



Ciencia y Tecnología

Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias Biológicas

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE ACEITES
ESENCIALES DE PLANTAS AROMÁTICAS NATIVAS
DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN CONTRA
Colletotrichum gloeosporioides Y *Rhizopus stolonifer*

Tesis que presenta

MARÍA JOSÉ MARTÍNEZ LABORDA

En opción al título de

MAESTRO EN CIENCIAS

(Ciencias Biológicas: [Opción Recursos Naturales](#))

Mérida, Yucatán, México

2025

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



RECONOCIMIENTO

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de María José Martínez Laborda titulado **Actividad antifúngica de aceites esenciales de plantas aromáticas nativas de la península de Yucatán contra *Colletotrichum gloeosporioides* y *Rhizopus stolonifer***, fue realizado en la Unidad de Recursos Naturales, en la línea de investigación de Agrobiodiversidad para la Sustentabilidad Ecológica y Cultural, en el laboratorio de GeMBio del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. bajo la dirección de la Dra. Luz María del Carmen Calvo Irabien y codirección de la Dra. Daisy de la Caridad Pérez Brito, dentro de la opción de Recursos Naturales, perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de este Centro.

Atentamente



Dr. José Luis Hernández Stefanoni
Director de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 30 de junio de 2025

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en las secciones de: Materiales y Métodos, Resultados y Discusión de este documento, proviene de las actividades de investigación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que, a razón de lo anterior, y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y se registrarán, en todo caso, por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.

Firma: _____

Handwritten signature in black ink, appearing to read 'M. José' with a stylized flourish below it.

María José Martínez Laborda

Este trabajo se llevó a cabo en la Unidad de **Recursos Naturales** del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., bajo la dirección de la **Dra. Luz María del Carmen Calvo Irbien** y codirectora **Dra. Daisy de la Caridad Pérez Brito**.

AGRADECIMIENTOS

El acto de agradecer siempre se me ha hecho muy poderoso. Mira y resalta los acontecimientos y todas las manos involucradas en nuestra labor diaria. Y la ciencia es la madre de la colaboración. Es por ello que agradezco a todas las personas involucradas en la realización de este proyecto.

En especial agradezco a mis asesoras de tesis, la Dra. Luz María Calvo-Irabien y la Dra. Daisy Pérez-Brito. Gracias por depositar su confianza en mí, por todo el esfuerzo y compromiso que dedicaron a mi formación académica. Agradezco su guía a lo largo de todo el proceso.

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca otorgada al CVU 1265128.

Al Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY) y a la Unidad de Recursos Naturales en donde fue posible realizar este trabajo.

Al Laboratorio GeMBio y al Laboratorio de Ecofisiología Vegetal por proporcionarme las instalaciones y el material de laboratorio requerido para mis ensayos.

A los integrantes de mi comité tutorial y revisor, la Dra. Mariana Chávez Pesqueira, el Dr. Felipe Santamaría Basulto, la Dra. Felicia Amalia Moo Koh y el Dr. Víctor Manuel Aguilar Hernández por sus aportaciones tan valiosas que contribuyeron significativamente al desarrollo de esta tesis.

Un profundo agradecimiento a la Lic. en QFB Rosa Grijalva Arango, por los meses enteros que pasamos juntas en el laboratorio. Fue un verdadero honor que haya sido mi compañera de trabajo en todos mis ensayos. Hizo que las largas jornadas fueran más amenas.

Reconozco también la paciencia y dedicación de la M. en C. Teresita de Jesús Valencia-Yah, quien me enseñó todas las técnicas del laboratorio requeridas para la realización de mi tesis, así como la asesoría del M. en C. Rodolfo Martín Mex.

A la Ing. Silvia Beatriz Andrade Canto, por su valioso apoyo en el procesamiento y obtención de las imágenes del MEB.

A todos mis profesores del CICY, que con cariño y dedicación enriquecieron mi formación científica, en especial al Dr. José Luis Andrade Torres y al Dr. José Luis Hernández Stefanoni.

Y a mis amigos, Fátima, Edwin, Janine, Estefanía y Ariel, por todo el cariño, palabras de aliento y risas compartidas ¡Gracias!

DEDICATORIAS

Dedico este trabajo a mis padres, Marina y Alberto, y a mi querido hermano, Benjamín, por ser mis grandes guías, mis mejores amigos y los pilares que me han sostenido por tantos años. Los amo inmensamente. Papá, esta tesis es para y por ti, como todo lo que haga en vida.

Haziel Dzib Baak, conocerte es el mejor regalo que me aguardaba la vida. Este trabajo es la culminación de nuestros esfuerzos, gracias por todo el apoyo incondicional a lo largo del camino. Te convertiste en mi mejor amigo, en mi gran maestro y en mi compañero de vida. ¡Por este y muchos logros más juntos!

A la comunidad científica, por su ardua labor en cuidar y proteger lo mucho que nos queda de este bello planeta azul.

Gracias.

“Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico: es también un niño colocado ante fenómenos naturales que le impresionan como un cuento de hadas”

(Marie Curie)



ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	3
1.1. ANTECEDENTES	3
1.1.1. Pérdidas de frutos poscosecha	3
1.1.2. Hongos fitopatógenos	4
1.1.3. Enfermedades poscosecha causadas por fitopatógenos fúngicos.....	5
1.1.4. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	6
1.1.4.1. Antracnosis en frutos tropicales causada por <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	6
1.1.5. <i>Rhizopus stolonifer</i>	8
1.1.5.1. Pudrición blanda causada por <i>Rhizopus stolonifer</i> en frutos tropicales.....	9
1.1.6. Manejo de frutos poscosecha y uso de fungicidas sintéticos	10
1.1.7. Biopesticidas como alternativa a los pesticidas sintéticos	11
1.1.8. Composición química de los aceites esenciales.....	12
1.1.9. Modo de acción de los aceites esenciales	18
1.1.10. Plantas aromáticas utilizadas	20
1.2. JUSTIFICACIÓN	31
1.3. OBJETIVO GENERAL	31
1.4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
1.5. HIPOTESIS.....	32
1.6. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	32
CAPÍTULO II.....	33
2.1. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
2.1.1. Obtención de aceites esenciales	33
2.1.2. Análisis de aceites esenciales por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.....	34
2.1.3. Obtención de hongos.....	35
2.1.4. Inhibición del crecimiento micelial.....	35
2.1.5. Inhibición de la germinación de esporas	36
2.1.6. Evaluación de la concentración mínima inhibitoria y concentración inhibitoria del 50%.....	36

2.1.7. Microscopía electrónica de barrido.....	37
2.1.8. análisis estadísticos.....	38
CAPÍTULO III.....	40
3.1. RESULTADOS	40
3.1.1. Composición química de los aceites esenciales estudiados	40
3.1.2. Efecto antifúngico de los aceites esenciales sobre la inhibición del crecimiento micelial	47
3.1.3. Concentración mínima inhibitoria e IC ₅₀ de los aceites esenciales activos sobre la inhibición del crecimiento micelial.....	48
3.1.4. Efecto antifúngico de los aceites esenciales sobre la inhibición de la germinación de esporas	50
3.1.5. Concentración mínima inhibitoria e IC ₅₀ de los aceites esenciales activos sobre la inhibición de la germinación de esporas.....	51
3.1.6. Análisis ultraestructural mediante microscopía electrónica de barrido	53
3.1.7. Análisis de la relación entre la composición química y actividad antifúngica.....	57
CAPÍTULO IV	61
4.1. DISCUSIÓN	61
4.1.1. Composición química y actividad antifúngica de <i>L. origanoides</i>	61
4.1.2. Composición química y actividad antifúngica de <i>B. simaruba</i>	64
4.1.3. Composición química y actividad antifúngica de <i>P. auritum</i>	65
4.1.4. Análisis por microscopio electrónico de barrido	68
CAPÍTULO V.....	71
5.1. CONCLUSIONES.....	71
5.2. PERSPECTIVAS.....	71
BIBLIOGRAFÍA	73
ANEXOS	104

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Esporas y micelio de <i>C. gloeosporioides</i> en caja Petri.....	6
Figura 1.2. Esquema del desarrollo de la antracnosis.....	8
Figura 1.3. Características morfológicas de <i>R. stolonifer</i>	9
Figura 1.4. Posibles mecanismos de acción de los AE sobre la célula fúngica.....	20
Figura 1.5. Fotografía de <i>L. origanoides</i>	21
Figura 1.6. Fotografía de <i>P. auritum</i>	22
Figura 1.7. Fotografía de <i>B. simaruba</i>	23
Figura 1.8. Fotografía de <i>L. hirta</i>	24
Figura 1.9. Fotografía de <i>L. canescens</i>	25
Figura 1.10. Fotografía de <i>O. campechianum</i>	26
Figura 1.11. Fotografía de <i>H. suaveolens</i>	27
Figura 1.12. Fotografía de <i>T. diffusa</i>	28
Figura 1.13. Fotografía de <i>L. myriocephala</i>	29
Figura 1.14. Fotografía de <i>C. yucatanensis</i>	30
Figura 1.15. Estrategia experimental.....	32
Figura 3.1. Gráficos circulares de la proporción de clases de terpenos en los AEs.....	42
Figura 3.2. Análisis UpSet de la composición química de los AEs.....	43
Figura 3.3. Dendograma de los diez AEs provenientes de diferentes especies vegetales.....	44
Figura 3.4. Análisis de Componentes Principales de la composición química de los 10 AEs....	46
Figura 3.5. Efecto de los AEs en fase de vapor sobre la inhibición micelial de <i>C. gloeosporioides</i> y <i>R. stolonifer</i>	47
Figura 3.6. Actividad antifúngica del AE en fase de vapor sobre el porcentaje de inhibición micelial de <i>C. gloeosporioides</i> y <i>R. stolonifer</i>	49
Figura 3.7. Efecto de los AEs en fase de vapor sobre el porcentaje de inhibición de la germinación de esporas de <i>C. gloeosporioides</i> y <i>R. stolonifer</i>	51
Figura 3.8. Actividad antifúngica de AEs en fase de vapor sobre el porcentaje de inhibición de esporas de <i>C. gloeosporioides</i> y <i>R. stolonifer</i>	52
Figura 3.9. Observación por MEB de la morfología del micelio de <i>C. gloeosporioides</i>	54
Figura 3.10. Observación por MEB de la morfología de las esporas de <i>C. gloeosporioides</i>	55
Figura 3.11. Observación por MEB de la morfología de las esporas de <i>R. stolonifer</i>	56
Figura 3.12. OPLS-DA de la actividad antifúngica contra el micelio de <i>C. gloeosporioides</i> y <i>R. stolonifer</i>	57
Figura 3.13. OPLS-DA de la actividad contra las esporas de <i>C. gloeosporioides</i> y <i>R. stolonifer</i> ...59	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Actividad antifúngica de AEs de plantas aromáticas nativas de la PY de Yucatán en fase líquida sobre fitopatógenos fúngicos.....	14
Tabla 1.2. Actividad antifúngica de AEs en fase de vapor sobre <i>R. stolonifer</i> , <i>C. gloeosporioides</i> y otros fitopatógenos fúngicos.....	16
Tabla 2.1. Especies seleccionadas para el estudio de la actividad antifúngica de sus AEs y datos de colecta.....	33
Tabla 3.1. Composición química de los diez AEs estudiados.....	40
Tabla 3.2. Valores de IC ₅₀ obtenidos en la inhibición del crecimiento micelial.....	50
Tabla 3.3. Valores de IC ₅₀ obtenidos en la inhibición de la germinación esporas.....	53
Tabla 3.4. Compuestos asociados con la actividad antifúngica identificados por el OPLS-DA....	60
Tabla A.1. Composición química del AE de <i>L. origanoides</i>	104
Tabla A.2. Composición química del AE de <i>B. simaruba</i>	105
Tabla A.3. Composición química del AE de <i>P. auritum</i>	105
Tabla A.4. Composición química del AE de <i>H. suaveolens</i>	106
Tabla A.5. Composición química del AE de <i>O. campechianum</i>	107
Tabla A.6. Composición química del AE de <i>L. hirta</i>	108
Tabla A.7. Composición química del AE de <i>L. canescens</i>	108
Tabla A.8. Composición química del AE de <i>L. myriocephala</i>	109
Tabla A.9. Composición química del AE de <i>C. yucatanensis</i>	110
Tabla A.10. Composición química del AE de <i>T. diffusa</i>	111

LISTADO DE ABREVIATURAS

AE (Aceite esencial)

ROS (por sus siglas en inglés, Especies reactivas de oxígeno)

PY (Península de Yucatán)

GRAS (Generally Recognized as Safe)

COFEPRIS (Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios)

FIFRA (Ley Federal de Insecticidas, Fungicidas y Rodenticidas)

MIC (por sus siglas en inglés, Mínima concentración inhibitoria)

IC₅₀ (por sus siglas en inglés, Concentración inhibitoria del 50%)

MEB (Microscopio electrónico de barrido)

ANOVA (Análisis de la varianza)

CG-EM (Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas)

PCA (por sus siglas en inglés, Análisis de componentes principales)

OPLS-DA (Análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales ortogonales)

EPA (por sus siglas en inglés, Agencia de protección ambiental)

RESUMEN

Los hongos de las especies *Colletotrichum gloeosporioides* y *Rhizopus stolonifer* son un problema significativo para los productores agrícolas mexicanos. En poscosecha, estos fitopatógenos afectan a la papaya, el mango, aguacate y chile habanero, y causan importantes pérdidas de producción. El control de hongos fitopatógenos se basa en el uso de fungicidas sintéticos, los cuales causan efectos negativos al medio ambiente y la salud humana. Así como, fenómenos de resistencia, y, por otro lado, la persistencia de residuos tóxicos en los frutos y el ambiente. En este contexto, los aceites esenciales (AEs) surgen como una alternativa prometedora para el control de ambos fitopatógenos. El presente estudio tuvo como objetivo caracterizar la composición química de diez plantas aromáticas nativas de la península de Yucatán, y evaluar su actividad antifúngica, en fase de vapor, contra la inhibición de la germinación de esporas y del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*. Se realizaron análisis quimiométricos para explorar la relación entre la composición química de los AEs y su actividad antifúngica. Los resultados mostraron que los AEs con actividad antifúngica contra los dos fitopatógenos fueron *Lippia origanoides*, *Bursera simaruba* y *Piper auritum*. Estos AEs tuvieron un compuesto monoterpénico claramente mayoritario (>50%), carvacrol, α -pineno y safrol respectivamente. En el resto de los AEs dominaron los sesquiterpenoides sin ningún compuesto con una concentración claramente mayoritaria. En los ensayos *in vitro*, el micelio fue más susceptible, que las esporas, a la acción de los AEs evaluados. Los valores de IC_{50} para la inhibición del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* fueron de $IC_{50}= 0.0059 \mu\text{L}/\text{mL}$ de aire para *L. origanoides*, $IC_{50}= 0.443 \mu\text{L}/\text{mL}$ de aire en el caso de *P. auritum*, y $IC_{50}= 0.640 \mu\text{L}/\text{mL}$ de aire para *B. simaruba*. En el hongo *R. stolonifer* los valores de IC_{50} fueron de 0.0032, 0.286 y $0.453 \mu\text{L}/\text{mL}$ de aire), respectivamente. En el caso de la inhibición de la germinación de esporas, los AEs con mayor actividad en *C. gloeosporioides* fueron *L. origanoides* ($IC_{50}=0.073 \mu\text{L}/\text{mL}$ de aire), *B. simaruba* ($IC_{50}=0.37 \mu\text{L}/\text{mL}$ de aire), y para *R. stolonifer* fue únicamente *L. origanoides* ($IC_{50}= 0.13 \mu\text{L}/\text{mL}$ de aire). El AE de *L. origanoides* tiene el mayor potencial como biofungicida para el control tanto de micelio como de esporas de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*, ya que, aunado a su alta actividad antifúngica, es una especie que cuenta con un aprovechamiento previo en algunas comunidades de la península de Yucatán, por lo que podría impulsar el desarrollo económico local.

ABSTRACT

Fungi from the species *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* represent a significant problem for Mexican agricultural producers. During the postharvest stage, these phytopathogens affect crops such as papaya, mango, avocado, and habanero pepper, leading to substantial production losses. The control of phytopathogenic fungi currently relies on the use of synthetic fungicides, which are associated with negative environmental and human health impacts, resistance development, and the persistence of toxic residues in fruit. In this context, essential oils (EOs) emerge as a promising alternative for the management of both phytopathogens. This study aimed to characterize the chemical composition of essential oils extracted from ten native aromatic plant species from the Yucatán Peninsula and to evaluate their antifungal activity, in vapor phase, against spore germination and mycelial growth of *C. gloeosporioides* and *R. stolonifer*. Chemometric analyses were conducted to explore the relationship between EO chemical composition and antifungal activity. The results indicated that the EOs exhibiting antifungal activity against both pathogens were derived from *Lippia origanoides*, *Bursera simaruba*, and *Piper auritum*. These EOs were characterized by the predominance (>50%) of a single monoterpenoid compound: carvacrol, α -pinene, and safrole, respectively. In contrast, the remaining EOs were dominated by sesquiterpenoids, with no single compound present at a clearly dominant concentration. In vitro, the assays revealed that mycelial growth was more susceptible, than spores, to the evaluated EOs. The IC_{50} values for the inhibition of *C. gloeosporioides* mycelial growth were 0.0059 $\mu\text{L}/\text{mL}$ air for *L. origanoides*, 0.443 $\mu\text{L}/\text{mL}$ air for *P. auritum*, and 0.640 $\mu\text{L}/\text{mL}$ air for *B. simaruba*. For *R. stolonifer*, the IC_{50} values were 0.0032, 0.286, and 0.453 $\mu\text{L}/\text{mL}$ air, respectively. Regarding spore germination inhibition, the most active EOs against *C. gloeosporioides* were *L. origanoides* ($IC_{50} = 0.073 \mu\text{L}/\text{mL}$ air) and *B. simaruba* ($IC_{50} = 0.37 \mu\text{L}/\text{mL}$ air), while for *R. stolonifer*, only *L. origanoides* showed significant activity ($IC_{50} = 0.13 \mu\text{L}/\text{mL}$ air). The EO of *L. origanoides* demonstrated the highest potential as a biofungicide for controlling both the mycelial and spore stages of *C. gloeosporioides* and *R. stolonifer*, owing not only to its strong antifungal activity but also to its traditional use by some communities in the Yucatán Peninsula. Therefore, its application could contribute to the development of sustainable local economies.

