.) en comparación al de los extractos de las especies restantes (21.1, 23.4, 34.3, 9.7 y 18.4 g 100 mg⁻¹ p. s., respectivamente). La identificación cualitativa del tipo de metabolito por CCF (Cuadro 6) permitió formar tres grupos de extractos vegetales por la actividad

antifúngica observada. En el primero se encontraron los extractos de *S. rostratum* y *E. arvense* que presentaron menor actividad, en los que se identificó únicamente la presencia de flavonoides. Este tipo de metabolitos se caracterizan principalmente por sus propiedades medicinales y antioxidantes. Al respecto, Mimica *et al.* (2008) reportaron las propiedades antioxidantes de flavonoides aislados de *E. arvense*.

El segundo grupo comprendió a los extractos de las especies *D. stramonium*, *M. parviflora* y *A. ochroleuca* que mostraron actividad media; en los extractos de estas especies se identificó la presencia de alcaloides, lo que podría explicar la actividad observada en estos extractos; sin embargo, no existe información publicada de la actividad fungicida de estos metabolitos.

La variabilidad del perfil de alcaloides en diversas especies vegetales constituye un mecanismo de defensa químico, así como diferente actividad, lo que proporciona resistencia contra ciertos fitopatógenos (Kinghorn y Balandrin, 1984; Wink, 1992; Aniszewski, 2007). Principalmente, los alcaloides del grupo quinolizidínicos y tropánicos han sido más estudiados por su actividad fungicida (Wink, 1992a; 1993b; Omhiya *et al.*, 1995). García *et al.* (2008) reportan la actividad fungicida de alcaloides quinolizidínicos presentes en *Calia secundiflora* contra *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum* y *Monilia fructicola*. Diversos estudios señalan la presencia de alcaloides tropánicos en *D. stramonium* (Robins *et al.*, 1991; Aniszewski, 2007), así como su actividad antifúngica. Usha *et al.* (2009) señalan la actividad de *D. stramonium* contra *Fusarium mangiferae* debido a los alcaloides presentes en diversas partes de la planta (hojas, frutos, semillas y hojas), asimismo, Haiyan *et al.* (2005) reportan la actividad contra *Alternaria* sp.

En *M. parviflora* también se ha reportado la presencia de alcaloides, así como de otros metabolitos (compuestos fenólicos y flavonoides) (Farhan *et al.*, en *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* (Tadeg *et al.*, 2005).

Los alcaloides del tipo isoquinolínico y terpenoides se han reportado en *A. ochroleuca* (Fletcher *et al.*, 1993) y su actividad antifúngica contra algunos hongos fitopatógenos (*Alternaria alternata*, *A. brassicae*, *A. cajani*, *Bipolaris* sp., *Curvularia lunata*, *Curvularia* sp., *Colletotrichum musae*, *Fusarium udum*, *Helminthosporium* sp., *H. penniseti* y *H. speciferum*) (Singh *et al.*, 2010). Sin embargo, no solamente se han reportado alcaloides en *A. ochroleuca* también flavonoides (Chang *et al.*, 2003), aunque en el presente estudio no se detectaron en el extracto metanólico.

García *et al.* (2008) mencionan que los alcaloides afectan varios sitios a nivel molecular (inhibición del ADN y ARN, inhibición de la biosíntesis de proteínas y ciertas enzimas y alteración de la estabilidad de membranas en microorganismos y células animales); como la inhibición del crecimiento celular (Wink *et al.*, 1999; Körper *et al.*, 1998).

En el último grupo se ubicó únicamente al extracto de la especie *P. icosandra*, en este extracto se identificó la presencia de terpenoides, lo cual coincide con Ángeles *et al.* (2011) quienes reportan la actividad de esta especie en el control de *Trialeurodes vaporariorum* en un cultivo de jitomate en condiciones de invernadero. Hernández *et al.* (2013) reportan la actividad fungicida de otra especie del género *Phytolacca* (*P. tetramera*) a la concentración de 15 % en *C. gloeosporoides*, atribuida a la presencia de un tipo de terpenoides, como las saponinas. Las saponinas también se encuentran presentes en otras especies (*Lippia organoides*, *Phyllanthus niruri*, *Azadirachta indica*, *Gliricidia sepium*, *Heliotropium indicum* y *Calotropis procera*). Existen diversos reportes

de la actividad antifúngica de saponinas que demuestran ser una opción viable para el control de algunos hongos. Al respecto Lalitha *et al.* (1991) estudiaron el efecto de las saponinas contra *Penicillium expansum*, *Cephalosporium acrimonium*, *Helminthosporium oryzae* y *Trichoderma viride* extraídas de *Madhuca butyracea* en *Penicillium expansum*, *Cephalosporium acrimonium*, *Helminthosporium oryzae* y *Trichoderma viride*. Segal y Schlösser (1975) estudiaron el efecto de las saponinas (digitonina, alfa-hederina y tomatina) contra *Botrytis cinerea* y *Rhizoctonia solani*. Barile *et al.* (2007) estudiaron el efecto de algunas agliconas de saponinas (sapogeninas) identificadas como aliogenina y neoagigenina, aisladas de bulbos de *Allium minutiflorum* contra diversos hongos fitopatógenos (*A. alternata*, *A. porri*, *Botrytis cinérea*, *F. oxysporum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. solani*, *Pythium ultimum* y *R. solani*). No se ha reportado la acción fungicida de saponinas contra *C. gloeosporoides*. El mecanismo de acción de las saponinas se debe principalmente al daño a la membrana que provoca la fuga de materiales celulares, lo que conduce a la muerte celular (Mshvildadze *et al.*, 2000), mecanismo que podría explicar la actividad del extracto de *P. icosandra* en el control de *C. gloeosporoides*.