INTRODUCCIÓN

La presencia de plagas y enfermedades es uno de los principales problemas en la agricultura, ya que causan grandes pérdidas económicas tanto en campo como en el manejo poscosecha (FAO, 2022), con pérdidas de cientos de miles de millones de dólares a nivel mundial (Aremu *et al.*, 2024). Los hongos fitopatógenos son responsables de hasta un 60% de las enfermedades durante la producción de los cultivos (Moo-Koh *et al.*, 2014). En particular, se estima, que más del 50% de las pérdidas poscosecha, se deben a enfermedades fúngicas (Rodrigues *et al.*, 2021). Es por ello, que resulta pertinente combatir estas infecciones y reducir las pérdidas económicas elevadas, para favorecer la seguridad alimentaria (Kritzing y Dethoup, 2024). Entre los fitopatógenos fúngicos con mayor afectación en la producción de frutos tropicales se encuentran *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. y *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill, agentes causales de la antracnosis y la pudrición blanda, respectivamente (Téllez-Téllez *et al.*, 2024; Peralta-Ruiz *et al.*, 2023; Bordoh *et al.*, 2020; Salem *et al.*, 2016). Debido a su impacto económico, *Colletotrichum* spp. ha sido incluido entre los diez patógenos fúngicos más relevantes a nivel mundial (Dean *et al.*, 2012).

La protección de los frutos contra las enfermedades de origen fúngico juega un papel fundamental para extender la vida útil de los productos poscosecha y con ello propiciar un aumento en la calidad y la cantidad de productos y, por ende, satisfacer la creciente demanda alimenticia (Aremu *et al.*, 2024; Mesa *et al.*, 2019; Savary *et al.*, 2012; Pérez *et al.*, 2011). La estrategia más utilizada para controlar este tipo de enfermedades en plantas es mediante la aplicación de fungicidas sintéticos. En México, los plaguicidas regulados por la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) son el procloraz, tiabendazol, azoxistrobin, difenoconazol, imazalil, mancozeb, y clorotalonil, por mencionar algunos (COFEPRIS, 2023). La aplicación de estos fungicidas sintéticos permite mantener la calidad de los frutos durante su almacenaje. Sin embargo, se ha reportado que su uso frecuente e intensivo afecta a la salud humana, causa daños ecológicos en el ambiente y propicia la aparición de cepas fúngicas resistentes (Kritzing y Dethoup, 2024; de Oliveira *et al.*, 2023; Ciofini *et al.*, 2022; Wei *et al.*, 2021; da Silva *et al.*, 2020; Kong *et al.*, 2019). El desarrollo de biopesticidas es una alternativa prometedora a los fungicidas sintéticos (Kritzing y Dethoup, 2024; Dunan *et al.*, 2023; Siegwart y Lavoit, 2022). Los biopesticidas son aquellos productos que se obtienen a partir de materiales naturales, como animales, bacterias y plantas (EPA, 2023). Una alternativa como biopesticida son los AEs. Los AEs son mezclas complejas de hasta 300 compuestos volátiles y son producidos

por más de 17, 500 especies de plantas aromáticas (Esmaeili *et al.*, 2022; Falleh *et al.*, 2020). Los aceites esenciales (AEs) son catalogados como sustancias generalmente seguras, por la ley Federal de Insecticidas, Fungicidas y Rodenticidas (FIFRA) de Estados Unidos y su uso es una alternativa prometedora para el control de diversas enfermedades fúngicas (Marrone, 2019; Sarkhosh *et al.*, 2018; Nazzaro *et al.*, 2017). Diversos estudios han demostrado las propiedades antifúngicas de los AEs, sin embargo, para la Península de Yucatán estos estudios son limitados (Liu *et al.*, 2024; Basaid *et al.*, 2020; Kumar y Kudachikar, 2018; Nazzaro *et al.*, 2017).

En la península de Yucatán (PY), existe una amplia diversidad de plantas aromáticas nativas para las cuales el estudio de la actividad antifúngica de sus AEs es escaso (Calvo-Irabien, 2018). Debido a esto, es importante generar conocimiento científico que sirva de base para explorar el potencial antifúngico de dichas especies, promover su cultivo e incentivar el desarrollo de biofungicidas, capaces de prevenir y controlar la antracnosis y la pudrición blanda en los frutos poscosecha, con menores impactos en la salud humana y en los ecosistemas. La presente tesis es una contribución en este sentido ya que a través de un estudio experimental se evaluó el potencial antifúngico de AE de diez especies de plantas aromáticas nativas de la PY contra micelio y esporas de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*.

CAPÍTULO I

1.1. ANTECEDENTES

1.1.1. Pérdidas de frutos poscosecha

Los frutos poscosecha son aquellos productos frutales que han sido recolectados de la planta madre y que, por tanto, han completado su fase de crecimiento y desarrollo fisiológico. Esta etapa comprende todos los procesos y manejos a los que son sometidos los frutos desde el momento de la cosecha hasta su consumo final o comercialización. El deterioro, la pérdida en la calidad y cantidad de frutos poscosecha a nivel mundial es uno de los principales problemas fitosanitarios en la agricultura. La importancia de la producción y el consumo de los frutos tropicales es reconocida internacionalmente, al ser un componente esencial en la dieta alimenticia y proveer de vitaminas, minerales, aminoácidos y otros nutrientes esenciales (Olunusi *et al.*, 2024; Toscano Oviedo *et al.*, 2024; de Oliveira *et al.*, 2023; FAO, 2022; Bancal y Ray, 2022). Los frutos climatéricos se caracterizan por continuar con el proceso de maduración una vez cosechados, por lo cual, se deterioran fácilmente durante el manejo poscosecha (Iguarán y Alzate, 2014). Dichos frutos, son vulnerables a cambios bioquímicos e infecciones microbianas, resultando en un menor tiempo de almacenaje, así como pérdidas económicas importantes (Olunusi *et al.*, 2024; Esmaeili *et al.*, 2022); se estima que un 40-50% de la producción mundial de frutos y vegetales en países desarrollados, se pierden después de haber sido cosechadas y antes de llegar al mercado (FAO, 2013). El deterioro de los frutos ocurre a lo largo de toda la cadena de suministro, desde la cosecha, manejo, almacenaje y distribución para su consumo directo (Olunusi *et al.*, 2024; Bancal y Ray, 2022). La pérdida alarmante de la producción anual de frutos tropicales se contrapone con el objetivo de desarrollo sostenible de la erradicación del hambre y la desnutrición para el 2030 (PND, 2024; Olunusi *et al.*, 2024).

El nivel de frescura de los frutos está asociado con altos contenidos de humedad (hasta 75%), haciéndolos susceptibles a la infección microbiana (Olunusi *et al.*, 2024, Pham *et al.*, 2023). Estas infecciones son provocadas principalmente por hongos fitopatógenos, causantes de diversas enfermedades que propician la pudrición del fruto, disminuyendo su tiempo de vida en anaquel (Namiota y Bonikowski, 2021; Moo-Koh *et al.*, 2014). Adicionalmente, la calidad poscosecha de los frutos se ve afectada por diversos factores intrínsecos como cambios bioquímicos en la tasa de respiración, transpiración y producción de etileno (Kahramanoğlu *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2022; Rodrigues *et al.*, 2021).

1.1.2. Hongos fitopatógenos

En la actualidad, se han descrito cerca de 100,000 especies de hongos, de los cuales alrededor de 8,000 causan enfermedades en las plantas, por lo que se les denomina fitopatógenos. Las plantas son atacadas en alguna etapa de su ciclo de vida por uno o más fitopatógenos fúngicos, ya que la mayoría son capaces de parasitar a más de una especie vegetal (Velásquez-Valle *et al.*, 2017). Algunos hongos obtienen sus nutrientes de hospederos vivos (biótrofos), a través de estructuras especializadas llamadas haustorios que se forman dentro de la célula huésped; otros obtienen los nutrientes de plantas o animales en descomposición (saprófitos) y otros infectan al hospedero vivo y durante el proceso de obtención de nutrientes matan a las células hospederas (necrótrofos) (Velásquez-Valle *et al.*, 2017; Carris *et al.*, 2012).

Los hongos filamentosos son organismos eucariotas, que requieren de otros organismos para la obtención de su alimento (heterótrofos). Los hongos poseen un cuerpo vegetativo constituido por células tubulares denominados hifas, al conjunto de hifas se le denomina micelio. Las hifas crecen por el ápice y se ramifican lateralmente para penetrar sustratos o fuentes de alimento, lo cual les permite absorber nutrientes a través de la pared celular (Walker y White, 2017; Carris *et al.*, 2012). Los hongos filamentosos se reproducen mediante esporas. La espora es la unidad de dispersión y supervivencia del hongo, consiste en una célula capaz de germinar y dar origen a una nueva hifa (Carris *et al.*, 2012). La espora contiene compuestos intracelulares que le confieren protección, entre estos se encuentra la trehalosa, manitol, proteínas de estrés térmico y dehidrinas. Estos compuestos protegen a la espora contra la deshidratación, altas temperaturas, presión osmótica, variación de pH y radiación UV (El Enshasy, 2022).

A pesar de la diversidad de formas celulares fúngicas, tanto en las hifas como en la espora se conservan muchos elementos de la pared celular (Gow y Lenardon, 2023). La pared celular es una estructura plástica y dinámica, que protege a la célula de la presión osmótica y del ambiente externo. Además, al ser la estructura más externa, interactúa con el espacio extracelular (Gow y Lenardon, 2023; Niño-Vega, 2021). La pared celular de los hongos filamentosos está compuesta principalmente por diversos polisacáridos, cuya naturaleza varía según el grupo taxonómico. En Ascomycota, Basidiomycota y Chytridiomycota predominan la quitina y los glucanos, mientras que en los Zygomycota se encuentran el quitosano y otros componentes. Además, se incluyen en menor proporción proteínas y glicoproteínas (Walker y White, 2017; Carris *et al.*, 2012).

La membrana celular es un componente esencial de la célula fúngica y está constituida por una bicapa de fosfolípidos en la que se encuentran integradas proteínas globulares. Esta estructura

cumple una función crucial en la regulación del transporte celular, al permitir el ingreso de nutrientes y la salida de metabolitos, actuando como una barrera selectiva. En los hongos, el ergosterol constituye el principal esteroide de la membrana, lo cual difiere del colesterol presente en animales y de los fitoesteroles en plantas. Esta diferencia ha sido aprovechada en el desarrollo de diversos agentes antifúngicos utilizados para el tratamiento de infecciones fúngicas (Walker y White, 2017).

1.1.3. Enfermedades poscosecha causadas por fitopatógenos fúngicos

Los hongos fitopatógenos son responsables del 60% de las enfermedades durante la producción de los cultivos (Moo-Koh *et al.*, 2014). Se estima que cerca del 50% de las pérdidas poscosecha, son causadas por enfermedades fúngicas (Rodrigues *et al.*, 2021). Las enfermedades poscosecha, son una gran problemática en la agroindustria, disminuyen la calidad del fruto, y presentan un potencial riesgo a la salud humana (Mesa *et al.*, 2019; Siddiqui y Ali, 2014; Shivaprakash *et al.*, 2011). Los hongos fitopatógenos son capaces de infectar los frutos en el campo y después de la cosecha, por lo que el desarrollo de la enfermedad fúngica puede ocurrir una vez almacenado o comercializado el fruto. Las infecciones latentes, es decir aquellas que infectan la fruta en el campo y permanecen inactivas hasta después de ser cosechadas, son de las más relevantes debido a su difícil control, estas pueden ser causadas por distintos géneros como *Colletotrichum*, *Alternaria* y *Lasiodiplodia*. No obstante, también existen patógenos fúngicos que infectan los frutos a través de heridas o daños mecánicos previos, ocurridos en su superficie. Estas infecciones son prevalentes especialmente en los géneros de *Penicillium* y *Rhizopus* (Palou, 2023; Martínez-Blay *et al.*, 2020).

Debido a las pérdidas económicas, el aumento de enfermedades transmitidas por alimentos contaminados y la preferencia de los consumidores por frutos frescos y saludables, se ha incentivado la investigación y el desarrollo de agrotecnologías que permitan aumentar la vida útil de los productos poscosecha, mediante el control y la prevención de las enfermedades fúngicas (Esmaeili *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2022). Es importante que el desarrollo de estas agrotecnologías esté enfocado tanto en la prevención (inhibición de la germinación de esporas), como en el control (inhibición del crecimiento micelial) de los fitopatógenos fúngicos.

1.1.4. *Colletotrichum gloeosporioides*

C. gloeosporioides es un hongo filamentoso perteneciente al Orden de los Glomerellales y a la Familia Glomerellaceae. El crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* es de forma radial con un margen entero y ondulado, presenta una coloración blanca con masas conidiales anaranjadas que se producen en anillos concéntricos. Las esporas miden de 13.56 a 14.24 μm de largo y de 4 a 4.02 μm de ancho (Figura 1.1) (Rojo-Báez *et al.*, 2017).

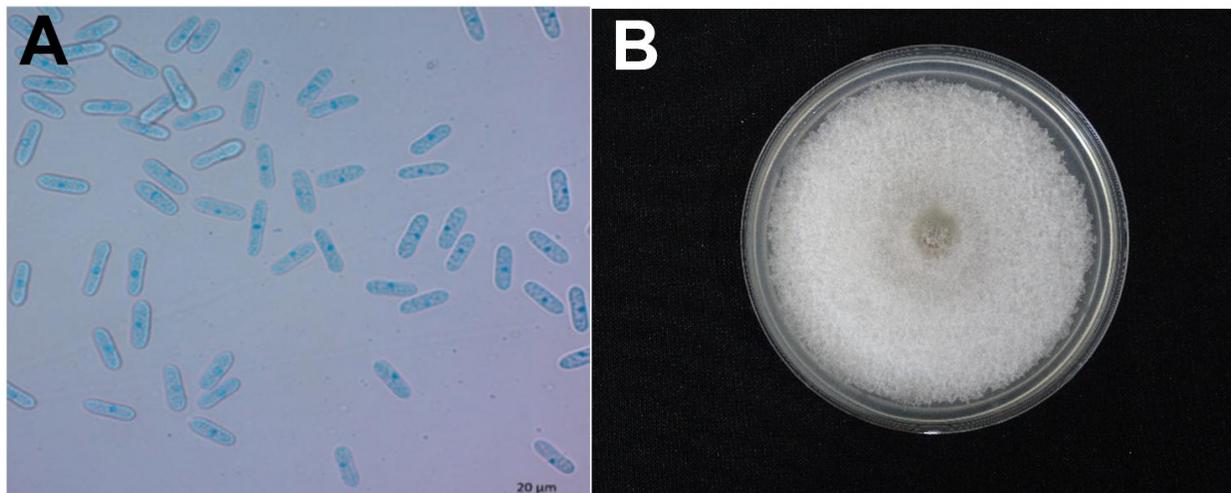


Figura 1.1. Esporas y micelio de *C. gloeosporioides* en caja Petri. (Imagen de esporas obtenida de Rojo-Báez *et al.*, 2017).

1.1.4.1. Antracnosis en frutos tropicales causada por *Colletotrichum gloeosporioides*

Colletotrichum es un género de hongos fitopatógenos responsable de la antracnosis, nombre que se le da a una de las enfermedades fúngicas con mayor afectación en la producción de frutos tropicales del mundo, como el aguacate, la papaya, el mango, la pitahaya y el plátano (Bordoh *et al.*, 2020; Vilaplana *et al.*, 2018; Gañán *et al.*, 2015). Es causada por diversas especies, entre ellas *C. gloeosporioides* (Peralta-Ruiz *et al.*, 2023). El proceso infeccioso ocurre tanto en el campo (precosecha), como en las etapas de almacenaje y comercialización (poscosecha), restringiendo la venta y el consumo de los frutos, dando como resultado pérdidas económicas severas (de Oliveira *et al.*, 2023; Ciofini *et al.*, 2022). La producción de aguacate en México se ve altamente afectada por la antracnosis. Se estima que las pérdidas nacionales del aguacate por *C. gloeosporioides* son del 20% y alcanzan un 40% en el estado de Michoacán (Rodríguez *et al.*, 2020; Reyes y Morales, 2007). Igualmente, es una de las principales enfermedades poscosecha de la papaya, produciendo pérdidas considerables, del 25-40% de las 13,000,000 t producidas a

nivel mundial (Peralta-Ruiz *et al.*, 2023). La antracnosis también afecta la producción de mango en todo el mundo, con pérdidas del 30-60% de la producción (Paudel *et al.*, 2022; Kamle y Kumar, 2016).

La antracnosis se caracteriza por la presencia de lesiones que se desarrollan con rapidez en el fruto, pero también puede desarrollarse en, tallos, hojas y flores. Los frutos maduros infectados desarrollan manchas prominentes hundidas, de color café oscuro a negro, antes o después de la cosecha del fruto (de Oliveira *et al.*, 2023). Las áreas afectadas se agrietan y la descomposición del fruto, en un inicio, se limita a la cáscara, sin embargo, en las últimas etapas de infección penetra hasta la pulpa, en áreas poco profundas (Tan *et al.*, 2023; Kumar y Kudachikar, 2018). El exceso de lluvias y el aumento de la humedad afectan la severidad y la prevalencia de la enfermedad; las condiciones climáticas más favorables para su desarrollo se encuentran entre 10-30°C, con una humedad del 95% (Ciofini *et al.*, 2022). La antracnosis causada por *C. gloeosporioides* está regulada por la duración del período de quiescencia del hongo, el cual se interrumpe cuando los frutos maduran y el hongo se activa. El período de quiescencia es una estrategia de *C. gloeosporioides*, que le permite entrar en estado de latencia cuando el fruto está inmaduro, evitando el contacto con los compuestos antifúngicos presentes en el tejido, cuyas concentraciones disminuyen con la maduración del fruto. De esta forma, el hongo permanece inactivo y es capaz de producir infección en la etapa de poscosecha, cuando el fruto madura (Tan *et al.*, 2023; Páez-Redondo *et al.*, 2022; Rodrigues *et al.*, 2021; Herrera-González *et al.*, 2020).

El ciclo de vida de *C. gloeosporioides* presenta un estado biotrófico y otro necrotrófico. La infección empieza cuando la espóra establece contacto con la superficie del hospedero. La espóra se adhiere a la superficie mediante la producción de mucílago, germina y posteriormente producen los apresorios, capaces de mantenerse latentes en la superficie del fruto. Los apresorios penetran la cutícula del fruto hacia las células epidérmicas, y producen haustorios (Ciofini *et al.*, 2022; Martínez-Blay *et al.*, 2020; Rojo-Báez *et al.*, 2017). Los haustorios son estructuras altamente especializadas que penetran la célula y permiten la obtención de nutrientes esenciales para la supervivencia. En la fase biotrófica se forman las vesículas de infección y el micelio primario. Durante esta etapa de la infección, el protoplasto del hospedero se mantiene vivo. La fase necrotrófica se caracteriza por la aparición de los primeros síntomas de la enfermedad. En esta el micelio infecta las células del mesófilo y mueren las células adyacentes por el efecto de las enzimas líticas producidas por *C. gloeosporioides*. Los frutos en esta etapa secretan olores desagradables que los hace inaceptables para el consumo humano (Figura 1.2) (Tan *et al.*, 2023; Peralta-Ruiz *et al.*, 2023; Kumar y Kudachikar, 2018; Rojo-Báez *et al.*, 2017).

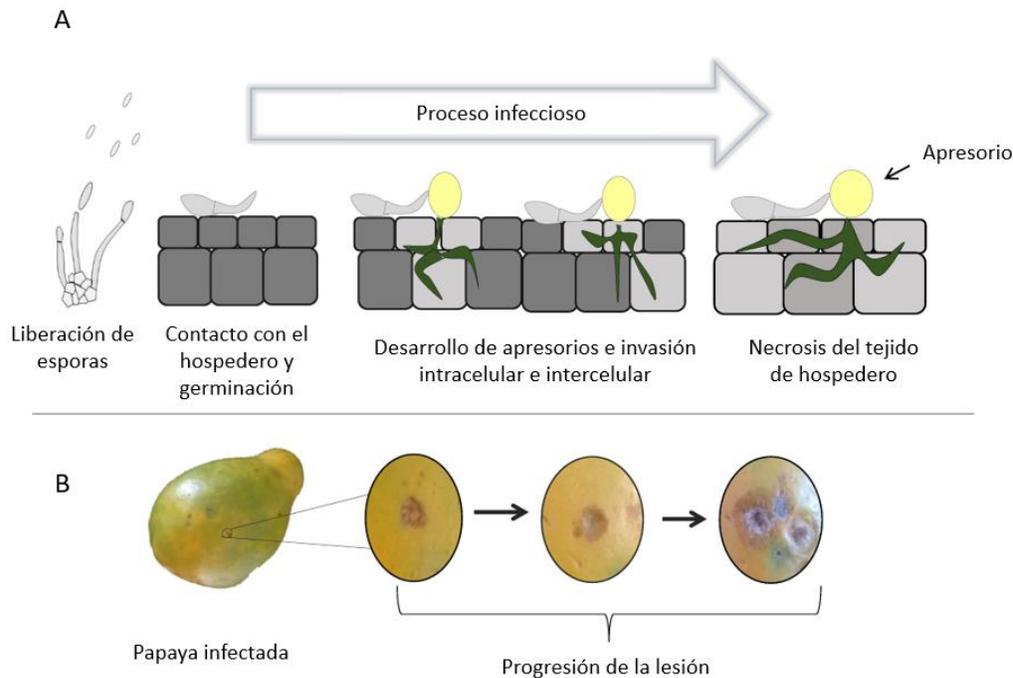


Figura 1.2. Esquema del desarrollo de la antracosis: microscópico (A) y macroscópico (B). Imagen modificada de Oliveira *et al.*, (2023).

1.1.5. *Rhizopus stolonifer*

R. stolonifer es un hongo filamentoso perteneciente al filo Zygomycota, orden mucorales y la Familia Mucoraceae, prolifera en climas tropicales, con temperaturas óptimas entre 23-28°C y humedad relativa del 70-90% (Yan *et al.*, 2021; da Silva *et al.*, 2020; Bautista-Baños *et al.*, 2014). La estructura del micelio presenta una forma cónica y cilíndrica, compuesta por hifas aéreas erectas que se ramifican, formando una masa micelial enmarañada de tonalidad blanquecina. *R. stolonifer* se propaga rápidamente mediante estolones que se extienden sobre el sustrato, y se ancla a través de rizoides. Los estolones son de color café oscuro, mientras que los rizoides son hialinos y presentan una ramificación abundante. Con el tiempo, emergen estructuras de color negro denominadas esporangios. Estos esporangios son de forma esférica, con un diámetro aproximado de 250 μm , y en su interior albergan miles de esporas esféricas de alrededor de 8 a 14 μm de largo y de 6 a 8 μm de ancho. La columela es subglobosa, de color gris claro y mide alrededor de 70 a 80 μm (Figura 1.3) (Bautista-Baños *et al.*, 2014; Kwon y Lee, 2006).

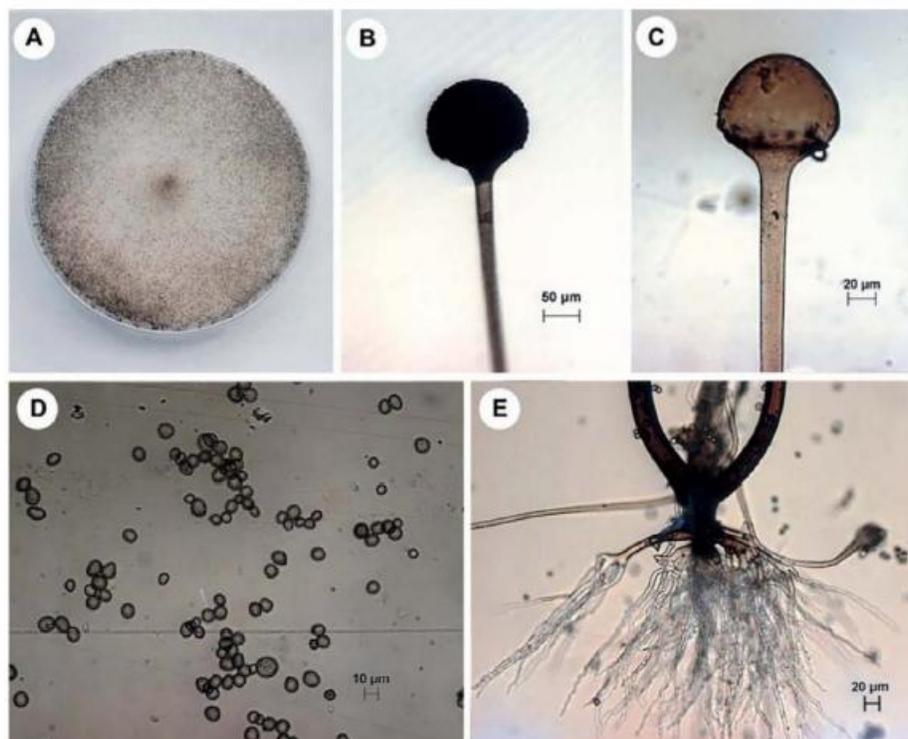


Figura 1.3. Características morfológicas de *R. stolonifer*. Crecimiento micelial en PDA después de 48 h. de incubación (A), esporangios (B), columela (C), esporas (D) y estolones y rizoides (E). (Fotografía obtenida de Kwon y Lee, 2006).

1.1.5.1. Pudrición blanda causada por *Rhizopus stolonifer* en frutos tropicales

La enfermedad causada por este hongo se conoce como pudrición blanda, y debido al rápido crecimiento del hongo, suele desarrollarse en pocos días, por lo que se considera uno de los hongos más devastadores durante el almacenaje de los frutos (Salem *et al.*, 2016; Bautista-Baños *et al.*, 2014). Entre los frutos de importancia comercial más afectados por *R. stolonifer* se encuentran la guanábana, el tomate, la papaya, el melón, la fresa y el durazno (Télez-Télez *et al.*, 2024; Du *et al.*, 2023; Tan *et al.*, 2023; Alfaro-Sifuentes *et al.*, 2019; Ramos-Guerrero *et al.*, 2018; Salem *et al.*, 2016; Bautista-Baños *et al.*, 2014). El 30% de la producción de tomates se pierden debido a enfermedades poscosecha y cerca del 80% de estas pérdidas son causadas por *R. stolonifer* (Alfaro-Sifuentes *et al.*, 2019). En el caso de la papaya y la fresa, las pérdidas económicas poscosecha, son hasta del 50% (Liu *et al.*, 2024; Tan *et al.*, 2023; Ventura-Aguilar *et al.*, 2021). En la producción de durazno, la pudrición blanda es la segunda enfermedad poscosecha más devastadora, con importantes pérdidas económicas (Salem *et al.*, 2016) y en el caso de la guanábana, tanto *R. stolonifer* como *C. gloeosporioides*, tienen mayor incidencia de

infecciones poscosecha (Cortés-Rivera *et al.*, 2022; Ramos-Guerrero *et al.*, 2018). Los frutos suaves como la fresa son los más susceptibles a esta enfermedad ya que *R. stolonifer* solo es capaz de infectar a través de lesiones presentes en la epidermis del fruto (Yan *et al.*, 2021; da Silva *et al.*, 2020; Bautista-Baños *et al.*, 2014). En la etapa inicial de la infección, las esporas penetran a través de las lesiones, germinan y el micelio se expande. Para que las esporas sean capaces de germinar, el hongo produce enzimas como esterasa y cutinasa, que promueven su adhesión a la cutícula de los frutos y la subsecuente penetración. Posteriormente, el fruto se cubre con lesiones acuosas, suaves e irregulares y a medida que el micelio se expande por el tejido dañado aparecen los esporangios que de dos a seis días llegan a cubrir toda la superficie. En la etapa más avanzada de la infección, el fruto desprende líquidos y un olor a fermentado (Tan *et al.*, 2023; Baggio *et al.*, 2016; Bautista-Baños *et al.*, 2014).

1.1.6. Manejo de frutos poscosecha y uso de fungicidas sintéticos

Para preservar los frutos poscosecha y ayudar a inhibir el desarrollo de las enfermedades fúngicas, se han desarrollado diversas estrategias de manejo. Entre estas se encuentran los tratamientos físicos, como mantener la temperatura y humedad relativa óptimas durante el procesamiento poscosecha de los frutos, aplicación de recubrimientos con cera, atmósferas modificadas durante el almacenamiento y tratamiento hidrotérmico, el cual consiste en sumergir los frutos cosechados en agua tibia por un período de tiempo determinado (Kahramanoğlu *et al.*, 2022; Alfaro-Sifuentes *et al.*, 2019; Jenny *et al.*, 2019; Rojo-Báez *et al.*, 2017; Suárez-Quiroz *et al.*, 2013). El control químico de la antracnosis y la pudrición blanda se basa en la aplicación de fungicidas sintéticos en los frutos, lo cual permite mantener y extender la calidad de vida en almacén. Sin embargo, algunos de estos fungicidas han sido usados por más de tres décadas (Yan *et al.*, 2021), su uso intensivo se ha relacionado con una disminución de la sensibilidad de los fitopatógenos y con la aparición de cepas resistentes a los fungicidas (Ciofini *et al.*, 2022; Wei *et al.*, 2021).

En México, se ha reportado que el benomilo es poco eficiente para tratar la antracnosis en cultivos de papaya (Suárez-Quiroz *et al.*, 2013; Santamaría-Basulto *et al.*, 2011). En ensayos de sensibilidad, *R. stolonifer* presentó resistencia a la máxima concentración probada del benomilo (1250 mg L⁻¹) y metalaxil (346.5 mg L⁻¹); *C. gloeosporioides* presentó resistencia a Captan (2000 mg L⁻¹), benomilo (1250 mg L⁻¹), tiabendazol (900 mg L⁻¹), metalaxil (346.5 mg L⁻¹) y mancozeb (4500mgL⁻¹) (Suárez-Quiroz *et al.*, 2013). También se ha reportado resistencia de *C. gloeosporioides* al tiabendazol (Tavares y Souza, 2005). Debido a esta problemática, los

agricultores utilizan dosis altas de fungicidas o combinan dos o más fungicidas para combatir las enfermedades fúngicas, lo que favorece el desarrollo de la resistencia adquirida (da Silva *et al.*, 2020; Dantas *et al.*, 2018; Suárez-Quiroz *et al.*, 2013). Adicionalmente, estas dosis altas de pesticidas afectan la salud humana y causan daños ecológicos a los ecosistemas (de Oliveira *et al.*, 2023; Wei *et al.*, 2021; Bordoh *et al.*, 2020; Kong *et al.*, 2019; Kumar y Kudachikar, 2018). El fungicida clorotalonil es altamente tóxico en organismos acuáticos, levemente tóxico en abejas y ha sido catalogado como posiblemente cancerígeno en humanos (COEPRIS, 2017). De manera similar, el fungicida procloraz, que es efectivo en el manejo de enfermedades fúngicas en mango y aguacate, ha sido recientemente catalogado como contaminante prioritario por la Agencia de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés) debido a sus posibles efectos cancerígenos (Ciofini *et al.*, 2022). Recientemente, diversos países han determinado un límite máximo de residuos químicos en los alimentos poscosecha, con el fin de regular el uso de productos fitosanitarios del sector agrícola y mitigar los efectos adversos en la salud y el medio ambiente (Ciofini *et al.*, 2022; Rodrigues *et al.*, 2021). El ineficiente control de las enfermedades fúngicas y el uso incorrecto de las dosis recomendadas por los fabricantes provoca que los frutos no cumplan los requerimientos de calidad del comercio internacional (Kumar y Kudachikar, 2018). De igual manera, los efectos en la salud humana, los residuos tóxicos, la contaminación ambiental, el desarrollo de resistencia de los fitopatógenos y los altos costos de los plaguicidas, han incitado a los investigadores a desarrollar productos naturales, efectivos y seguros para el ser humano y el medio ambiente (de Oliveira *et al.*, 2023; Cheng *et al.*, 2022; Herrera-González *et al.*, 2020; Kong *et al.*, 2019).

1.1.7. Biopesticidas como alternativa a los pesticidas sintéticos

El desarrollo de biopesticidas es una alternativa prometedora al uso de los pesticidas sintéticos (Dunan *et al.*, 2023; Siegwart y Lavoit, 2022). Los biopesticidas derivan de sustancias naturales o de organismos vivos y sus metabolitos. Estos productos presentan un impacto ambiental y toxicológico considerablemente menor en comparación con los pesticidas químicos convencionales (Nuruzzaman *et al.*, 2019). De acuerdo con la EPA, los biopesticidas se obtienen de una gran variedad de fuentes naturales, como animales, bacterias y plantas (EPA, 2023). El uso de biopesticidas elaborados a partir de extractos de plantas ha despertado interés a nivel mundial para el desarrollo de productos relacionados con el control de plagas y enfermedades, debido a su baja persistencia en el ambiente y su rápida descomposición (Gupta *et al.*, 2023). Los biopesticidas son menos riesgosos para la salud humana, al prevenir la introducción de toxinas sintéticas en la cadena alimenticia en comparación con los pesticidas sintéticos

disponibles (Ayilara *et al.*, 2023; Gupta *et al.*, 2023; Kumar *et al.*, 2021). Además, los biopesticidas también son importantes, ya que son una alternativa al manejo de enfermedades en lugares donde se ha desarrollado una resistencia los pesticidas sintéticos (Ondarza-Beneitez, 2017). Debido a este panorama de biopesticidas emergentes, la EPA reconoce cada vez más la importancia de la diversidad de especies vegetales y sus extractos (aceites esenciales, extractos orgánicos y metabolitos específicos) en el manejo integrado de plagas y enfermedades (Mesa *et al.*, 2019). Algunos biopesticidas, como es el caso de los AEs, son clasificados como pesticidas de mínimo riesgo por la ley FIFRA de Estados Unidos, debido a que sus ingredientes son catalogados como “Generally Recognized as Safe” (GRAS) (Marrone, 2019; Nazzaro *et al.*, 2017). Debido a esto, surge la necesidad de explorar el uso de los AEs, como una alternativa para controlar la antracnosis y la pudrición blanda.

1.1.8. Composición química de los aceites esenciales

Los AEs son sintetizados por más de 17,500 especies de plantas aromáticas (Esmaeili *et al.*, 2022). Los AEs tienen una función ecológica importante para las plantas, ya que son moléculas volátiles involucradas en la atracción de polinizadores, dispersores, así como en la defensa contra herbívoros y fitopatógenos (Falleh *et al.*, 2020). La Organización Internacional de Normalización, define los AEs como productos obtenidos por la técnica de destilación por arrastre de vapor de agua y por prensado frío, en el caso de los cítricos (Masyita *et al.*, 2022). Los AEs se sintetizan en tricomas glandulares, canales resiníferos y cavidades secretoras que se encuentran en diversos órganos de las plantas aromáticas, como flores, hojas, semillas frutos, raíces, madera y corteza (Raveau *et al.*, 2020; Pavela y Benelli, 2016). Los AEs son mezclas complejas de hasta 300 metabolitos que se encuentran en diferentes concentraciones (Dhifi *et al.*, 2016). El AE puede estar caracterizado por compuestos mayoritarios, con una concentración relativamente alta, igual o mayor al 50%, de hasta el 85%, en comparación con los otros compuestos presentes (Sousa *et al.*, 2022; Bakkali *et al.*, 2008; Burt, 2004). Diversos estudios han señalado a los compuestos mayoritarios como los responsables de la actividad antifúngica (de Oliveira *et al.*, 2023; Raveau *et al.*, 2020; Baptista-Silva *et al.*, 2020; Bakkali *et al.*, 2008).

Los constituyentes químicos de los AEs se clasifican en dos grupos: terpenos y terpenoides. Los terpenos son compuestos orgánicos derivados de la unidad de isopreno de cinco carbonos (C₅H₈) (Siddiqui *et al.*, 2024). Los monoterpenos (10 átomos de carbono) son los compuestos más predominantes en los AEs, seguido de los sesquiterpenos (15 átomos de carbono) (Masyita *et al.*, 2022). En algunas especies de plantas aromáticas, los monoterpenos pueden llegar a

representar hasta más del 90% de la composición del AE, como es el caso del AE de *Eucalyptus globulus* (Boukhatem *et al.*, 2020). Por otra parte, los terpenoides o compuestos oxigenados son compuesto derivados de los terpenos como los alcoholes, fenoles, ésteres y aldehídos. Se ha reportado, que los terpenoides, son las moléculas más importantes, responsables de la actividad antifúngica de los AEs. Por ello, los AEs que contienen como compuestos mayoritarios a terpenoides, como el carvacrol, presente en el AE de orégano (*Lippia origanoides*), eugenol, presente en el clavo (*Syzygium aromaticum*), timol, presente en el tomillo (*Thymus vulgaris*), o cinamaldehído, presente en la canela (*Cinnamomum verum*), presentan una actividad antifúngica y antimicrobiana importante. Mientras que los AEs que carecen de compuestos mayoritarios y contienen terpenos son usualmente inactivos (Esmaeili *et al.*, 2022; Reyes-Jurado *et al.*, 2020; Falleh *et al.*, 2020; Dhifi *et al.*, 2016; Boubaker *et al.*, 2016).