Cuadro 13. Análisis fitoquímico de los extractos metanólicos crudos (-) Ausencia; (+) Presencia;

Specie	Flavonoids	Alkaloids	Terpenoids	References
<i>Argemone ochroleuca</i>	-	+	+	Alcaloides (Fletcher <i>et al.</i> , 1993), (Singh <i>et al.</i> , 2010) y (Chang <i>et al.</i> , 2003)
<i>Solanum rostratum</i>	+	-	-	Flavonoides (Stern <i>et al.</i> , 2010)
<i>Datura stramonium</i>	+	+	+	Alcaloides (Robins <i>et al.</i> , 1991), (Usha <i>et al.</i> , 2009), (Aniszewski, 2007) y (Haiyan <i>et al.</i> , 2005)
<i>Equisetum arvense</i>	+	-	-	Fenoles (Mimica <i>et al.</i> , 2008)
<i>Malva parviflora</i>	-	+	-	Flavonoides (Farhan <i>et al.</i> , 2012), saponinas (Hernández <i>et al.</i> , 2013), (Tadeg <i>et al.</i> , 2005)
<i>Phytolacca icosandra</i>	-	-	+	Terpenoides (Ángeles <i>et al.</i> , 2011) Saponinas (Treyvaud <i>et al.</i> , 2000 y Hernández <i>et al.</i> , 2011)

4 CONCLUSIONES

Los extractos hexánicos de las especies *Argemone ochroleuca*, *Solanum rostratum*, *Datura stramonium*, *Malva parviflora*, *Phytolacca icosandra*. y *Equisetum arvense* no mostraron actividad fungistática en comparación con el extracto metanólico contra *C. gloeosporioides*.

El extracto de metanólico de *Phytolacca icosandra* mostró mayor inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de la cepa de *C. gloeosporioides* en comparación con los extractos de las especies restantes. La misma tendencia se observó en la evaluación en etapa de floración, donde las flores presentaron necrosis y pudrición (síntomas típicos de la enfermedad) con una efectividad de 60 a 70 % y una eficacia de 71.4 % en el control

de antracnosis en los frutos en poscosecha, extracto en donde se identificó la presencia de terpenoides. Asimismo, este extracto mostro una eficacia de 71.4 % en el control de antracnosis en los frutos de papaya en poscosecha. En los extractos de las especies *D. stramonium*, *M. parviflora* y *A. ochroleuca* se identificó la presencia de alcaloides, estos mostraron una eficacia de 79.6, 78.4 y 73.8 %, respectivamente, en comparación con el de *P. icosandra*.

5 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265–267.
- Acosta R. M., Nieto A. D., Nieto Angel, R., Mena Nevarez, G., Teliz Ortiz, D., Vaquera Huerta, H., y Delgadillo Sanchez, F. (2002). [Mango (*Mangifera indica* L.) black flesh and its effects on fruit quality of cv. Haden at different postharvest temperatures.] <ORIGINAL> Comportamiento de la Pulpa Negra y su Efecto en la Calidad de Frutos de Mango (*Mangifera indica* L.) cv. Haden a Difer. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 20(1), 31–39.
- Adaskaveg, J. E., Ogawa, J. M., and Butler, E. E. (1990). Morphology and ontogeny of conidia in *Wilsonomyces carpophilus*, gen. nov. and comb. nov., causal pathogen of shot hole disease of *Prunus* species. *Mycotaxon*, 37, 275-290.
- Afanador, K. L., Minz, D., Maymon, M., Freeman, S. (2003). Characterization of *Colletotrichum* isolates from tamarillo *Passiflora*, and mango in Colombia and identification of a unique specie from the genus. *Phytopathology*, 93, 579-587.
- Alarcón, R. J. J., Chavarriaga M., W. (2007). Diagnóstico precoz de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) (Penz) Penz and Sacc. En tomate de árbol mediante el empleo de infecciones quiescentes. *Agron*, 15(1), 89-102.
- Angeles M. O., García, M. M. del R., Rodríguez, P. E., Soto, H. M. (2011). Toxicidad de extractos vegetales para el control de *Trialeurodes vaporariorum* w. (homoptera: Aleyroidae) en laboratorio y en cultivo de tomate en invernadero). *The Journal of Agricultural Science*, 95, 117-132.
- Arango, M. C. (2013). Intervención de los compuestos secundarios en las interacciones biológicas. In: *Productos Naturales Vegetales*. Ringuelet, J. y Viña, S. (eds.). Editorial de la Universidad de La Plata. La Plata, Buenos Aires, Argentina. pp. 191-256.
- Arauz, L. F. (2000). Mango anthracnosis: economic impactand and current options for integrated management. *Plant Disease*. 84 (6), 600-611.

- Arriola M., Calzada J., Menchu J., Rolz C., Garcia R., Cabrera S. (1980). Papaya: In Nagy S, Shaw P (Eds) Tropical and Subtropical Fruits. AVI Publishing, Westport, Connecticut, pp 316340
- Badillo V., M. (2000). *Carica* L. vs. *Vasconcella* St. Hil. (Caricaceae) con la rehabilitación de este último. *Ernstia* 10, 74-79.
- Bailey, A., y Jeger, J. (1992). *Colletotrichum*: Biology, pathology and control. British Society for Plant Pathology - Wallingford, Oxon, UK: CAB International, pp 388.
- Bailey, J. A. Y Jeger, M. J. (1993). *Colletotrichum*: Biology, pathology and control. *The Journal of Agricultural Science* 121: 136-137.
- Bailey, J. A., y Jeger, M. J. (1992). *Colletotrichum*: biology, pathology and control. *The Journal of Agricultural Science*, 121(1), 136–137.
- Baños G., P. E., Zavaleta M., E., Colinas L., M. T., Luna R., I., y Gutiérrez A., J. G. (2004) Control Biológico de *Colletotrichum gloeosporioides* [(Penz.) Penz. y Sacc.] en papaya Maradol Roja (*Carica papaya* L.) y fisiología poscosecha de frutos infectados. *Revista Mexicana Fitotecnia*, 22, 198-205.
- Barile, E., Bonanomi, G., Antignani, V., Zolfaghari, B., Sajjadi, S. E., Scala, F., y Lanzotti, V. (2007). Saponins from *Allium minutiflorum* with antifungal activity. *Phytochemistry*, 68 (5), 596-603.
- Barnett, H. L., and Hunter, B. B. (1998). Illustrated genera of Imperfect Fungi. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. pp 218.
- Beer, L., Howie, J. (1990). Growing *Hibiscus*. Kenthurst: Kangaroo Press. Retrieved from <https://www.iberlibro.com/Growing-Hibiscus-BERS-Jim-HOWIEKangaroo/11975971039/bd>
- Benítez T., Rincón, A. M., Limón, M. C., y Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology : The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology*, 7(4), 249–60. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15666245>
- Bhardwaj, D. K, Bisht, M. S., Jain, R.K., Munyal, A. (1982). Phenolics from the seeds of *Argemone mexicana*. *Phytochemistry* 21: 2154-2156.
- Biswas, K., Chattopadhyay, I., Banerjee, R. K., Bandyopadhyay, U. (2002). Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). *Curr Sci*, 82(11), 1336-1345.
- Bolívar, K., Sanabria, M. E., Rodríguez, D. D. E., Camacaro, M. P., Ulacio, D., Cumana, L. J. K., Crescente, O. (2009). Potencial efecto fungicida de extractos vegetales en el desarrollo in vitro del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. y de la antracnosis en frutos de mango. *UDO Agrícola* 9: 175-181.
- Boumba, V. A., Mitselou, A., y Vougiouklakis, T. (2004). Fatal poisoning from ingestion of *Datura stramonium* seeds. *Veterinary and Human Toxicology*, 46(2), 81–2. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15080209>

- Bubici, G. M. M., Amenduni, C., Colella, M., D'Amico, M. Cirulli. (2006). Efficacy of acibenzolarS-methyl and two strobilurins, azoxystrobin and trifloxystrobin, for the control of corky root of tomato and verticillium wilt of eggplant. *Crop Protection* 25, 814–820.
- Chang, Y. C., Hsieh, P. W., Chang, Fr, Wu, R. R., Liaw, C. C., Lee, K. H., Wu, Y. C. (2003). Two new protopines *Argemone mexicanines* A and B and the anti-HIV alkaloid 6-acetyl dihydrochelerythrine from forma san *Argemone mexicana*. *Planta Medica* 69: 148-152.
- Chau, K. F. y Álvarez, A. M. (1983). Postharvest fruit rot of papaya caused by *Stemphylium lycopersici*. *Plant Disease*, 67: 1279-1281.
- Chirinos U., H. 1999. Fertilización del papayo. *Informaciones agronómicas*, 3 (5):13-14.
- CONABIO. (2016.) La diversidad biológica de México. "Estudio de país". Recuperado 2 de diciembre 2016 en: <http://www.conabio.gob.mx>. (20 de abril de 2006).
- Costa, H., Ventura, J. A., Rodrigues, C. H. y Tatagiba, J. S. (2001). Ocorrência e patogenicidade de *Glomerella cingulata* em mamão no Norte do Estado do Espírito Santo. *Fitopatologia Brasileira*, 26, 328-328.
- Crane, J. H. (2005). Papaya growing in the Florida home landscape. a Series of the Horticultural Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Services, University of Florida. pp 6.
- Croteau, R., Kutchan, T. M., y Lewis, N. G. (2000). Secondary Metabolites. *Biochemistry Molecular Biology of Plants*, 7(7), 1250–1318.
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.10.011>
- Dayan, F. E., Cantrell, C. L, Duke, S. O (2009) Natural products in crop protection. *Bioorg Med Chem*, 17,4022-4034
- De Los Santos, F., Becerra, E. N., Mosqueda, R., Vasquéz, A., Vargas, A. B., (2000). Manual de Producción de Papaya en el Estado de Veracruz. Folleto Técnico No. 17. INIFAPCIRGOC. Campo Experimental Cotaxtla. Veracruz, México. 87 p.
- Dewick, P. M. (2002). *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach*. Second Edition. Chichester. New York: John Wiley y Sons Ltd.
- Dickman, M. B., y Álvarez, A. M. (1983). Latent infection of papaya caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Disease* 67: 748-750.
- Doyle, J. J., Doyle, J. L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Endress, R. (1994). Plant Cells as Producers of Secondary Compounds. In *Plant Cell Biotechnology*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. pp 121–255.
- Estrada, A. B., Dodd, J. C., Jeffries, P. (2000). Effect of humidity and temperature on conidial germination and appressorium development of two Philippine isolates of mango anthracnose pathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Pathology*, 49, 608-618.
- Evans, E. J. y Bilsborrow, P. E. (1989). Changes in glucosinolate concentration during the vegetative growth of single- and double-low cultivars of winter oilseed rape. *Aspects of Applied Biology*, 22, 83-90.