La composición química de los AEs depende de diversos factores como la época del año, el estado fenológico, tipo de suelo y las condiciones climáticas de donde las plantas son colectadas (Teles *et al.*, 2014). Sumado a esto, se encuentra la gran variabilidad en la concentración relativa de los metabolitos presentes en los AEs, por lo que es crucial, en los ensayos de actividad biológica con AEs, determinar la composición química, para poder entender el modo de acción de los AEs y los metabolitos que podrían ser responsables de dicha actividad (Baptista-Silva *et al.*, 2020).

Diversos AEs tienen actividad antifúngica contra fitopatógenos en condiciones *in vitro* (Kumar y Kudachikar, 2018; Rabari *et al.*, 2018). Algunas de las familias de plantas donde más frecuentemente se ha reportado dicha actividad son Liliaceae, Asteraceae, Verbenaceae, Lamiaceae, Solanaceae, Apocynaceae, Rutaceae, Caesalpinaceae, Sapotaceae, Piperaceae y Myrtaceae (Tabassum y Vidyasagar, 2013). Los AEs presentan efectos antifúngicos distintos, por lo tanto, se utiliza la concentración mínima inhibitoria y la concentración inhibitoria media (por sus siglas en inglés MIC e IC₅₀, respectivamente) para evaluar y comparar su actividad antifúngica (Armengol *et al.*, 2021; Raveau *et al.*, 2020). A pesar de que la MIC es la forma más frecuente de reportar la efectividad de los AEs, comparar datos entre publicaciones se dificulta, debido a las diferentes unidades de medida utilizadas para describir dichas concentraciones (Reyes-Jurado *et al.*, 2020).

Experimentalmente, la complejidad de comparar la actividad antifúngica de los AEs también reside en que se han utilizado diferentes metodologías para determinarla, ya sea a través de ensayos en fase líquida o en fase de vapor. Las metodologías utilizadas en fase líquida son a

través de ensayos de difusión de disco, método de pocillo y poison food (Armengol *et al.*, 2021; Valdés-Pérez *et al.*, 2016). En estas metodologías es necesario diluir previamente el AE en agua utilizando emulsificadores o solventes (Szczerbanik *et al.*, 2007). Diversos autores proponen que se requieren concentraciones más altas de AE al evaluarlos en fase líquida, y se debe considerar las posibles alteraciones sensoriales en el sabor al aplicarlos como conservantes naturales en los frutos (Reyes-Jurado *et al.*, 2020; Mejía-Garibay *et al.*, 2015; Siddiqui y Ali, 2014; Laird y Phillips, 2012). Una gran parte de las investigaciones de los AEs evaluados contra *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*, se ha centrado en ensayos en fase líquida (Oliveira-Filho *et al.* 2021; Abers *et al.*, 2021; Rezende *et al.*, 2020; Naserzadeh *et al.*, 2019; Sarkhosh *et al.*, 2018; Salem *et al.*, 2016; Sameza *et al.*, 2016; Athayde *et al.*, 2016; Andrade y Vieira, 2016; Cid-Pérez *et al.*, 2016; Mohammadi *et al.*, 2014; Abd-Alla y Haggag, 2013; Safari *et al.*, 2011; Combrinck *et al.*, 2011; Bosquez-Molina *et al.*, 2010 y Barrera-Necha *et al.*, 2008). De igual forma, en fase líquida se ha explorado el potencial antifúngico de algunos AEs provenientes de plantas nativas de la PY (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Actividad antifúngica de AEs de plantas aromáticas nativas de la PY en fase líquida sobre fitopatógenos fúngicos.

Fitopatógeno	Aceite esencial	Estructura fúngica	MIC	IC ₅₀	Unidad	Referencia
<i>Aspergillus carbonarius</i>	<i>Lippia origanoides</i>	Micelio	0.24		μL/mL	Brandão <i>et al.</i> (2021)
<i>Aspergillus flavus</i> y <i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Lippia origanoides</i>	Micelio	0.98		μL/mL	Brandão <i>et al.</i> (2021)
<i>Phytophthora infestans</i>	<i>Lippia origanoides</i>	Micelio	150	50	μg/ml	Arango-Bendoya <i>et al.</i> (2015)
<i>C. gloeosporioide</i> s	<i>Lippia origanoides</i>	Esporas	5		μL/mL	Aquino <i>et al.</i> (2014).

<i>Fusarium equiseti</i>	<i>Ocimum campechianum</i>	Micelio	2.50	0.8	µL/mL	Figueiredo <i>et al.</i> (2018)
<i>C. gloesporioides</i>	<i>Ocimum campechianum</i>	Esporas	270		µg/ mL	Souza <i>et al.</i> (2022).
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Ocimum campechianum</i>	Esporas	250		µg/ mL	Souza <i>et al.</i> (2022).
<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Ocimum campechianum</i>	Esporas	220		µg/ mL	Souza <i>et al.</i> (2022).
<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Ocimum campechianum</i>	Esporas		1.7	µL/mL	Figueiredo <i>et al.</i> (2018)
<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Piper auritum</i>	Micelio		6000	µg/mL	Chacón <i>et al.</i> (2021)
<i>Fusarium equiseti</i>	<i>Piper auritum</i>	Micelio		9000	µg/mL	Chacón <i>et al.</i> (2021)
<i>Mucor sp.</i>	<i>Hyptis suaveolens</i>	Micelio	1000		µg/mL	Malele <i>et al.</i> , (2003)
<i>Aspergillus fumigatus</i> y <i>Aspergillus parasiticus</i>	<i>Hyptis suaveolens</i>	Esporas	40		µL/mL	Moreira <i>et al.</i> (2010)
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Turnera diffusa</i>	Esporas	80		ppm	Powers <i>et al.</i> , (2019)

Por otro lado, estudios previos reportaron la actividad antifúngica de AEs en fase de vapor, debido a la naturaleza volátil de sus compuestos (Dunan *et al.*, 2023). El ensayo que se utiliza para explorar la actividad antifúngica de los AEs en fase de vapor es el método por difusión en fase de vapor, el cual consiste en colocar discos de papel filtro en la tapa de la caja Petri impregnados con el AE, sin entrar en contacto con el medio sólido inoculado con el hongo (Lin *et al.*, 2022).

Una de las ventajas de aplicar los AEs en fase de vapor es que podrían ser utilizados en el control de hongos poscosecha, al permitir una difusión homogénea de los compuestos volátiles en áreas confinadas al almacenaje de los frutos (Dunan *et al.*, 2023; Dimić *et al.*, 2015). Los vapores de los AEs son capaces de afectar a los hongos en sus diferentes etapas de su ciclo biológico, como el crecimiento de las hifas, la esporulación y la germinación de las esporas (Lin *et al.*, 2022). Adicionalmente, la aplicación de los AEs en fase de vapor podría requerir concentraciones más bajas de estos y sin alterar el sabor de los frutos, en comparación con su aplicación en fase líquida (Perumal *et al.*, 2021; Namiota y Bonikowski, 2021; Mejía-Garibay *et al.*, 2015; Goñi *et al.*, 2009). No obstante, son pocas las investigaciones que han contrastado la actividad de los AEs en fase de vapor y en fase líquida (Wang *et al.*, 2023; Dimić *et al.*, 2015; Mejía-Garibay *et al.*, 2015).

La Tabla 1.2, resume ensayos de AEs en fase de vapor contra *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*. No hay reportes en fase de vapor de AEs proveniente de plantas nativas de la PY contra *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*. Los únicos AEs que han sido estudiados en fase de vapor son *H. suaveolens* y *L. origanoides*, pero contra otros hongos fitopatógenos.

Tabla 1.2. Actividad antifúngica de AEs en fase de vapor sobre *R. stolonifer*, *C. gloeosporioides* y otros fitopatógenos fúngicos.

Fitopatógeno	AE	Estructura fúngica	MIC	IC ₅₀	Unidad	Referencia
<i>C. gloeosporioides</i>	<i>Cinnamomum verum</i>	Micelio	0.08		μL/mL de aire	Wang <i>et al.</i> , (2023)
<i>C. gloeosporioides</i>	<i>Syzygium aromaticum</i>	Micelio	0.04		μL/mL de aire	Wang <i>et al.</i> , (2023)
<i>C. gloeosporioides</i>	<i>Artemisia scoparia</i>	Micelio		0.075	μL/mL de aire	Huang <i>et al.</i> , (2021)
<i>C. gloeosporioides</i>	<i>Artemisia lavandulifolia</i>	Micelio		0.11	μL/mL de aire	Huang <i>et al.</i> , (2021)
<i>C. gloeosporioides</i>	<i>Artemisia annua</i>	Micelio		0.188	μL/mL de aire	Huang <i>et al.</i> , (2021)
<i>C. gloeosporioides</i>	<i>Thymus vulgaris</i>	Micelio	0.062		μL/mL de aire	Perumal <i>et al.</i> , (2016)

<i>C. gloeosporioides</i>	<i>Syzygium aromaticum</i> y <i>Cinnamomum verum</i>	Micelio	0.1	μL/mL de aire	Perumal et al., (2016)
<i>C. gloeosporioides</i>	<i>Pimpinella anisum</i> y <i>Vitex negundo</i>	Micelio	0.1	μL/mL de aire	Perumal et al., (2016)
<i>C. gloeosporioides</i>	<i>Thymus vulgaris</i>	Micelio	0.062	μL/mL de aire	Sellamuthu et al., (2013)
<i>C. gloeosporioides</i>	<i>Mentha piperita</i> y <i>Cymbopogon nardus</i>	Micelio	0.1	μL/mL de aire	Sellamuthu et al., (2013)
<i>R. stolonifer</i>	<i>Mentha piperita</i> y <i>Ocimum basilicum</i>	Micelio	0.075	μL/mL de aire	Edris y Farrag, 2003
<i>R. stolonifer</i>	<i>Teucrium luteum</i> subsp. <i>flavovirens</i>	Micelio	>2	μL/mL de aire	Znini et al., (2021)
<i>R. stolonifer</i>	<i>Teucrium luteum</i> subsp. <i>flavovirens</i>	Espora	2	μL/mL de aire	Znini et al., (2021)
<i>R. stolonifer</i>	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	Micelio	0.25	μL/mL de aire	Manssouri et al., (2016)

<i>R. stolonifer</i>	<i>Pulicaria mauritanica</i>	Micelio	0.125	μL/mL de aire	Bammou <i>et al.</i> , (2019)
<i>R. stolonifer</i>	<i>Foeniculum vulgare</i>	Micelio	0.125	μL/mL de aire	Khalid <i>et al.</i> , (2015)
<i>R. stolonifer</i>	<i>Thymus vulgaris</i>	Micelio	0.06	μL/mL de aire	Sellamuthu <i>et al.</i> , (2013)
<i>R. stolonifer</i>	<i>Ocimum basilicum</i> , <i>Foeniculum vulgare</i> , <i>Satureja hortensis</i> y <i>Thymus vulgaris</i>	Micelio	0.06	μL/mL de aire	Abdollahi <i>et al.</i> , (2011)
<i>R. stolonifer</i>	<i>Cladanthus eriolepis</i>	Micelio	0.5	μL/mL de aire	Bammou <i>et al.</i> , (2020)
<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Lippia organoides</i> *	Micelio	0.294	μL/mL de aire	Gómez-Sánchez <i>et al.</i> , (2011)
<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Lippia organoides</i> *	Micelio	0.15	μL/mL de aire	Cueto-Wong <i>et al.</i> , (2010)
<i>F. oxysporum</i>	<i>Hyptis suaveolens</i> *	Micelio	0.748	μg/mL de aire	Tripathi (2009)

Con asterisco (*) se muestran los AEs de plantas aromáticas nativas de la PY.

1.1.9. Modo de acción de los aceites esenciales

La actividad antifúngica de los AEs depende de la presencia y la interacción sinérgica de sus constituyentes. El mecanismo de acción de los AE en las células fúngicas no ha sido elucidado por completo. Se ha propuesto que los terpenos en su forma oxigenada incrementan la actividad antifúngica de los AE, alterando la estructura de la membrana plasmática de los hongos (de Oliveira *et al.*, 2023; Maurya *et al.*, 2021; Scariot *et al.*, 2020; Kordali *et al.*, 2008). La inestabilidad

de la membrana plasmática provoca la pérdida de iones celulares como K^+ , Ca^{2+} , y Mg^{2+} . Cuando hay una pérdida de iones, el citoplasma se desestabiliza causando una alteración metabólica y la muerte celular (de Oliveira *et al.*, 2023; Maurya *et al.*, 2021). Chaudhari *et al.*, (2018) reportó que el AE de *Pimenta dioica*, el cual provocó un incremento significativo en la pérdida de iones celulares en el micelio de *Aspergillus flavus* con una MIC de 2.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$. En otro estudio, observaron cambios estructurales al tratar *A. flavus* con AE de *Ageratum conyzoides*, especialmente en la membrana plasmática y en la membrana mitocondrial (Nogueira *et al.*, 2010).

Por otro lado, muchas de las hipótesis planteadas se deben a su naturaleza hidrofóbica capaz de afectar la síntesis de ergosterol de la membrana (Figura 1.4) (de Oliveira *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2023; Maurya *et al.*, 2021; Burt, 2004). En los hongos, el ergosterol es un componente específico de la membrana citoplasmática y su función es mantener la fluidez, integridad y viabilidad. Se ha demostrado que los AE son capaces de reducir la cantidad de ergosterol en la membrana, como ocurrió con el AE de *Illicium verum*, al reducir el 100% del ergosterol de *A. flavus*, a una dosis de 3.6 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (Li *et al.*, 2020). Esta reducción del contenido de ergosterol generará una inestabilidad osmótica y metabólica, afectando la capacidad reproductiva e infecciosa del hongo y debido a que el ergosterol es el principal componente de la membrana citoplasmática, su disminución conduce a un desequilibrio de la permeabilidad celular (Maurya *et al.*, 2021; Kiran *et al.*, 2016). Brandão *et al.*, (2021) reportaron una inhibición del 100% de ergosterol con el AE de *Lippia origanoides* a una concentración de 0.98 $\mu\text{L}/\text{mL}$ en *Aspergillus* spp. Por otro lado, la proteína lanosterol 14a-desmetilasa (CYP51) es la principal proteína transmembrana encargada de regular la biosíntesis de ergosterol, por lo tanto, ha sido seleccionada como objetivo para la mayoría de los compuestos antifúngicos (Song *et al.*, 2018; Abe *et al.*, 2009). Wang *et al.*, (2023), determinaron que los compuestos principales del AE de la canela y el clavo, trans-cinnamaldehído y eugenol, respectivamente, presentan una alta afinidad a la proteína CYP51, lo que conduce a una reducción en el contenido de ergosterol en la membrana.

Adicionalmente, los terpenos presentes en los AEs pueden alterar el flujo de la cadena de transporte de electrones, afectando la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales son capaces de genera daños celulares al oxidar moléculas importantes como proteínas, lípidos y el ADN (de Oliveira *et al.*, 2023; Nazzaro *et al.*, 2017; Tian *et al.*, 2012).

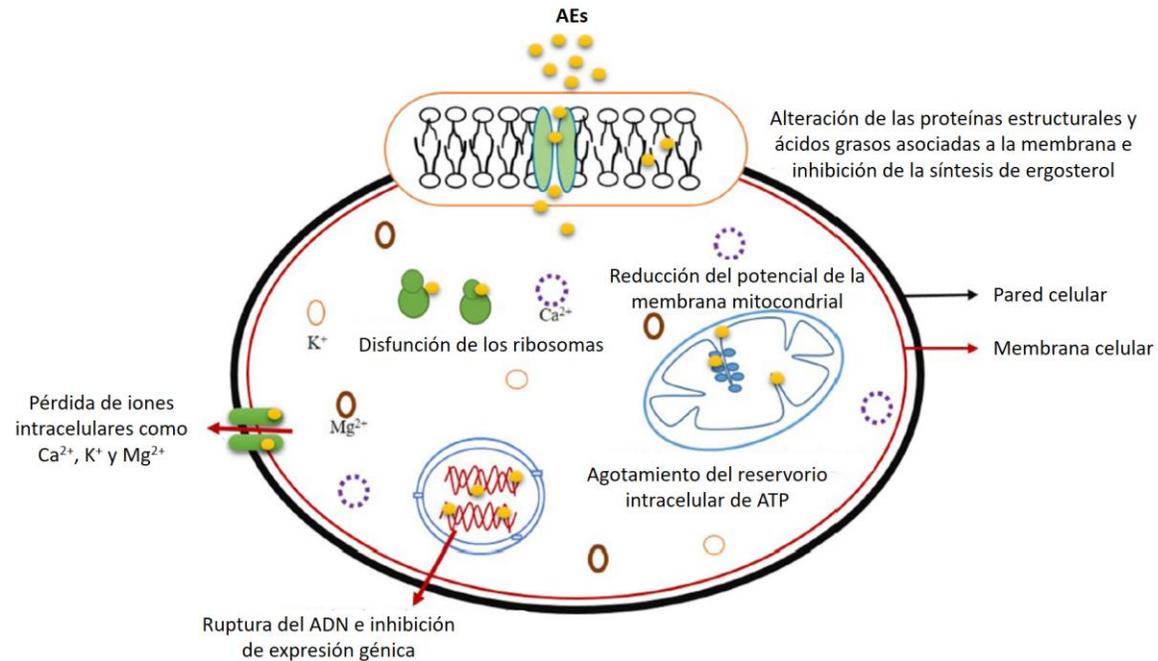


Figura 1.4. Posibles mecanismos de acción de los AE sobre la célula fúngica (imagen modificada de Maurya *et al.*, 2021).

1.1.10. Plantas aromáticas utilizadas

Las especies de plantas aromáticas para las cuales se evaluó la actividad antifúngica de sus AEs en fase de vapor fueron seleccionadas con los siguientes criterios:

- Plantas aromáticas nativas de la península de Yucatán
- Sin conocimiento previo de su actividad antifúngica en fase de vapor sobre *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*.
- Especies abundantes y de fácil cultivo.

1.1.10.1. *Lippia origanoides* Kunth.

Figura 1.5. Fotografía de *L. origanoides* (LM Calvo).