- FAOSTAT. (2016). FAO Statistical Programme of Work. Recuperado de: <http://www.fao.org/economic/ess/es/> (Consultada 13 de octubre de 2016).
- Farhan, H., Rammal, H., Hijazi, A., Hamad, H., Daher, A., Reda, M., y Badran, B. (2012). In vitro antioxidant activity of ethanolic and aqueous extracts from crude *Malva parviflora* L. grown in Lebanon. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5(SUPPL. 3), 234– 238.
- Feil, E. J. (2016). *Encyclopedia of Evolutionary Biology*. Encyclopedia of Evolutionary Biology. Allentown, PA, USA: Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800049-6.00226-2>
- Flaishman, M. A. y Kolattukudy, P. E. (1994). Timing of fungal invasion using host's ripening hormone as a signal. *Proc. Natt. Acad. Sci. USA*, 91, 6579-6583.
- Fletcher, M. T., Takken, G., Blaney, B. J., Alberts, V. (1993). Isoquinoline alkaloids and keto-fatty acids of *Argemone ochroleuca* and *A. mexicana* (mexican poppy) seed. I. An assay method and factors affecting their concentration. *Aus J Agric Res* 44: 265-275.
- Friedman, M. (2004). Analysis of biologically active compounds in potatoes (*Solanum tuberosum*), tomatoes (*Lycopersicon esculentum*), and jimson weed (*Datura stramonium*) seeds. *Journal of Chromatography A*, 1054(1), 143–155. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.04.049>
- García, E. (2004). Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. México. Instituto de Geografía Universidad Autónoma de México. PAGINACIÓN
- García M., R., Pérez L., D., Miguel C., S., Soto H., M., Rodríguez P., E., y Kite, G. (2008). Bactericidal and fungicidal activities of *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 63(9-10), 653-657.
- García M., R., Soto H., M., Zavala C., F., y Kite, G. (2007). Quinolizidine alkaloids in *Calia secundiflora* (Fabaceae). *Agrociencia*, 41(2), 161–167.
- Grainge, M., y Ahmed, S. (1988). *Handbook of plants with pest-control properties*. Resource systems institute, East-West center, Honolulu, Hawaii. pp 470
- Guerrero R., E., Solís G., S., Hernández C., F. D., Flores O., A., Sandoval L., V., y Jasso C., D. (2007). Actividad biológica in vitro de extractos de *Flourensia cernua* DC en patógenos de poscosecha: *Alternaria alternata* (Fr.: Fr.) Keissl., *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. y *Penicillium digitatum* (Pers.: Fr.) Sacc. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 25(1), 48-53.
- Guleria, S., y Tikku, A. K. (2009). Botanicals in Pest Management: Current Status and Future Perspectives. In *Integrated Pest Management: Innovation-Development Process* (pp. 317–329). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-89923_12
- Gupta, S., y Dikshit, A. K. (2010). Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control. *Journal of Biopesticides*, 3(1), 186-188. Retrieved from http://www.jbiopest.com/users/lw8/efiles/suman_gupta_v31.pdf

- Haiyan, L., Chen, Q., Yanli, Z., y Zhiwei, Z. (2005) Screening for endophytic fungi with antitumour and antifungal activities from Chinese medicinal plants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 1515-1519
- Hamdy, B. (2007). Review of strobilurin fungicide chemicals. *Journal of Environmental Science and Health*, 42,441-451.
- Hanson, J. R. (2003). *Natural Products. The Biosynthesis of Secondary Metabolites* (Vol. 17). Cambridge: Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781847551535>.
- Hartmann, T. (1992) Alkaloids. In *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*, Vol. 1: The Chemical Participants, 2nd ed., G. A. Rosenthal and M. R. Berenbaum, eds., Academic Press, San Diego, CA, pp. 79–121.
- Hasan, A (1992) Effect of certain plant exudates and byproducts on the development of root-knot nematode. In: Tauro P, Narwal SS (eds) *Proceedings of national symposium on allelopathy in agro- ecosystems*. Indian Society of Allelopathy, HAU, Hisar, India, pp 188– 186.
- Hernández V., M. M.; Borges, A., R.; Rodríguez V., R. I.; Torres A.,J.F.J.; Méndez G., M.; Caceres F.,M. 2011. Ovicidal and larvicidal activity of the crude extracts from *Phytolacca icosandra* L. against *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology* 179: 100-106.
- Herrmann, K. M., and Weaver, L. M. (1999) The shikimate pathway. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50: 473–503.
- Huang, H., Ling, T., Wang, H., Cao, A., Zhang, C., y Wei, S. (2017). One new flavonoid from *Solanum rostratum*. *Natural Product Research*, 1–5. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1290621>
- Ippolito, A., El Ghaouth, A., Wisniewski, M. and Wilson, C. (2000). Control of postharvest decay of apple fruit by *Aurobasidium pullulans* and induction of defense responses. *Postharvest Biology and Technology*, 19, 265-272.
- Ippolito, A., Schena, L., Pentimone, I., y Nigro, F. (2005). Control of postharvest rots of sweet cherries by pre- and postharvest applications of *Aureobasidium pullulans* in combination with calcium chloride or sodium bicarbonate. *Postharvest Biology and Technology*, 36(3), 245–252. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.02.007>
- Islam, M., Ali, E., Saeed, M. A., Jamshaid, M., Tahir, M., y Khan, J. (2007). A preliminary investigation, (2), 20–23. Retrieved from http://pu.edu.pk/images/journal/PJP/pdffiles/P1_TJKhan.pdf
- Javid, A., y Saddique, A. (2012). Control of charcoal rot fungus *Macrophomina phaseolina* by extracts of *Datura metel*. *Natural Product Research*, 26(18), 1715–1720. <https://doi.org/10.1080/14786419.2011.605363>
- Jin, H., and Martin, C. (1999) Multifunctionality and diversity within the plant MYB-gene family. *Plant Mol. Biol.* 41: 577–585.
- Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., y He, X. (2014). *Plant Secondary Metabolites:*

- Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2, 377–392. [https://doi.org/10.1016/0300-9084\(96\)82199-7](https://doi.org/10.1016/0300-9084(96)82199-7).
- Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., y He, X. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2, 377–392. [https://doi.org/10.1016/0300-9084\(96\)821997](https://doi.org/10.1016/0300-9084(96)821997)
- Karabulut, O. A., U. Arslan and G. Kuruoglu. (2004). Control of Postharvest Diseases of Organically Grown Strawberry with Preharvest Applications of some Food Additives and Postharvest Hot Water Dips. *Journal Phytopathology*, 152, 224–228.
- Karunamoorthi, K. (2012) Medicinal and Aromatic Plants: A Major Source of Green Pesticides/ Risk-Reduced Pesticides. *Med Aromat Plants*, 1:137.
- Kinghorn, A. G. y Balandrin, M. F. (1984). Quinolizidine alkaloids of the Leguminosae: structural types, analysis, chemotaxonomy, and biological activities. *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*. Wiley. New York pp. 105-148.
- Körper, S., Wink, M., y Fink, R. H. (1998). Differential effects of alkaloids on sodium currents of isolated single skeletal muscle fibers. *FEBS Letters*, 436(2), 251-255.
- Korsten, L., E. E., De Villiers, F. C. Wehner y J. M. Kotzé. (1997). Field sprays of *Bacillus subtilis* and fungicides for control of preharvest fruit diseases of avocado in South Africa. *Plant Dis*, 81, 455-459.
- Kyndt, T., and G. Gheysen. (2007). Evolutionary relationships between and within the highland papaya (genus *Vasconcellea*) and the common papaya (*Carica papaya*). *Acta Horticulturae* 740, 61-72
- Kyu, K. W. N., Jitareerat, P., Kanlajanarat, S. and Sangchote, S. (2007). Effects of cinnamon extract, chitosan coating, hot water treatment and their combinations on crown rot disease and quality of banana fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 45,333-340.
- Lalitha, T., Venkataraman, L.V., (1991). Antifungal activity and mode of action of saponins from *Madhuca butyracea* Macb. *Indian Journal of Experimental Biology*, 29, 558–562.
- Lenné, J. M. 1992. *Colletotrichum* diseases of legumes. In: Bailey, J.A. and Jeger, M.J. (Eds) *Colletotrichum: Biology, pathology and control*, pp 134-166.
- Lichtenthaler, H.K. (1999) The 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. PlantMol. Biol.*, 50, 47–65.
- Logemann, E., Parniske, M., and Hahlbrock, K. (1995) Modes of expression and common structural features of the complete phenylalanine ammonia-lyase gene family in parsley. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 5905–5909.
- Lourenço, R. M. D. C, Da Silva, M. P., De Almeida, A. B. A. (2013). Flavonoids as antifungal agents. In *Antifungal Metabolites from Plants*. Springer Berlin Heidelberg. 300 p

- Macias, F. A, Wedge, D, E y Galindo, J. C. G, (2000) Fungicidal toxicity of natural and synthetic sesquiterpene lactone analogues. *Phytochemistry*, 53, 747–757.
- Maffei, M. (2010). Sites of Synthesis, Biochemistry and Functional Role of Plant Volatiles. *South African Journal of Botany*, 76 (4), 612-31.
- Mandujano B., R. 1995. Prevención y control integral de plagas y maleza. In “Memoria de la reunión técnica sobre el cultivo del papayo Maradol roja en la costa de Jalisco. Gob. del Edo. de Jalisco. SEDER. pp. 33-45.
- Maqbool, M., Ali, A., Ramachandran, S., Smith D., Alderson, P. G. (2010). Control of postharvest anthracnose of banana using a new edible composite coating, *Crop Protection*. 36, 53-68. doi:10.1016/j. cropro.2010.06.005
- Marín, B., Villadiego, M. y Barrera, J. (2006). Evaluación de extractos vegetales para el control de *Mycosphaerella fijiensis* en Plátano Harton (*Musa ABB*) en Córdoba-Colombia. XVII Reuniao Internacional de Associacao para a Cooperacao nas Pesquisas sobre Banano no Caribe na America Tropical. ACORBAT. Joinville, Santa Catalina, Brasil. 560-571.
- Marin, S. L. D. and Gomes, J. A. (2000). Técnicas de Cultivo do Mamão. Fortaleza-CE: Frutal, pp 57.
- Martínez, M. (1996). Plantas medicinales de México. México: Botas. pp 434.
- Mazid, M., Khan, T. A, Mohammad, F. (2011) Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biol Med*, 3(2), 232-249.
- McLaren, J. S. (1986). Biologically active substances from higher plants: Status and future potential. *Pesticide Science*, 17(5), 559–578. <https://doi.org/10.1002/ps.2780170514>
- Mendez G., R. (2005). Control poscosecha de la antracnosis en papaya y sensibilidad de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. a fungicidas organosintéticos. *Chapingo Serie Horticultura*, 11(2), 251–255.
- Menezes, M., y Hanlin, R. T. (1996). Appressoria of Brazilian isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. causal agent of anthracnoses diseases. *Revista de Microbiologia*, 27(4), 247–251.
- Menezes, M., y Hanlin, R. T. (1996). Appressoria of Brazilian isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. causal agent of anthracnoses diseases. *Microbiologia*, 27(4), 247–251.
- Mesh, K. R., Kumar, V. K., Singh, D. K., y Bhatti, D. (1986). *Datura*, *Ipomea*, *Tagetes* and *lawsonia* as control of *Tylenchulus semipenetrans* and *Anguina tritici*. *Indian J. Nematol*, 16(2), 236–24. Retrieved from <http://nematology.in/data/documents/V16N02P236.pdf>
- Mimica, D. N., Simin, N. C. J., Jovin, E., Orcic, D., Bozin, B., (2008). Phenolic compounds in field horsetail (*Equisetum arvense* L.) as natural antioxidants. *Crop and Pasture Science* 13, 1455–1464.