Se conoce como orégano de monte y ak'ilche' (en lengua maya) (Calvo-Irabien, 2012). Es un arbusto aromático de 2 m de altura, con hojas oblongas a elípticas de 2-4 cm de largo, las flores son blancas y están dispuestas en espigas subglobosas de 4-12 mm de largo (Germosen-Robineau, 2014). Se distribuye desde el sur de Texas hasta Nicaragua; en Yucatán, es más abundante en el noroeste del estado, presenta poblaciones menos densas en el centro-sur (Calvo-Irabien, 2012). Existen diversos estudios sobre la composición química del AE de *L. origanoides*, los cuales reportan que los compuestos mayoritarios encontrados son el carvacrol (Sarrazin *et al.*, 2024; Brandão *et al.*, 2021; Menezes *et al.*, 2018; Hernandez *et al.*, 2017; Majolo *et al.*, 2017; Teixeira *et al.*, 2014; Teles *et al.*, 2014; Andrade *et al.*, 2014; Gómez-Sánchez *et al.*, 2011), timol (Santos-Filho *et al.*, 2023; da Silva *et al.*, 2022; Lisboa *et al.*, 2020; Leal *et al.*, 2019; Damasceno *et al.*, 2018), p-cimeno (Reyes-Jurado *et al.*, 2019), γ -terpinene (Brandão *et al.*, 2021; Hernandez *et al.*, 2017; Teixeira *et al.*, 2014) y eucaliptol (Ribeiro *et al.*, 2021).

La actividad antifúngica de *L. origanoides* ha sido estudiada en fase líquida sobre la inhibición de la germinación de esporas de *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Rhizopus* spp., *Penicillium* spp. y *Bipolaris* spp (Portillo-Ruíz *et al.*, 2005). De igual forma, se ha estudiado su actividad sobre la inhibición del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea*, *A. carbonarius*, *A. flavus*, *A. ochraceus* y *C. gloeosporioides*, con valores de MIC de 0.24 μ L/mL a 0.98 μ L/mL (Antonia *et al.*, 2024; Brandão *et al.*, 2021; Andrade *et al.*, 2014). Se ha documentado que el AE de *L. origanoides* en fase de vapor presentó actividad antifúngica sobre las esporas de *Aspergillus* spp., *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton rubrum* y *Penicillium* spp., con valores de MIC reportados entre 0.28 a 1.0 μ L/mL de aire (Reyes-Jurado *et al.*, 2019). También se ha evaluado

en fase de vapor sobre el micelio de *A. flavus* y *F. oxysporum* (Gómez-Sánchez *et al.*, 2011; Cueto-Wong *et al.*, 2010). No hay estudios de su actividad antifúngica en fase de vapor sobre *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*.

1.1.10.2. *Piper auritum* Kunth.



Figura 1.6. Fotografía de *P. auritum* (LM Calvo).

Conocido comúnmente como hierba santa o X-mak'ulan (en lengua maya), es un arbusto u árbol aromático pequeño de 1 a 4 m de alto. Sus hojas son ovadas de 20-40 x 12-25 cm, con ápice acuminado, la inflorescencia con forma de espiga mide entre 10-20 cm, con flores pequeñas de color blanco a amarillo claro (Calvo-Irabien, 2012). Se distribuye desde el sur de México hasta Panamá y Colombia, con una amplia distribución en la PY (Méndez-González *et al.*, 2012). En Yucatán, se ha reportado un rendimiento promedio del AE extraído de las hojas del 0.63%, con algunos individuos con rendimientos cercanos a 1.6% (Calvo-Irabien, 2012). El compuesto aromático mayoritario reportado para el AE de hojas es el safrol (Lam-Gutiérrez *et al.*, 2024; Caballero-Gallardo *et al.*, 2014; Pineda *et al.*, 2013; Rodríguez *et al.*, 2013), sin embargo, también se ha reportado el γ -terpineno (Noriega-Rivera *et al.*, 2018). Se ha estudiado el AE en fase líquida contra *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum acutatum*, *F. oxysporum* y *F. equiseti* (Chacón *et al.*, 2021; Pineda *et al.*, 2013). No hay estudios previos sobre su actividad antifúngica en fase de vapor.

1.1.10.3. *Bursera simaruba* (L.) Sarg.

Figura 1.7. Fotografía de *B. simaruba* (Naturalist, 2024a; Naturalist, 2024b).

Conocido comúnmente como palo mulato o chaká (en lengua maya), es un árbol dioico resinoso, caducifolio, con altura variable de hasta 30 m de altura. Tronco con corteza rojiza, hojas alternas, de cinco a nueve folíolos oblongos, con margen entero. Las inflorescencias femeninas miden 14 cm de largo y las masculinas 20 cm, con pétalos de color crema. Originaria de América, se distribuye desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Sudamérica y las Antillas, y amplia distribución en toda la PY (Méndez-González *et al.*, 2012). En Yucatán, se reportó un rendimiento promedio del AE extraído de las hojas del 0.06%, con algunos individuos con rendimientos cercanos a 0.3% (Calvo-Irabien, 2012). Entre los compuestos aromáticos mayoritarios reportados para las hojas de *B. simaruba* se encuentran los monoterpenos α -pineno (Junor *et al.*, 2008), limoneno (Sylvestre *et al.*, 2007), α -terpineno, p- cimeno, γ -terpinene (Ravelo-Martínez *et al.*, 2024), o-cimeno (Setzer, 2014) y los sesquiterpenos β -caryophyllene y α -humulene (Sylvestre *et al.*, 2007). No existen reportes de la propiedad antifúngica del AE. Sin embargo, se ha estudiado la actividad del compuesto α - pineno contra *C. albicans*, con una MIC obtenida entre 128 y 512 $\mu\text{g/mL}$ (de Barros *et al.*, 2022).

1.1.10.4. *Lantana hirta* Graham.

Figura 1.8. Fotografía de *L. hirta* (Naturalist, 2024c).

Conocido comúnmente como oreganillo de monte o xiu (en lengua maya), es un arbusto de 2 a 3m de alto, con hojas compuestas y ovadas, de 0.7 hasta 9 cm de largo. Inflorescencia en forma de espiga, de coloración blancas hasta rosadas. Tiene una amplia distribución, desde el sur de Texas hasta Panamá (Calvo-Irabien, 2012). En Yucatán, se ha reportado un rendimiento promedio del AE extraído de las hojas del 0.3%, con algunos individuos con rendimientos cercanos a 0.70% (Calvo-Irabien, 2012). Entre los compuestos aromáticos mayoritarios reportados para las hojas de *L. hirta* se encuentran 1-octen-3-ol, germacreno D (Walden *et al.*, 2009), óxido de cariofileno y bornilacetato (Sánchez-Hernández *et al.*, 2018). Se ha estudiado el AE en fase líquida contra *C. albicans* con una MIC de 4.5 mg/mL (Sánchez-Hernández *et al.*, 2018). No se ha estudiado su actividad antifúngica en fase de vapor.

1.1.10.5. *Lantana canescens* Kunth.

Figura 1.9. Fotografía de *L. canescens* (LM Calvo).

Conocido comúnmente como toronijl o suulché (en lengua maya), es un arbusto pequeño, de 70 a 150 cm de alto, con tallos y ramas pubescentes. Hojas lanceoladas de 3 a 8 cm de largo, inflorescencia con forma de cabezuela, flores blancas con centro amarillo. Con amplia distribución, desde Texas y Florida, hasta Argentina (Calvo-Irabien, 2012). En Yucatán, se ha reportado un rendimiento promedio del AE extraído de las hojas del 0.03% (Calvo-Irabien, 2012). Entre los compuestos aromáticos mayoritarios reportados para las hojas de *L. canescens* se encuentran β -cariofileno, β -cubebeno, elixeno y germacreno D (Peralta-Bohórquez *et al.*, 2011; Filho *et al.*, 2010). No hay estudios previos de la actividad antifúngica de esta especie.

1.1.10.6. *Ocimum campechianum* Mill.

Figura 1.10. Fotografía de *O. campechianum* (LM Calvo).

Conocido comúnmente como albahaca de monte o xkakaltuun (en lengua maya), es una hierba de 40 a 60 cm de alto, sus tallos son tetragonales y glabros. Hojas opuestas, con forma ovada a elíptica y margen dentado. Flores dispuestas en inflorescencias ascendentes, pétalos unidos de color lila claro o blancas (Méndez-González *et al.*, 2012). Amplia distribución, desde el sur de los Estados Unidos hasta Argentina. Se distribuye en toda la PY, encontrándose como planta ruderal (Calvo-Irabién, 2012; Méndez-González *et al.*, 2012). En Yucatán, se reportó un rendimiento promedio del AE extraído de las hojas del 1.5% (Calvo-Irabién, 2012). Del AE de hoja, se han identificado diversos compuestos aromáticos mayoritarios como el eugenol (Souza *et al.*, 2022; Tacchini *et al.*, 2020), metil eugenol (Wilson *et al.*, 2022; Figueiredo *et al.*, 2018), eucaliptol y β -cariofileno (Carovic-Stanko *et al.*, 2010; Vieira *et al.*, 2000).

Se ha estudiado el AE de *O. campechianum* en fase líquida contra la germinación de esporas de *Penicillium chrysogenum*, *A. niger*, *C. gloeosporioides*, con valores de MIC de 220 a 270 $\mu\text{g/mL}$ (Souza *et al.*, 2022). También se ha reportado actividad antifúngica contra la inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum* y *Colletotrichum gossypii*, con una IC_{50} de 0.7 μL y 0.8 $\mu\text{L/mL}$, respectivamente (Figueiredo *et al.*, 2018). No se ha explorado su actividad antifúngica en fase de vapor.

1.1.10.7. *Hyptis suaveolens* (L.) Poit.

Figura 1.11. Fotografía de *H. suaveolens* (LM Calvo).

Su nombre común es confitura o chía gorda, y en lengua maya se conoce como xolte'xnuk. Es una hierba aromática de olor fuerte, alcanza hasta los 2 m de alto, con tallos tetragonales y pubescentes, hojas opuestas, con forma ovada a lanceolada. La inflorescencia de 0.5 a 1 cm de largo, con cuatro a ocho flores de color azul, blanco o moradas. Originaria de México hasta Sudamérica, en Yucatán tiene una amplia distribución, con una mayor abundancia en la parte oeste (Calvo-Irabien, 2012). En Yucatán, el rendimiento del AE obtenido de las hojas oscila entre 0.2 y 0.6% (Calvo-Irabien, 2012). Algunos de los compuestos mayoritarios descritos son el eucaliptol (Joseph *et al.*, 2020; Moreira *et al.*, 2010), cariofileno, eucaliptol (Adjou *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2013) y β -cariofileno (Chung *et al.*, 2020; Adjou *et al.*, 2019; Canale *et al.*, 2013).

La actividad antifúngica del AE de *H. suaveolens* fue evaluada en fase líquida contra el micelio de *A. fumigatus*, *A. parasiticus*, *Mucor* sp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerofium rolfisii*, y contra las esporas de *S. sclerotiorum* (Moreira *et al.*, 2010; Malele *et al.*, 2003). Su actividad en fase de vapor ha sido estudiada contra *F. oxysporum* (Tripathi, 2009). No obstante, no se ha estudiado su actividad antifúngica en fase de vapor sobre *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*.

1.1.10.8. *Turnera diffusa* Willd. ex-Schult.

Figura 1.12. Fotografía de *T. diffusa* (LM Calvo).

Conocida como damiana o miisib k'aax (en lengua maya), planta herbácea aromática pequeña, que mide hasta 2 m de alto, su tallo ramificado, hojas alternas con forma elíptica (CICY, 2024; Calvo-Irabien, 2012). Las hojas y el tallo son pubescentes, presentan glándulas amarillas, las flores son amarillas y miden de 3 a 5 mm de diámetro (Calvo-Irabien, 2012). Se distribuye desde California y Texas, Centroamérica, el norte de Sudamérica hasta Las Antillas. En Yucatán está presente en selva baja caducifolia, selva mediana y la duna costera (Calvo-Irabien, 2012). En Yucatán, se reportó un rendimiento promedio del AE de *T. diffusa* de 0.11% (Calvo-Irabien, 2012). El AE de las hojas contiene distintos compuestos aromáticos mayoritarios, como drima-7,9(11) diene (Stashenko *et al.*, 2015; Bueno *et al.*, 2011), aristolocheno (Silva-Trujillo *et al.*, 2022), dehidrofuquinona (Carreño *et al.*, 2023; Silva-Trujillo *et al.*, 2022; Stashenko *et al.*, 2015), β -cariofileno y germacreno B (Oladipupo *et al.*, 2020). Se ha estudiado el AE de *T. diffusa* contra *C. albicans*, *C. neoformans* y *A. niger* (Powers *et al.*, 2019; Tangarife-Castaño *et al.*, 2011). En fase de vapor no ha sido explorada la actividad antifúngica del AE.

1.1.10.9. *Lippia myriocephala* Schlttdl. & Cham.

Figura 1.13. Fotografía de *L. myriocephala* (LM Calvo).

Conocida comúnmente como palo de gusano, es un árbol de 12 m de alto, hojas lanceoladas de entre 5 y 15 cm de longitud, con flores blancas, pequeñas, agrupadas en cabezuelas. La distribución de esta planta se registró en México, Belice, Guatemala y Costa Rica. Con poblaciones ubicadas en selvas medianas, cerca de la costa. En Yucatán, se reportó un rendimiento del 0.07% de AE extraído de hojas (Calvo-Irabien, 2012). Son escasos los estudios de la composición química del AE. Se han identificado como compuestos mayoritarios el β -cariofileno, germacreno D y β -cubebeno (Vila *et al.*, 2004). Sin embargo, no se ha evaluado la actividad antifúngica del AE de *L. myriocephala*.

1.1.10.10. *Croton yucatanensis* Lundell.

Figura 1.14. Fotografía de *C. yucatanensis* (flora digital herbario CICY, 2024).

Conocido en maya como chiim kuuts, es un arbusto aromático de hasta 90 cm de alto, hojas alternas. Se distribuye en Centroamérica (Nicaragua), en México se encuentra en Oaxaca y en la PY (CICY, 2024). No se han realizado estudios fitoquímicos para *C. yucatanensis* y tampoco se ha explorado su actividad antifúngica; sin embargo, se ha reportado actividad antifúngica de otra especie del mismo género (Moo-Koh *et al.*, 2022).

1.2. JUSTIFICACIÓN

Los fitopatógenos *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer* son un problema significativo para los productores agrícolas mexicanos, al reducir drásticamente la producción poscosecha de diversos frutos de importancia económica. El uso de fungicidas sintéticos ha provocado efectos negativos al medio ambiente y a la salud humana, así como fenómenos de resistencia y residuos tóxicos en los frutos. Lo anterior ha llevado a la búsqueda de pesticidas alternativos para el control y gestión integral de los hongos fitopatógenos. Diversos estudios han reportado las propiedades antifúngicas de los AEs y existe evidencia de que tienen menos efectos nocivos en comparación con los sintéticos, lo cual enfatiza su posible aplicación como biofungicida en el manejo y la preservación de los alimentos poscosecha. Una gran parte de la actividad biológica reportada de AEs, son estudios que se han hecho con AEs comerciales, provenientes de plantas aromáticas europeas o asiáticas. En la PY existe una amplia diversidad de plantas aromáticas nativas, para las cuales los estudios de las propiedades de sus AEs son muy escasos. Es importante generar conocimientos científicos para explorar el potencial antifúngico de dichas especies, promover su cultivo e incentivar el desarrollo de tecnologías agroecológicas sustentables, capaces de prevenir y controlar la antracnosis y la pudrición blanda en los frutos poscosecha, con menores impactos en la salud humana y en los ecosistemas.

1.3. OBJETIVO GENERAL

- Explorar el potencial antifúngico de aceites esenciales de diez especies de plantas aromáticas nativas de la península de Yucatán contra *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*.

1.4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar la composición química de diez AEs de plantas aromáticas nativas de la península de Yucatán.
- Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de los AEs en la inhibición del crecimiento micelial y la inhibición de la germinación de esporas de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*.
- Analizar la relación entre la composición química de los AEs estudiados y su actividad antifúngica.

1.5. HIPÓTESIS

- Se plantea que los AE cuya composición química esté dominada por un compuesto mayoritario (>50%) presentarán actividad antifúngica
- Los AEs que en su composición química predominen los monoterpenoides, presentarán actividad antifúngica.
- Debido a que la espora se caracteriza por ser una estructura de resistencia, se espera que el micelio sea más susceptible a los AEs estudiados.

1.6. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

En la Figura 1.15 se muestra la estrategia experimental a seguir, para cumplir los objetivos planteados.

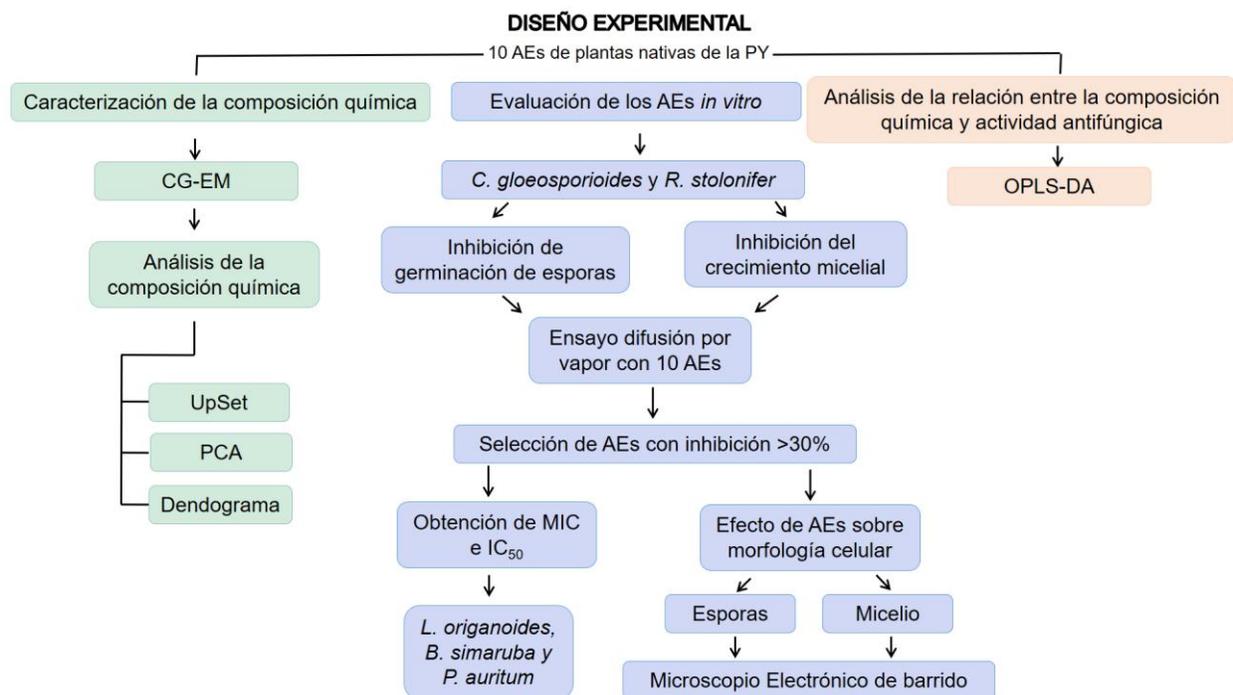


Figura 1.15. Estrategia experimental. PY= península de Yucatán, CG-EM= Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, PCA= Análisis de componentes principales, MIC=Mínima concentración inhibitoria, IC₅₀= Concentración inhibitoria del 50%, OPLS-DA=Análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales ortogonales

CAPÍTULO II

2.1. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.1. Obtención de aceites esenciales

Para el presente estudio se seleccionaron los AEs de *B. simaruba*, *C. yucatanensis*, *H. suaveolens*, *L. canescens*, *L. hirta*, *L. myriocephala*, *L. organoides*, *O. campechianum*, *P. auritum*, *T. diffusa*, con base en los criterios mencionados previamente. Los AEs fueron proporcionados por la Dra. Luz María Calvo Irabien del área de Recursos Naturales del CICY. Estos se encontraban almacenados en refrigeración a 2°C, en viales color ámbar para mantener la calidad de los AEs. El material vegetal, en este caso las hojas, se colectó de poblaciones silvestres, y se destiló a partir de las hojas de los ejemplares de las distintas especies. La extracción de los AEs se realizó con el método de destilación por arrastre de vapor, en un equipo tipo Clevenger. Los datos de colecta se muestran en la tabla 2.1.