- Mino, Y., Yukita, M., Hiratsuka, N., y Wariishi, H. (2005). Amino Acid Sequences of Ferredoxins from *Atropa belladonna* and *Hyoscyamus niger*: Their Similarities to Those in Other Tropane-Alkaloid-Containing Plants. *Biological y Pharmaceutical Bulletin*, 28(8), 1535–1538. <https://doi.org/10.1248/bpb.28.1535>
- Miraldi, E., Masti, A., Ferri, S., y Barni Comparini, I. (2001). Distribution of hyoscyamine and scopolamine in *Datura stramonium*. *Fitoterapia*, 72(6), 644–648. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(01\)00291-X](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(01)00291-X)
- Nakasone H. Y., Paull R. E. (1998) Papaya. In: Tropical Fruits. Oxford University Press, New York, pp 239-269.
- Naqvi, S. A. M. H. (2004). Diseases of fruits and vegetables : diagnosis and management. Springer: Netherlands, pp 1411
- Neri V., G. (1996). Tepetzotlán: la crónica de mi pueblo: testimonio de la historia. (Asociacion Mexiquense de Cronistas Municipales, Ed.) (2nd ed.). México. Retrieved.
- Nery, S. F. A., Machado, J. D. C., Lima, L., Resende, M. (2001). Controle químico da podridão peduncular de mamão causada por *Colletotrichum gloeosporioides*. *Ciência e Agrotecnologia* 25: 519-524.
- OCDE. (2005). Organisation de Coopération et de Développement Economiques, Consensus Document on the Biology of Papaya (*Carica papaya*). pp 66.
- Oluma, H. O. A., y Oladiran, A. O. (1993). *Pythium aphanidermatum* root rot of pawpaw (*Carica papaya* L.) in Nigeria. *Mycopathologia*, 123(2), 111–115. <https://doi.org/10.1007/BF01365089>
- Papavizas, G. O., Dunn, RT; Lewis, S. A., 1983. Production and fermentation of two biological control agents from liquid fermentation. *Phytopathology*, 73,165.
- Patiño, L., Rodríguez, M. (2001). Aislamiento e identificación de hongos Fitopatógenos y evaluación de fungicidas frente a los hongos más relevantes en vid (*Vitis vinífera*), variedad Chardonay en el viñedo San Martin en el municipio de Sagamoso, departamento de Boyaca. Trabajo de grado para optar por el título de Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias Básicas. paginación
- Patterson, S., y O'Hagan, D. (2002). Biosynthetic studies on the tropane alkaloid hyoscyamine in *Datura stramonium*; hyoscyamine is stable to in vivo oxidation and is not derived from littorine via a vicinal interchange process. *Phytochemistry*, 61(3), 323–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12359518>
- Paull, R. E., Nishijima, W., Reyes, M., y Cavaletto, C. (1997). Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L). *Postharvest Biology and Technology*, 11(3), 165–179.
- Paull, R. E., Nishijima, W., Reyes, M., Cavaletto, C. (1997). Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). *Postharvest Biology and Technology* 11: 165-179.

- Prusky, D., McEvoy, J., Leverentz, R., and Conway, W. (2001). Local modulation of host pH by *Colletotrichum* species as a mechanism to increase virulence. *Phytopathology* 9, 11051113.
- Quimio, T. H. (1973). Temperatura as a factor for growth and sporulation of anthracnose organism of papaya. *Philippine Agriculturist*, 57: 245-253.
- Ramanath, M. N, Khan, N. H., Kamalwanshi R. S., Trivedi R. P. (1982) Effect of Argemone mexicana on M. incognita in okra. *Indian J Nematol*, 12, 205–208.
- Rawal, R. D. (2010). Fungal diseases of papaya and their management. *Acta Horticulturae*, 851, 443–446.
- Reddy, A. V., Devi, R. S., Reddy, D. V. V. (2012) Evaluation of botanical and other extracts against plant hoppers in rice. *J Biopest* 5(1):57–61.
- Regnault, R. C., Philogene, B. J., Terrón, P. U., y Vincent, C. (2004). Biopesticidas de Origen Vegetal. Madrid España. Mundiprensa. Mundi-Prensa. Madrid, España. Madrid España. Mundiprensa. 337 p
- Reyes F., D., Peña C., J., Canales M., Jiménez M., Meráz S., y Hernández, T. (2011). Antimicrobial activity of *Argemone ochroleuca* Sweet (Chicalote). *Boletín Latinoamericano Y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* , 10(2), 139–146. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85617384007>
- Ringuelet, J., y Viña, S. (2013). Productos Naturales Vegetales. La Plata, Universidad de La Plata, pp 261.
- Sahu, M. C., Debata, N. K., y Padhy, R. N. (2012). Antibacterial activity of *Argemone Mexicana* L. against multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*, isolated from clinical samples. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), S800–S807. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60316-5](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60316-5)
- Sakthivadivel, M., y Thilagavathy, D. (2003). Larvicidal and chemosterilant activity of the acetone fraction of petroleum ether extract from *Argemone mexicana* L. seed. *Bioresource Technology*, 89(2), 213–216. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00038-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00038-5)
- Saleh MA, Rahman FHA, Ibrahim NA, Taha NM (1987). Isolation and structure determination of new nematocidal triglyceride from *Argemone mexicana*. *J Chem Ecol* 13: 1361-1370.
- Samson J. A. 1986. Tropical fruits. 2 Ed. Longman; New Cork, pp. 256-269.
- Segal, R; Schlösser, E. (1975). Role of glycosidases in the membranolytic, antifungal action of Saponins. *Archives of Microbiology* 104: 147-150.
- Shale, T. L., Stirk, W. A., y van Staden, J. (1999). Screening of medicinal plants used in Lesotho for anti-bacterial and anti-inflammatory activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 67(3), 347–54. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10617071>
- Sharma, N., y Trivedi, P. C. (2002). Screening of Leaf Extracts of Some Plants for Their Nematicidal and Fungicidal Properties Against *Meloidogyne incognita* and

- Fusarium oxysporum*. *Asian J. Exp*, 16, 21–28. Retrieved from <http://ajesjournal.com/PDFs/02/3 Nidhi Sharma.pdf>
- SIAP. 2016. Servicio de Informacion Agroalimentaria y Pesquera. Recuperado el 03 enero 2017 de <http://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>
- Simone, G. W. (2002). Disease Control in Papaya (*Carica papaya*). Gainesville: UF/IFAS, 2002. (Plant Disease Management Guide, v. 3, Department of Plant Pathology, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- Singh, A. K., Pandey, V. B., Singh, U. P. (2007). Antifungal activity of an alkaloid allosecurinine against some fungi. *Mycobiology* 35: 62-64
- Singh, D. (2014). *Advances in Plant Biopesticides*. Cairo, Egypt e-mail: Springer. <https://doi.org/978-81-322-2006-0>
- Singh, S., Singh, A., Keshariwala, M., Singh, T. D., Singh, V. P., Pandey, V. B., y Singh, U. P. (2010). The mixture of tertiary and quaternary alkaloids isolated from *Argemone ochroleuca* inhibits spore germination of some fungi. *Archives Of Phytopathology And Plant Protection*, 43(13), 1249–1253. <https://doi.org/10.1080/03235400802404627>
- Singh, S., Singh, A., Keshariwala, M., Singh, T. D., Singh, V. P., Pandey, V. B., Singh, U. P., (2010). The mixture of tertiary and quaternary alkaloids isolated from *Argemone ochroleuca* inhibits spore germination of some fungi. *Phytopathology and Plant Protection*, 43: 1249-1253
- Sitterly, W.R., and Keinath, A.P. 1996. Anthracnose. In: Bailey, J.A. and Jeger, M.J. (Eds) *Colletotrichum: Biology, pathology and control*, pp 24-25.
- Solano, V., Arauz, L. F. (1995). Combate de antracnosis en frutos de papaya mediante aplicaciones de fungicidas en el campo en la zona atlantica de costa rica. *Agronomia Costarricense* 19: 25-30.
- Stermitz, F. R., Gillespie, J. P., Amoros, L. G., Romero, R. and Stermitz, T. A. (1975). Synthesis and biological activity of some antitumor benzophenanthridinium salts. *Journal of Medicinal Chemistry*, 18: 708–713.
- Stevens, H. E. and Piper, R.B. (1997). Avocado diseases in Florida. U.S. Dept. Agric. Circ. 582. Summerell, B. A. y Leslie, J. F.(2008). *The Fusarium laboratory manual*. John Wiley y Sons. Blackwell. Manhattan. 387 p.
- Tadeg, H., Mohammed, E., Asres, K., Gebre, M. T.(2005). Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders. *Journal of Ethnopharmacology* 100: 168-175.
- Tadeusz, A. (2007). *Alkaloids-secrets of life. Alkaloid chemistry, biological ecological, applications and ecological role*. Netherlandsm. Elsevier. 186 p.
- Taiz, L., y Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology. Annals of Botany (Tercera)*. Sinauer Associates. Inc. Publishers, Massachusetts, USA. Sinauer: Plant Physiology. <https://doi.org/10.1104/pp.900074>