Tabla 2.1. Especies seleccionadas para el estudio de la actividad antifúngica de sus AEs y datos de colecta.

Nombre científico	Nombre común	Sitio de colecta	Ejemplar de herbario
<i>Bursera simaruba</i>	chaká	Xcumpich, Mérida	LM Calvo no. 448
<i>Croton yucatanensis</i>	iikabán	Nohuayun	LM Calvo no.355
<i>Mesospaherum suaveolens</i> (= <i>Hyptis suaveolens</i>)	planta de chan	Carretera Mérida a Tetz, Nohuayun	LM Calvo no.36, 386
<i>Lantana canescens</i>		Chicxulub Pueblo, Chenche de la Torres, Opichen	LM Calvo no.136, 449
<i>Lantana hirta</i>		Tiholop y Nohuayun	LM Calvo no.11, 450
<i>Lippia myriocephala</i>	palo de gusano	Chikindzonot, Tiholop,	LM Calvo no.152
<i>Lippia organoides</i>	orégano de monte	Nohuayun, Sierra Papacal, Chicxulub Pueblo	LM Calvo no.256,260,451
<i>Ocimum campechianum</i>	albahaca de monte	Kochol, Sierra Papacal, Montes de Nohuayun	LM Calvo no.133, 138
<i>Piper auritum</i>	hoja santa	Kaua, Xcalakooop, Piste, Uayma, y Santa Rita	LM Calvo no.399-404
<i>Turnera diffusa</i>	damiana	Tixcalcatuyub, Nohuayun, Abalá	LM Calvo no.16, 57,124

2.1.2. Análisis de aceites esenciales por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG/EM)

Se caracterizó la composición química de los AE en un cromatógrafo de gases de la marca Agilent Technologies Modelo 6890N, acoplado a un espectrómetro de masas con un detector selectivo de masas 5875 B (ionización por impacto de electrones a 70 eV). Para la separación de los componentes del AE se utilizó la columna apolar DB-5 (metil-fenil silona con 5% fenil y 95% metil), de la marca Agilent Technologies, de 60 m de longitud con 0.25 mm de diámetro y 0.25 µm de espesor. El gas acarreador fue helio con un flujo de 1mL /min. La temperatura inicial del horno fue de 45 °C, que se mantuvo por 5 min, con un incremento de 4°C/min hasta alcanzar 150°C, durante 2 min. Posteriormente aumentó 5°C/min hasta alcanzar 250°C, permaneciendo por 5 min y finalmente incrementó a 10°C/min hasta 275°C, manteniéndose a dicha temperatura por 15 min, lo que hace un tiempo total de 75.75 min. La temperatura del detector fue de 290°C y del inyector de 280°C, con inyección en modo Split (1:40). Se utilizó el software G1701DA GC-MSD ChemStation vD03.00.552 para visualizar y analizar los perfiles cromatográficos.

Para la identificación confirmatoria de los compuestos presentes en los AEs, se compararon los patrones de fragmentación de cada uno de los picos con una base de datos de estándares comerciales, previamente inyectados en el equipo bajo las mismas condiciones. El porcentaje de similitud para la identificación fue de ≥95%. En los casos en donde no se logró tener una identificación confirmatoria, se realizó una identificación tentativa, utilizando la base de datos de Adams (2007), especializada en AE y la base de datos NIST11.1. Para esta identificación tentativa se consideró un porcentaje de similitud mayor o igual al 70%. Los compuestos que tuvieron un porcentaje menor se consideraron como no identificados. Para los análisis estadísticos sólo se tomaron en cuenta aquellos compuestos que tenían un área igual o mayor al 1% del total del perfil cromatográfico. Adicionalmente, se calculó un índice de retención lineal con base en los tiempos de retención relativos a la serie de alcanos y los valores obtenidos para cada compuesto se compararon con los reportados en la literatura (Adams 2007). Se inyectó una serie de alcanos (C7-C40) (Sigma-Aldrich, Misuri, EUA) directamente en el CG-MS, con las mismas condiciones descritas anteriormente. Se calculó un índice de retención lineal para cada compuesto (pico) mediante la siguiente fórmula:

$$IR = 100xn + 100 \left[\frac{trx - trn}{trN - trn} \right]$$

Donde xn: número de carbonos. trx: tiempo de retención del compuesto. trn: tiempo de retención del alcano de menor número de carbonos. trN: el tiempo de retención del alcano de mayor número de carbonos.

2.1.3. Obtención de hongos

Los hongos fitopatógenos *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer* fueron proporcionados por el laboratorio de diagnóstico fitosanitario Grupo de Estudios Moleculares aplicados a la Biología (GeMBio), los cuales fueron aislados de *Carica papaya*. Se sembraron los hongos en medio Papa-Dextrosa-Agar (PDA) y se incubaron a temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) por siete días. Para los ensayos de actividad antifúngica se seleccionó el método de difusión por vapor, debido a que en un estudio previo los AEs utilizados en el presente estudio no mostraron actividad antifúngica en fase líquida.

2.1.4. Inhibición del crecimiento micelial

Para evaluar la actividad antifúngica de los diez AEs sobre el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*, se utilizó el método de difusión por vapor (Wang *et al.*, 2023). Las cajas Petri de 90 x 20 mm fueron adicionadas con 20 mL de PDA, obteniendo un total de 20 mL de aire por caja. Con un sacabocado se obtuvo un disco micelial de 5 mm de diámetro proveniente de un cultivo de siete días de *C. gloeosporioides* y de dos días de *R. stolonifer*. Se inocularon en el PDA y posteriormente, en la tapa de la caja Petri, se colocó un papel filtro estéril de 5 mm y con una micropipeta se le añadieron 10 μL de AE puro, para obtener una concentración final de 0.133 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de aire. Esta concentración se determinó con lo reportado en otros estudios (Lin *et al.*, 2022; Aguilar-González *et al.*, 2015; Perumal *et al.*, 2016). Como control absoluto se añadieron 10 μL de agua destilada. Las cajas Petri se sellaron inmediatamente con parafilm para evitar la pérdida de los vapores de los AE, se incubaron a 25°C en posición invertida durante ocho días (*C. gloeosporioides*) y durante dos días (*R. stolonifer*). Los ensayos se realizaron por triplicado y el crecimiento micelial radial se midió utilizando un vernier digital, se obtuvieron dos medidas del diámetro, los cuales se promediaron para obtener el diámetro promedio del micelio. La actividad antifúngica se expresó en términos del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial y se calculó con la siguiente fórmula:

$$I(\%) = \frac{D_c - D_t}{D_c} \times 100$$

Donde D_c : diámetro del control absoluto, y D_t : diámetro del tratamiento.

2.1.5. Inhibición de la germinación de esporas

Para evaluar la inhibición de la germinación de esporas de los AEs estudiados, se utilizó el método de difusión de vapor descrito anteriormente. Se utilizó la metodología propuesta por Boukhatem *et al.*, (2020) y se adicionaron 100 μL de la suspensión de esporas en una concentración de 1×10^6 esporas/mL, ajustada previamente con una cámara de contaje Neubauer. Se colocó un disco de papel filtro estéril de 5 mm en la tapa y con una micropipeta se le añadieron 10 μL de AE puro, para obtener una concentración final de 0.133 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de aire. Las cajas Petri se sellaron inmediatamente con parafilm, se incubaron a 25°C en posición invertida durante tres días. Los ensayos se realizaron por triplicado y el diámetro de la zona de inhibición se midió con un vernier digital al tercer día. Los halos de inhibición no siempre fueron completamente redondos, por lo cual se obtuvieron dos medidas del diámetro y se promediaron. Los resultados se expresaron como porcentaje del halo de inhibición, mediante la fórmula:

$$I(\%) = \frac{Dt}{80} \times 100$$

Donde Dt: diámetro del tratamiento obtenido, y 80: es el diámetro interno de la caja Petri.

Como control absoluto se utilizaron 10 μL de agua destilada. Para determinar el efecto fungicida o fungistático del AE, se obtuvo una muestra de la zona de inhibición y se resembró en cajas Petri con PDA sin ningún tratamiento, incubándose a 25°C por una semana.

2.1.6. Evaluación de la concentración mínima inhibitoria y concentración inhibitoria del 50%

Con los resultados obtenidos del tamizaje para las diez especies, se seleccionaron los tres AE más activos, utilizando como criterio un porcentaje de inhibición mayor al 30% (Abers *et al.*, 2021). Se evaluó la actividad antifúngica sobre el micelio y la germinación de esporas, a diferentes concentraciones del AE, para obtener la mínima concentración inhibitoria (MIC) y la concentración inhibitoria del 50% (IC_{50}). A partir de los resultados obtenidos en el tamizaje, se definió el intervalo de concentraciones, utilizando concentraciones mayores y/o menores a 0.133 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de aire, dependiendo de la actividad de cada AE. El ensayo se realizó por triplicado y se utilizó como control absoluto agua destilada estéril. No se utilizó ningún control positivo debido a la falta de productos comerciales para su uso en fase de vapor en productos poscosecha. Los fungicidas sintéticos tradicionales no tienen efecto en fase de vapor.

La MIC se define como la concentración de AE más baja en la cual no ocurre crecimiento, es decir que no hubo cambio alguno en el diámetro del disco micelial sembrado y donde no hubo germinación de esporas. Se utilizó la metodología propuesta por Gakuubi *et al.*, (2017). Para determinar si la MIC obtenida se debía a un efecto fungicida o fungistático, se sembraron aquellos tratamientos en los que se obtuvo la MIC. La resiembra se realizó en cajas Petri con PDA sin AE, por un tiempo de incubación de siete días. La reactivación del crecimiento del disco o la germinación de las esporas significaba que los vapores del AE tenían un efecto fungistático, es decir que detiene el crecimiento, mientras que la ausencia del crecimiento del disco y la ausencia de la germinación de las esporas indicaba un efecto fungicida, es decir que mata al hongo (Parikh *et al.*, 2021). Para aquellos AEs en los cuales no se logró obtener la MIC, se calculó la IC₅₀, es decir, la concentración que inhibe en un 50% el crecimiento micelial y la germinación de esporas.

2.1.7. Microscopía electrónica de barrido

Para las observaciones de las muestras del micelio de *R. stolonifer* y *C. gloeosporioides*, se seleccionaron los AEs activos y se realizaron ensayos utilizando la IC₅₀ y como control absoluto se utilizó agua destilada estéril. Los ensayos se realizaron utilizando la misma metodología descrita anteriormente (método de difusión por vapor). Una vez pasado el tiempo de incubación (siete días para *C. gloeosporioides* y dos días para *R. stolonifer*), se tomaron muestras tanto de las hifas tratadas con la IC₅₀ de los AEs y del control absoluto. Las muestras se tomaron con un asa de siembra y se colocaron en sobres de malla de nitrocelulosa para su posterior fijación.

Para la obtención de las muestras de esporas, se seleccionaron los AEs activos y se utilizó la IC₅₀. Con la finalidad de que la muestra estuviera más concentrada y se observara una mayor cantidad de esporas, el ensayo se realizó con una suspensión de esporas a 1x10⁹ esporas/mL. Los ensayos en fase de vapor se llevaron a cabo, y pasadas 48 h, se enjuagó con agua estéril, el halo de inhibición generado por los AEs. Con ayuda de una micropipeta se recuperó el enjuague y se centrifugó a 10,000 rpm. Posteriormente, se tomaron 30 µL del precipitado de los tubos eppendorf y se colocaron en los sobres de malla de nitrocelulosa. Para el control absoluto, se tomó la muestra directo del stock (suspensión a 1x10⁹ esporas/mL) y se centrifugó a 10,000 rpm. Para finalmente tomar 30 µL del precipitado y colocarlo en los sobres de malla de nitrocelulosa.

Los sobres de malla que contenían las muestras de micelio y de esporas se fijaron con glutaraldehído al 2.5%, se conservaron en total oscuridad, a temperatura ambiente por 48 h.

Pasado el tiempo de fijación, se retiró el glutaraldehído y se remojaron los sobres de malla con una solución de buffer salino por una hora. Las muestras se deshidrataron en un gradiente de etanol del 30%, 50% y 70%, permaneciendo en cada concentración durante dos horas, a temperatura ambiente. Se almacenaron por un máximo de cuatro semanas en alcohol al 70%. Posteriormente, para realizar el secado de punto crítico, se deshidrataron las muestras en un gradiente de 80%, 90% y 100% de etanol, dejando las muestras en cada solución por una hora. Las muestras se colocaron en una cinta negra de doble cara y se montaron en tubos de aluminio (stubs). Fueron recubiertas con una capa de oro y se observaron en un MEB modelo (Jeol, JSM-6360 LV), con condiciones alto vacío, un voltaje de aceleración de 15 kV, con un aumento de 10000x, 6500x, 3000x y 2000x (Yan *et al.*, 2021).

2.1.8. Análisis estadísticos

Para evaluar los efectos de los AEs sobre el porcentaje de inhibición micelial y el porcentaje de inhibición de la germinación de esporas de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer* se realizaron análisis de la varianza (ANOVAs) de uno y dos factores según el ensayo experimental. Para estos estadísticos, se probó que se cumplieran los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, mediante las pruebas de Shapiro Wilks y la prueba de Levene, respectivamente. La diferencia entre las medias de los porcentajes de inhibición de los diferentes tratamientos se determinó con la prueba pots-hoc de Tukey con un 5% de significancia. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando los softwares InfoStat y Graphpad Prism v.8.

Para analizar la composición química de los AEs, se realizaron gráficas de sectores con el software Graphpad Prism para representar la proporción de compuestos identificados en las diferentes clases de terpenos. Además, se realizó un análisis de conjuntos de UpSet, mediante R (software v.4.3.2.), con la finalidad identificar los compuestos que más se comparten y los compuestos únicos de cada AE. Posteriormente, para evaluar las similitudes en la composición química de los diez AEs, se utilizó el software MetaboAnalyst 6.0, a partir de una matriz de datos con los AEs en las filas y los metabolitos que presentaron un área del cromatograma $\geq 5\%$ en las columnas. Se hizo un dendograma utilizando el método de ward y la distancia euclidiana como métricas. Para enriquecer la comparación de la composición química, se llevó a cabo un análisis de componentes principales (PCA), con la finalidad de reducir la dimensionalidad del gran número de variables y mantener la máxima variación posible. Se utilizaron los primeros tres componentes principales y se obtuvieron sus respectivos gráficos para poder interpretar la contribución de los compuestos en la ordenación de los AEs.

Con la finalidad de relacionar la composición química de los AEs con la actividad antifúngica e identificar qué metabolitos se asocian con la actividad, se hizo un análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales ortogonales (OPLS-DA, por sus siglas en inglés), mediante el software MetaboAnalyst v.6.0. Este análisis se realizó empleando dos matrices compuestas por los metabolitos que presentaron un área del cromatograma $\geq 5\%$ y la actividad antifúngica categórica sobre el micelio y las esporas, respectivamente. La actividad se categorizó como activo y no activo, con base a los resultados obtenidos en el tamizaje. Se consideraron como activos únicamente a aquellos AEs que presentaron una inhibición $\geq 30\%$ (Abers *et al.*, 2021). Para demostrar la robustez y validez estadística del modelo, se utilizó la capacidad explicativa del modelo (R^2) y la capacidad predictiva (Q^2) (Pineda-Alegría *et al.*, 2024). Posteriormente, se identificaron los metabolitos con mayor contribución a la separación de los grupos, para ello, se calcularon los valores de importancia de cada uno de los metabolitos (VIP) y se realizó un gráfico S-plot. Finalmente, se identificaron los metabolitos asociados a la discriminación de los grupos, y, por ende, a la actividad antifúngica. Se consideraron los metabolitos con mayor valor de carga predictiva y un VIP con valor >1 (Pineda-Alegría *et al.*, 2024).

CAPÍTULO III

3.1. RESULTADOS

3.1.1. Composición química de los aceites esenciales estudiados

En los diez AEs estudiados se identificaron un total de 35 compuestos con un área del cromatograma $\geq 1\%$, de los cuales 15 compuestos estuvieron presentes en cuatro o más AEs (Tabla 3.1). Únicamente tres metabolitos no pudieron ser identificados. Los AEs de *L. origanoides*, *B. simaruba* y *P. auritum* presentaron un compuesto mayoritario en su perfil químico, con un porcentaje de área $>50\%$, identificado como carvacrol, α -pineno y safrol, respectivamente.

Tabla 3.1. Composición química de los diez AEs estudiados.