- Talhinhas, P. y Sreenivasaprasad, S. (2005) Genotypic and phenotypic diversity in *Colletotrichum acutatum*, a cosmopolitan pathogen causing anthracnose on a wide range of hosts. *Mol Plant Pathol*, 6, 361–378.
- Talhinhas, P., Sreenivasaprasad, S., Neves, M. J. Oliveira, H. (2002). Genetic and morphological characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of Lupins. *Phytopathology* 92, 986-996.
- Talhinhas, P., Sreenivasaprasad, S., Neves, M. J., y Oliveira, H. (2002). Genetic and morphological characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of Lupins. *Phytopathology*, 92(9), 986–996
- Tatagiba, J. S., Costa, A. N., Ventura, J. A. y Costa, H. (1998). Efeito do boro e cálcio na incidência da antracnose em frutos de mamoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 23 (Supl.): 285- 286.
- Tatagiba, J. S., Silva, J. G. F., Costa, H., Ventura, J. A. 2001. Influência da irrigação na incidência da antracnose em frutos de mamão. *Fitopatologia Brasileira*, 26 (supl.): 329. Tatagiba, J. S., Silva, J. G. F., Costa, H., Ventura, J. A. 2001. Influência da irrigação na incidência da antracnose em frutos de mamão. *Fitopatologia Brasileira*, 26, 329.
- Tavares, W. de S., Cruz, I., Petacci, F., de Assis Júnior, S. L., de Sousa Freitas, S., Zanuncio, J. C., y Serrão, J. E. (2009). Potential use of Asteraceae extracts to control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and selectivity to their parasitoids *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). *Industrial Crops and Products*, 30(3), 384–388. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.07.007>
- Tavares, W. S., Cruz, I., Petacci, F. A., Júnior, S. L., De Sousa F. S., Zanuncio, J. C., Serrão, J. E. (2009). Potential use of Asteraceae extracts to control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and selectivity to their parasitoids *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). *Industrial Crops and Products* 30: 384-388.
- Tequida, M. M., Cortez, R. M., Rosas, B. E. C., López, S. S., y Corrales, M. C. (2002). Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. *Rev Iberoam Micol*, 19, 84–88. Retrieved from <http://www.reviberoammicol.com/2002-19/084088.pdf>
- Townsend, G. R., Heuberger, J. V. (1943). Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Disease Report* 24: 340-343
- Treyvaud, V., Marston, A., Dyatmiko, W., y Hostettmann, K. (2000). Molluscicidal saponins from *Phytolacca icosandra*. *Phytochemistry*, 55(6), 603–609. [https://doi.org/10.1016/S00319422\(00\)00233-8](https://doi.org/10.1016/S00319422(00)00233-8)

- Usha, K., Singh, B., Praseetha, P., Deepa, N., Agarwal, D. K., Agarwal, R., y Nagaraja, A. (2009). Antifungal activity of *Datura stramonium*, *Calotropis gigantea* and *Azadirachta indica* against *Fusarium mangiferae* and floral malformation in mango. *European Journal of Plant Pathology*, 124(4), 637–657. <https://doi.org/10.1007/s10658-009-9450-2>
- Vásquez, L. A., Hernández, C. E., Mora, A. J. A., Nava, D. C. y Sánchez, G. F. (2012). Etiología y epidemiología de la necrosis de flores y frutos juveniles del papaya (*Carica papaya* L.) en Guerrero, México. *Agrociencia*, 46(8), 757-767.
- Ventura, J. A., Costa, H., y Tatagiba, J. da S. (2004). Papaya Diseases and Integrated Control. In *Diseases of Fruits and Vegetables*, 2, pp 201-268.
- Villegas, V. N. (1997). *Carica papaya* L. In: EWM Verheij, RE Coronel, eds. Plant Resources of South-East Asia 2: Edible Fruits and Nuts. PROSEA Foundation, Bogor, Indonesia. Pp 446.
- Wagner, H., Bladt, S. (1996). Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas. Munchen. Springer Science y Business Media. 384 p.
- Wagner, H., y Bladt, S. (1996). Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas. Springer Science y Business Media, 2° Edicion. paginas
- Wang, X., Bunkers, G. J., Walters, M. R., y Thoma, R. S. (2001). Purification and Characterization of Three Antifungal Proteins from Cheeseweed (*Malva parviflora*). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 282(5), 1224–1228. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.4716>
- Wenkam, N. (1990) Foods of Hawaii and Pacific Basin Fruits and Fruit Products, Raw, processed, and Prepared, Vol. 4, Composition. Research Extension Services 110, College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii, Honolulu, Hawaii, pp 96
- Wharton, P. S. y Diéguez U. J. The biology of *Colletotrichum acutatum*. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 61(1): 3-22
- Wink, M. (1992b). The role of quinolizidine alkaloids in plants insect interactions. Germany. Boca Raton. 169 p.
- Wink, M. (1993). Quinolizidine alkaloids. In: Phytochemistry and Agriculture. Oxford. The Phytochemical Society of Europe. 203 p.
- Wink, M., Latz, B. B., Schmeller, T. (1999). Biochemical effects of allelopathic alkaloids. Principles and Practices in Plant Ecology. Florida. CRC Press. 422 p.
- Yagushi, Y., Uehara, K., Nojima, H., Kobayashi, T. y Nakamura, S. (1998). Occurrence of a new anthracnose in Japan, caused by *Colletotrichum capsici*. Edinburgh, Scotland: ISPP/ICPP, 1998. Abstract 6.11.
- Zavala L., M. J. y Alejo, C. (2012). Escala logarítmica diagramática de severidad de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en papaya (*Carica papaya*). *Fitosanidad*, 16, 83-86.
- Zavala L., M., J. Tun S. J., Cristóbal A., E., Ruiz S., O., Gutiérrez A., M., Vázquez, C. and Méndez, G. (2005). Control poscosecha de la antracnosis en papaya y sensibilidad

de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. a fungicidas organosintéticos. Revista Chapingo. Serie Horticultura, 2, 251-255.

Zhang, J., and L.W. Timmer. (2007). Preharvest application of fungicides for postharvest disease control on early season tangerine hybrids in Florida. *Crop Protection* 26: 886-893.

Zivkovic, S., Stojanovic, S., Ivanovic, Z., Gavrilovic, V., Popovic, T., y Balaz, J. (2010). Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Archives of Biological Sciences*, 62(3), 611–623. <https://doi.org/10.2298/ABS1003611Z>