Compuestos	LO	BS	PA	HS	LH	LM	CY	TD	LC	OC
α -pineno	-	65.2	-	-	4.4	1.0	-	2.5	-	2.0
sabineno	-	-	-	3.9	-	-	-	-	6.2	-
β -pineno	-	11.8	1.2	1.1	-	-	-	1.9	-	3.5
p-cimeno	17.9	-	1.2	2.8	4.7	1.4	-	-	-	-
limoneno	-	4.4	-	2.1	-	-	-	-	-	4.0
eucaliptol	1.4	-	-	1.1	-	-	-	3.0	-	22.7
γ -terpineno	1.6	-	2.4	-	-	-	-	-	-	-
terpinoleno	-	-	2.0	1.6	-	-	-	-	-	-
canfor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4.6
timol, metil-eter	2.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
timol	4.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
safrol	-	-	55.7	-	-	-	-	-	-	-
carvacrol	60.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -copaeno	-	-	2.6	6.7	3.4	6.1	2.6	5.0	-	1.4
β -bourboneno	-	-	-	3.1	1.6	4.6	10.0	4.3	-	-
β -elemeno	-	-	-	1.8	16.1	2.3	-	-	-	8.6
β -cariofileno	2.1	-	5.9	16.2	19.8	1.0	13.1	9.4	25.9	17.2
α -bergamoteno	-	-	-	7.5	-	1.9	-	-	-	-
guaiadieno<6,9->	-	-	-	-	-	-	-	2.0	-	-
α -humuleno	1.2	-	-	2.2	1.2	-	2.0	11.4	3.8	4.1
aromadendreno- allo	-	-	-	-	1.8	-	1.1	3.7	1.7	1.0
γ -muuroleno	-	-	-	-	2.0	1.7	1.4	4.7	1.3	-
germacreno D	-	-	5.8	5.1	3.3	-	1.2	1.8	-	8.0
β -selineno	-	-	-	1.0	3.5	-	-	-	-	-
biciclogermacreno	-	-	3.4	-	-	-	-	-	-	-
elixeno	-	-	-	4.0	-	-	-	-	-	6.6
β -bisaboleno	-	-	-	-	-	-	2.2	-	-	4.0
α -bisabolol	-	-	-	-	-	-	16.3	-	-	-
calameneno	-	-	-	-	-	-	-	4.2	-	-
espatulenol	-	-	2.8	11.1	2.1	-	4.3	6.0	-	1.7

óxido de cariofileno	1.7	-	1.7	4.4	13.0	41.9	14.5	8.5	37.8	1.5
epóxido II de humuleno	-	-	-	-	-	2.8	1.3	7.6	2.5	-
z- α -bergamotol	-	-	-	5.5	-	-	-	-	-	-
10,10-Dimetil-2,6-dimetilenobiciclo [7.2.0]undecano-5.beta.-ol	-	-	-	-	2.0	-	-	-	-	-
NIBS1	-	3.2	-	-	-	-	-	-	-	-
NILM2	-	-	-	-	-	2.3	-	-	-	-
NILM4	-	-	-	-	-	3.8	-	-	-	-

Únicamente se muestran compuestos con un área del cromatograma $\geq 1\%$. En amarillo se resaltan los compuestos presentes en ≥ 4 AEs. LO= *L. origanoides*, BS= *B. simaruba*, PA= *P. auritum*, HS= *H. suaveolens*, LH= *L. hirta*, LM= *L. myriocephala*, CY= *C. yucatanensis*, TD= *T. diffusa*, LC= *L. canescens* y OC= *O. campechianum*. NIBS: Compuesto no identificado en *B. simaruba*, NILM: Compuesto no identificado en *L. myriocephala*. En gris se resaltan los metabolitos que estuvieron presentes en ≥ 4 AEs. En negritas se muestra el compuesto con mayor porcentaje de área para cada AE.

Los gráficos circulares mostraron que el AE de *B. simaruba* estuvo dominado por monoterpenos, los cuales representaron el 83.7% del área cromatográfica total. En *L. origanoides* y *P. auritum* predominaron los monoterpenos oxigenados, con áreas superior al 50%. En los AEs de *T. diffusa*, *L. hirta*, *O. campechianum* e *H. suaveolens*, la clase predominante correspondió a los sesquiterpenos, con proporciones superiores al 45%. Por su parte, en los AEs de *C. yucatanensis* (39.9%), *L. myriocephala* (46.0%) y *L. canescens* (40.3%) predominó el grupo de los sesquiterpenos oxigenados, con áreas cromatográficas mayores al 40% (Figura 3.1).

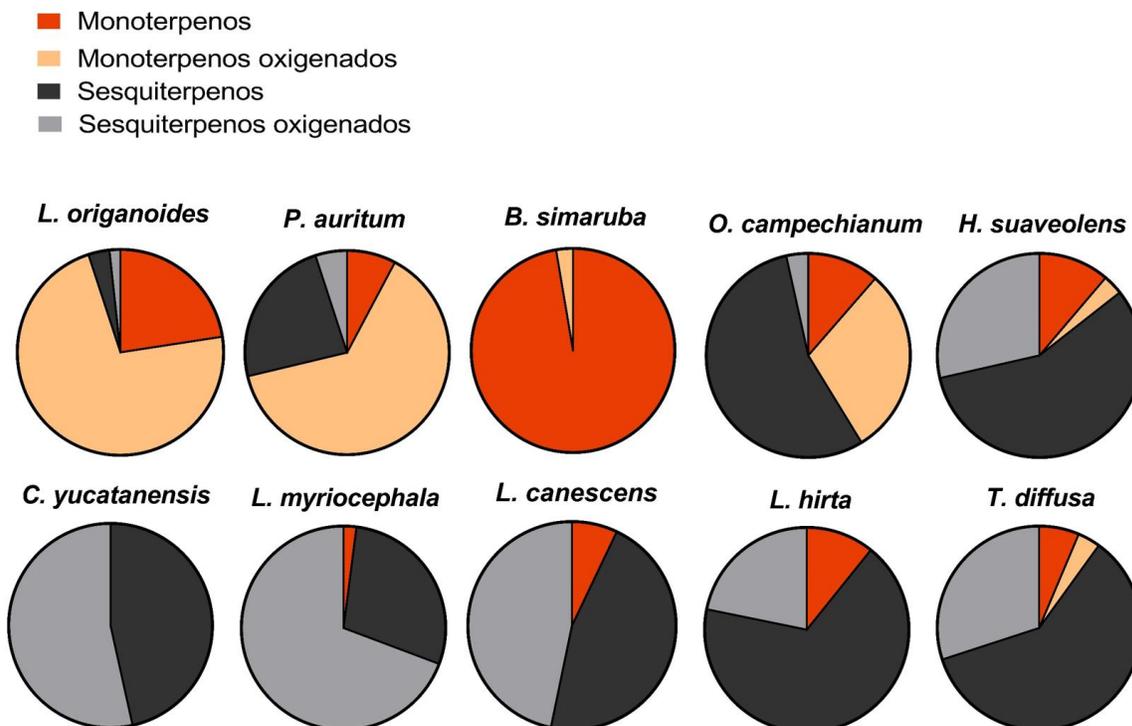


Figura 3.1. Gráficos circulares de la proporción de clases de terpenos en los AEs.

Un total de 23 metabolitos estuvieron presentes en al menos dos AEs (Figura 3.2). Los metabolitos compartidos por la gran mayoría de los AEs fueron el β -cariofileno y el óxido de cariofileno, ambos detectados en nueve de los diez AEs analizados. Asimismo, el α -copaeno y α -humuleno se encontraron en siete AEs. Los compuestos únicos de cada AE fueron el carvacrol, timol metil-eter y timol en *L. origanoides*; el safrol y biciclogermacreno en *P. auritum*; el α -bisabolol en *C. yucatanensis*; el 10,10-Dimetil-2,6-dimetilenobiciclo en *L. canescens*; el canfor en *O. campechianum*; el guaiadieno<6,9-> y calameneno en *T. diffusa* y el z- α -bergamotol en *H. suaveolens*.

Los AEs inactivos se caracterizaron por la ausencia de un compuesto claramente mayoritario, en su composición química. El único compuesto con concentraciones cercanas al 40% fue el óxido de cariofileno, presente en todos los AEs, con excepción de *B. simaruba*. Siendo este, el compuesto mayoritario de *L. canescens* (37.8%) y *L. myriocephala* (41.9%). Se encontró en concentraciones más bajas de 12.9 a 8.5% en *C. yucatanensis*, *L. hirta* y *T. diffusa*, y en concentraciones menores al 5% en *H. suaveolens*, *O. campechianum*, *P. auritum* y *L. organoides*.

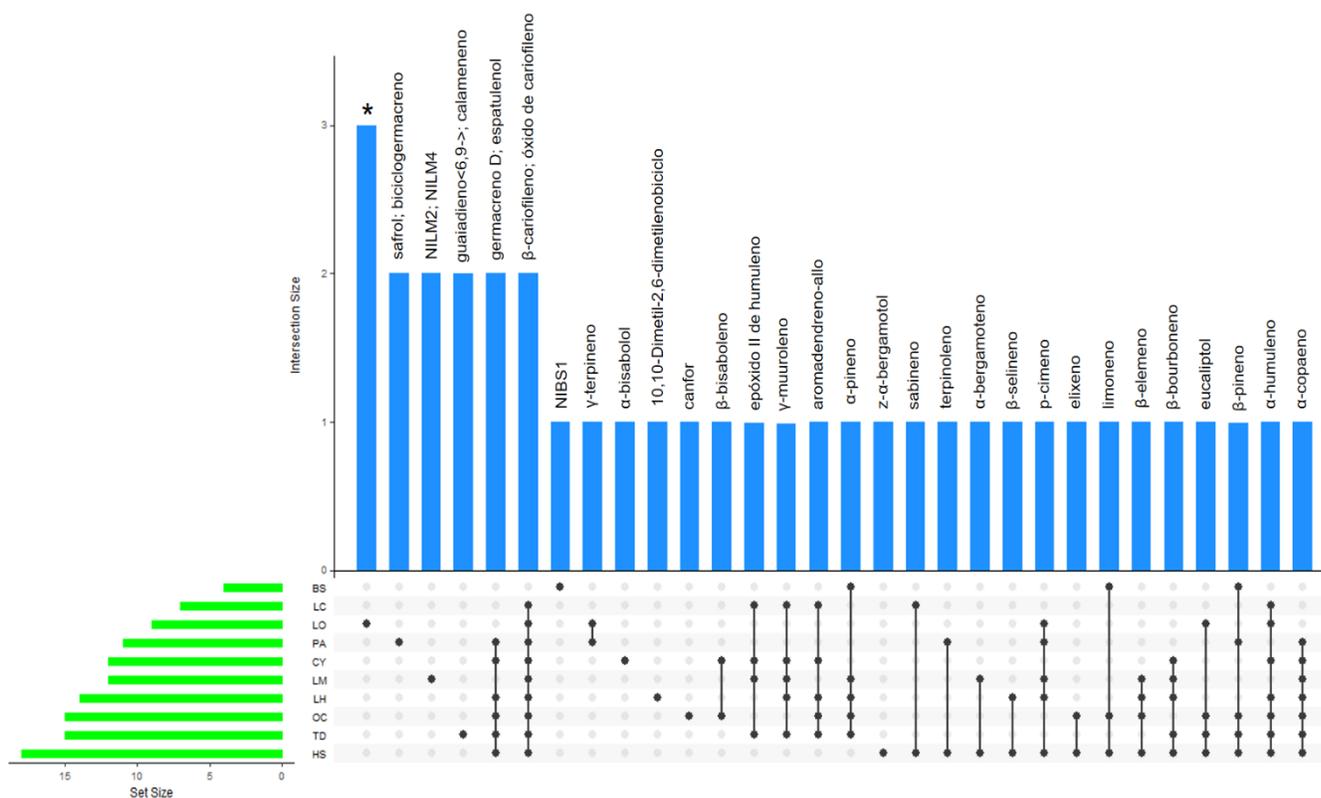


Figura 3.2. Análisis UpSet de la composición química de los AEs. Número de metabolitos compartidos o únicos presentes en los AEs estudiados (barras azules). Las líneas verticales negras, puntualizan los AEs que comparten metabolitos. Set Size: total de metabolitos presentes por AE con $\geq 1\%$ del área (barras verdes). BS= *B. simaruba*, LC= *L. canescens*, LO= *L. organoides*, PA= *P. auritum*, CY= *C. yucatanensis*, LM= *L. myriocephala*, LH= *L. hirta*, OC= *O. campechianum*, TD= *T. diffusa* y HS= *H. suaveolens*. (*) Timol-metil-eter, carvacrol y timol. NILM: Compuesto no identificado de *L. myriocephala*, NIBS: Compuesto no identificado de *B. simaruba*.

El análisis de agrupamiento evidenció la formación de dos grupos en los AEs estudiados (Figura 3.3). El primer grupo estuvo compuesto por los AEs que presentaron compuestos mayoritarios, con un área del cromatograma $>50\%$, y que en su composición química dominaban los monoterpenos y monoterpenos oxigenados, estos AEs fueron *P. auritum*, *L. organoides* y *B. simaruba*. El resto de los AEs conformaron el segundo grupo, en los que predominaron los

sesquiterpenos y sesquiterpenos oxigenados, además de un alto contenido de óxido de cariofileno.

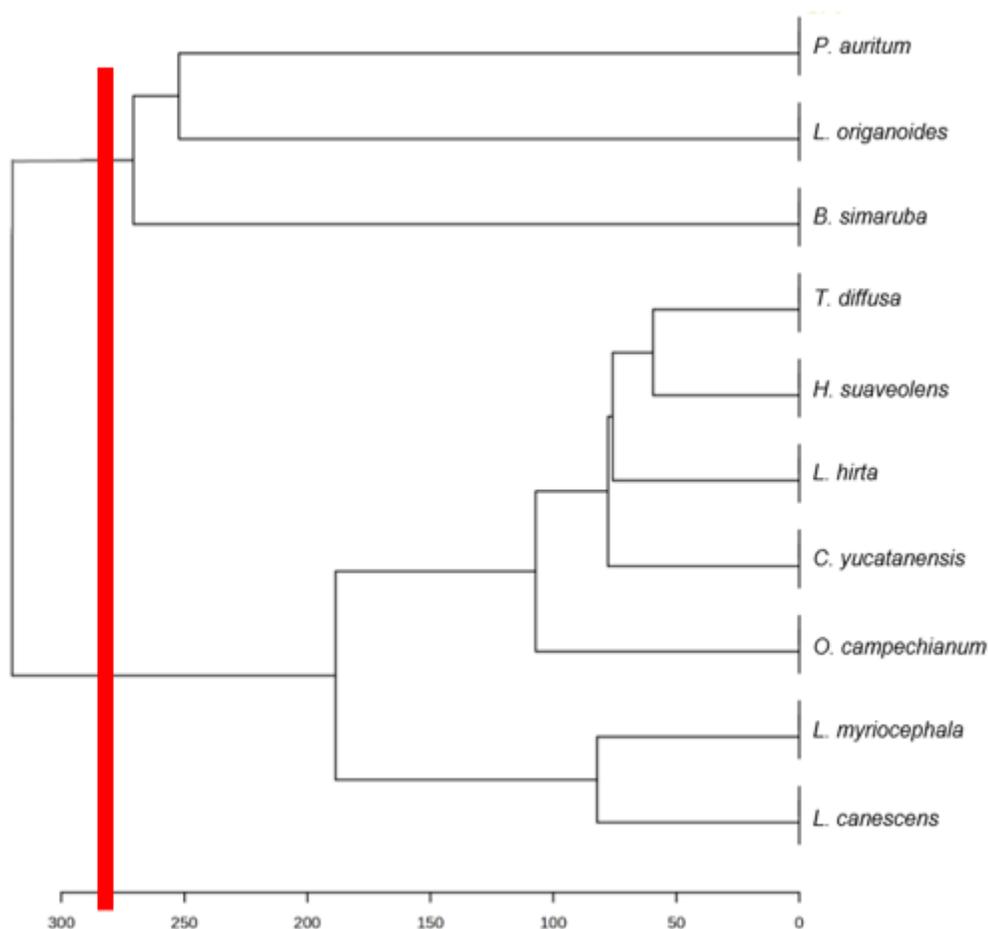


Figura 3.3. Dendrograma de los diez AEs provenientes de diferentes especies vegetales, con base en su composición química.

El Análisis de Componentes Principales (PCA) mostró que los primeros tres componentes principales (PC1, PC2 y PC3), explican un 78.9% de la varianza total (el 29.6%, 26.8% y 22.5%, respectivamente). El PC1 permitió la separación de *B. simaruba* del resto de los AEs, con una alta carga del metabolito α -pineno. Por otra parte, el PC2 separó a *L. origanoides* del resto de los AEs, con una alta carga del metabolito carvacrol (Figuras 3.4a, 3.4c). Por último, el PC3 separó a *P. auritum*, del resto de los AEs, con una alta carga de safrol (Figuras 3.4b, 3.4d). La distancia que hay entre los grupos, responde a la gran diferencia en la composición química de los AEs,

que está explicado por el gran porcentaje de área que ocupan los compuestos mayoritarios en los tres AEs, ya que dichos metabolitos son distintos para cada AE. Estos resultados concuerdan con el dendograma, ya que *B. simaruba*, *L. origanoides* y *P. auritum*, forman un grupo diferente al grupo del resto de los AEs.

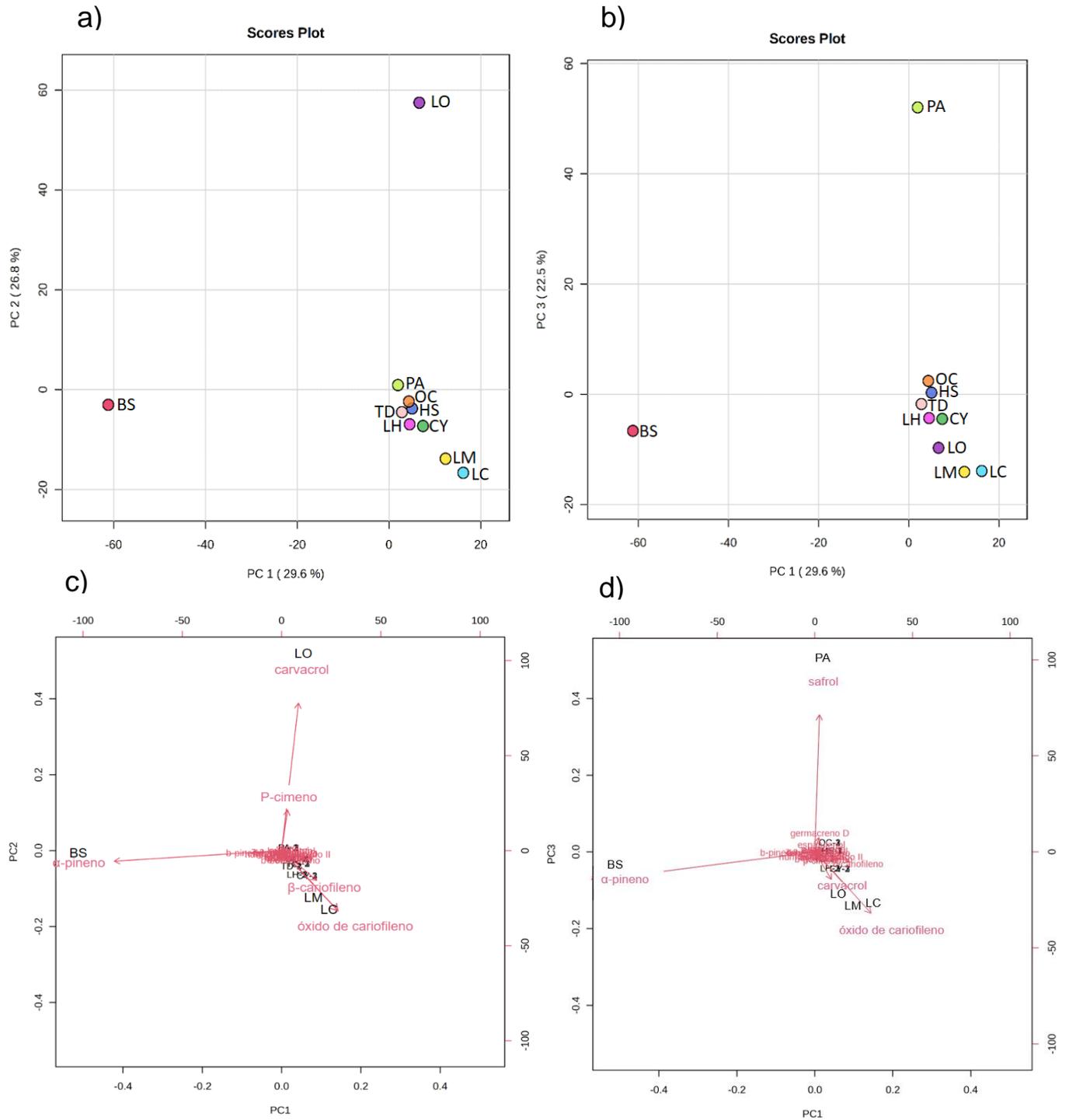


Figura 3.4. Análisis de Componentes Principales (PCA) de la composición química de los 10 AEs para los componentes PC1 y PC2 (a), PC1 y PC3 (b), con sus respectivos biplots (c, d). Los tres componentes principales explican el 78.9% de la varianza. LO= *L. origanoides*, BS= *B. simaruba*, PA= *P. auritum*, CY= *C. yucatanensis*, HS= *H. suaveolens*, LC= *L. canescens*, LH= *L. hirta*, LM= *L. myriocephala*, OC= *O. campechianum* y TD= *T. diffusa*.

3.1.2. Efecto antifúngico de los aceites esenciales sobre la inhibición del crecimiento micelial

El ANOVA de la actividad antifúngica de los AEs sobre el crecimiento micelial (Figura 3.5), mostró que la interacción entre el AE y la especie de hongo fue estadísticamente significativa ($F_{(19, 59)} = 6.4$, $p = < 0.0001$), lo que indica que el efecto de los AEs evaluados depende de la especie fúngica analizada. El AE de *L. origanoides* presentó la mayor actividad antifúngica, con un porcentaje de inhibición de 100% a la concentración estudiada (0.133 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de aire), seguido de *P. auritum* y *B. simaruba*, con un porcentaje de inhibición del crecimiento de al menos 30%. El resto de los AEs presentaron un porcentaje de inhibición menor al 20% por lo que se consideraron como no activos. Los tres AEs más activos, no presentaron diferencias significativas entre ambas especies de hongos. El único AE con diferencias significativas fue *O. campechianum*, que inhibió en un 20% el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides*, pero no mostró efecto inhibitorio sobre *R. stolonifer*.

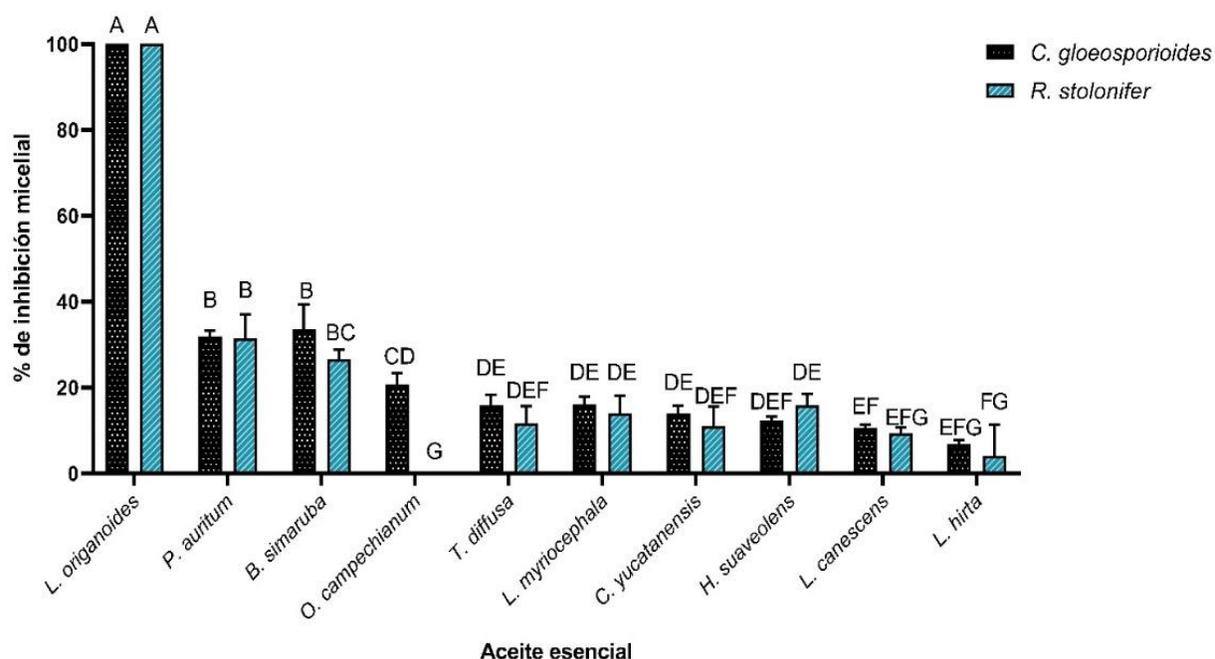


Figura 3.5. Efecto de los AEs en fase de vapor sobre la inhibición micelial de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*, a una concentración de 0.133 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de aire. Se presentan los valores promedio \pm la desviación estándar para tres réplicas. Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos (Tukey, $P < 0.05$).

3.1.3. Concentración mínima inhibitoria e IC₅₀ de los aceites esenciales activos sobre la inhibición del crecimiento micelial

El efecto antifúngico de los AEs sobre la inhibición del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*, mostró una respuesta dosis-dependiente (Fig. 3.6); es decir, a mayor concentración de AE, mayor fue el porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio. El AE de *L. origanoides* presentó valores MIC de 0.010 y de 0.006 $\mu\text{L/mL}$ de aire contra *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*, respectivamente. Además, los valores de MIC de *L. origanoides* mostraron un efecto fungicida sobre ambos fitopatógenos. En el caso de *B. simaruba* y *P. auritum*, solo fue posible estimar los valores de IC₅₀, el cual también fue calculado para el AE de *L. origanoides* con fines comparativos.

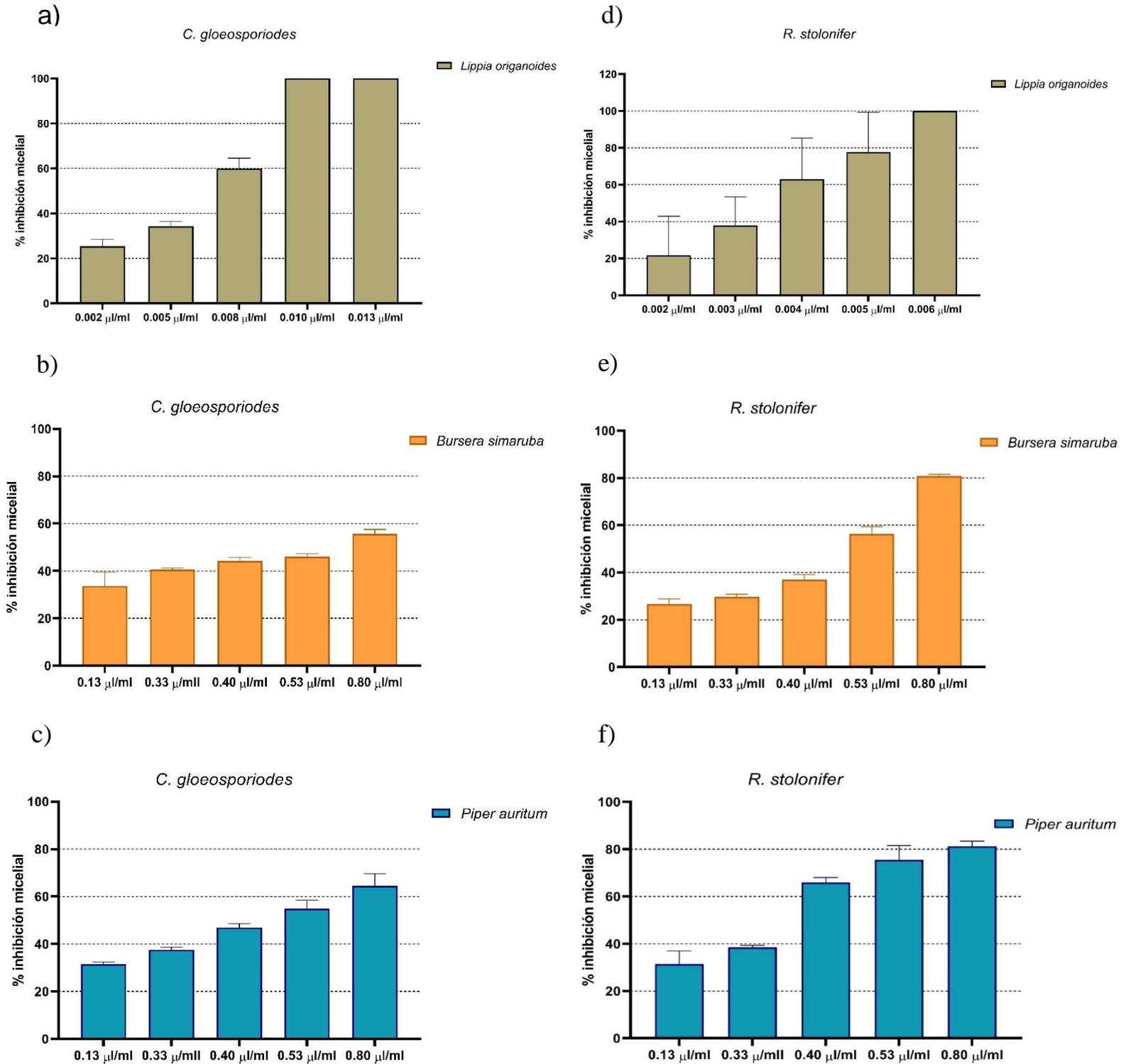


Figura 3.6. Actividad antifúngica de AE en fase de vapor sobre el porcentaje de inhibición micelial de *C. gloeosporioides* (a-c) y *R. stolonifer* (d-f). Se presentan los valores promedio \pm la desviación estándar para tres réplicas.

Los resultados del ANOVA de dos vías indicaron que la interacción AE-especie de hongo fue estadísticamente significativa ($F_{(5, 12)} = 73.21$ y $p = < 0.001$). *L. origanoides* fue el AE con mayor actividad antifúngica, al presentar valores de IC_{50} significativamente menores en comparación con *P. auritum* y *B. simaruba*. Únicamente la IC_{50} de *P. auritum* sobre *C. gloeosporioides* y la IC_{50} de *B. simaruba* contra *R. stolonifer*, no presentaron diferencias significativas. Los tres AEs presentaron mayor actividad antifúngica en la inhibición micelial de *R. stolonifer*, en comparación con *C. gloeosporioides* (Tabla 3.2).

Tabla 3.2. Valores de IC_{50} obtenidos en la inhibición del crecimiento micelial

ACEITE ESENCIAL	<i>R. stolonifer</i> IC_{50} (μ L/mL de aire)	<i>C. gloeosporioides</i> IC_{50} (μ L/mL de aire)
<i>L. origanoides</i>	0.0032 \pm 0.009 ^d	0.0059 \pm 0.001 ^d
<i>B. simaruba</i>	0.453 \pm 0.063 ^b	0.640 \pm 0.05 ^a
<i>P. auritum</i>	0.286 \pm 0.024 ^c	0.443 \pm 0.096 ^b

Se presentan los valores promedios \pm la desviación estándar para tres replicas. Las letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores de IC_{50} (Tukey, $P < 0.05$).

3.1.4. Efecto antifúngico de los aceites esenciales sobre la inhibición de la germinación de esporas

Para la evaluación de los AEs sobre la inhibición de la germinación de esporas de *C. gloeosporioides* y de *R. stolonifer*, el ANOVA de dos vías mostró que la interacción AE – especie de hongo fue estadísticamente significativa ($F_{(19, 59)} = 226.35$ y $P = < 0.0001$). Los AEs que presentaron actividad antifúngica contra *C. gloeosporioides* fueron *L. origanoides*, con 79.27% de inhibición de la germinación de esporas, y *B. simaruba*, con 34.5%. *L. origanoides* fue claramente el AE que presentó mayor actividad antifúngica contra esporas de *C. gloeosporioides*. Para el caso de *R. stolonifer*, únicamente *L. origanoides* mostró efectividad con un porcentaje de inhibición del 50.7%. El resto de los AEs no fueron activos. Al igual que en la inhibición del crecimiento del micelio, *L. origanoides* fue el AE con mayor actividad antifúngica sobre esporas. De manera significativa, las esporas de *C. gloeosporioides* fueron las más sensibles al AE de *L. origanoides* en comparación con *R. stolonifer*.

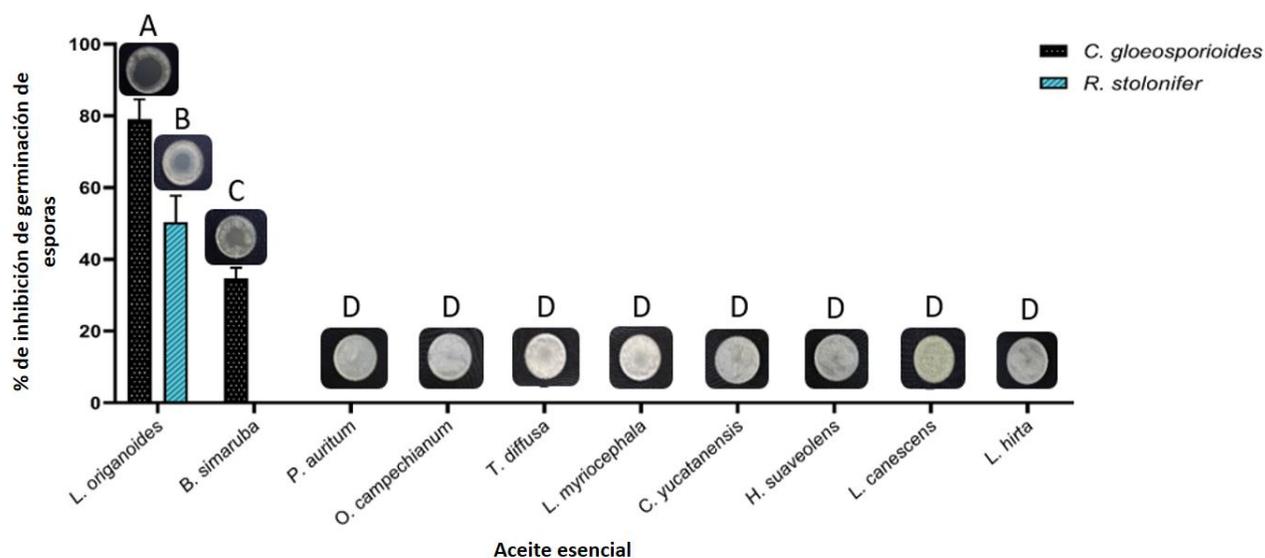


Figura 3.7. Efecto de los AEs en fase de vapor sobre el porcentaje de inhibición de la germinación de esporas de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer* a una concentración de 0.133 $\mu\text{L}/\text{ml}$, después de dos días de incubación a $25^\circ\text{C} \pm 2$. Se presentan los valores promedio \pm la desviación estándar para tres réplicas. Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos (prueba a posterior de Tukey, $P < 0.05$).

3.1.5. Concentración mínima inhibitoria e IC_{50} de los aceites esenciales activos sobre la inhibición de la germinación de esporas

El efecto antifúngico de los AEs sobre la germinación de esporas de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer* presentó una respuesta dosis dependiente. A mayor concentración, mayor tamaño del halo de inhibición, lo cual denotó un mayor porcentaje de inhibición en la germinación de esporas. *L. origanoides* y *B. simaruba*, inhibieron la germinación de esporas de *C. gloeosporioides*. El AE de *L. origanoides* presentó valores de inhibición del 100%, con una MIC de 0.4 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de aire, la cual mostró un efecto fungicida sobre *C. gloeosporioides*. Adicionalmente y para facilitar la comparación con el efecto del AE de las otras dos especies, se calculó la IC_{50} , la cual tuvo un valor de 0.073 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de aire (Figura 3.8a, Tabla 3.13). En el caso de *B. simaruba* el porcentaje más alto obtenido de inhibición en la germinación de esporas fue del 66%, por lo que sólo se calculó la IC_{50} , obteniendo un valor de 0.37 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de aire (Tabla 3.13). La actividad antifúngica

de *L. organoides* fue mejor en todas las concentraciones probadas en comparación con *B. simaruba* (Figura 3.8a).

L. organoides fue el AE con mayor actividad antifúngica contra la inhibición de la germinación en esporas de *C. gloeosporioides*. El valor de IC_{50} de *L. organoides* sobre las esporas de *C. gloeosporioides* ($0.073 \mu\text{L}/\text{mL}$ de aire) fue estadísticamente menor que el obtenido para el AE de *B. simaruba* ($0.37 \mu\text{L}/\text{mL}$ de aire), ($t = 3.68$, $p = 0.02$) (Tabla 3.3). Por otra parte, el AE de *L. organoides* fue el único que inhibió la germinación de esporas de *R. stolonifer*. Las esporas de *C. gloeosporioides* resultaron más sensibles a los compuestos volátiles presentes en el AE de *L. organoides*, el valor estimado de la IC_{50} sobre las esporas de *R. stolonifer* ($0.13 \mu\text{L}/\text{mL}$ de aire) fue estadísticamente mayor al de *C. gloeosporioides* ($0.073 \mu\text{L}/\text{mL}$ de aire; $t = -3.12$, $p = 0.035$; Tabla 3.3).

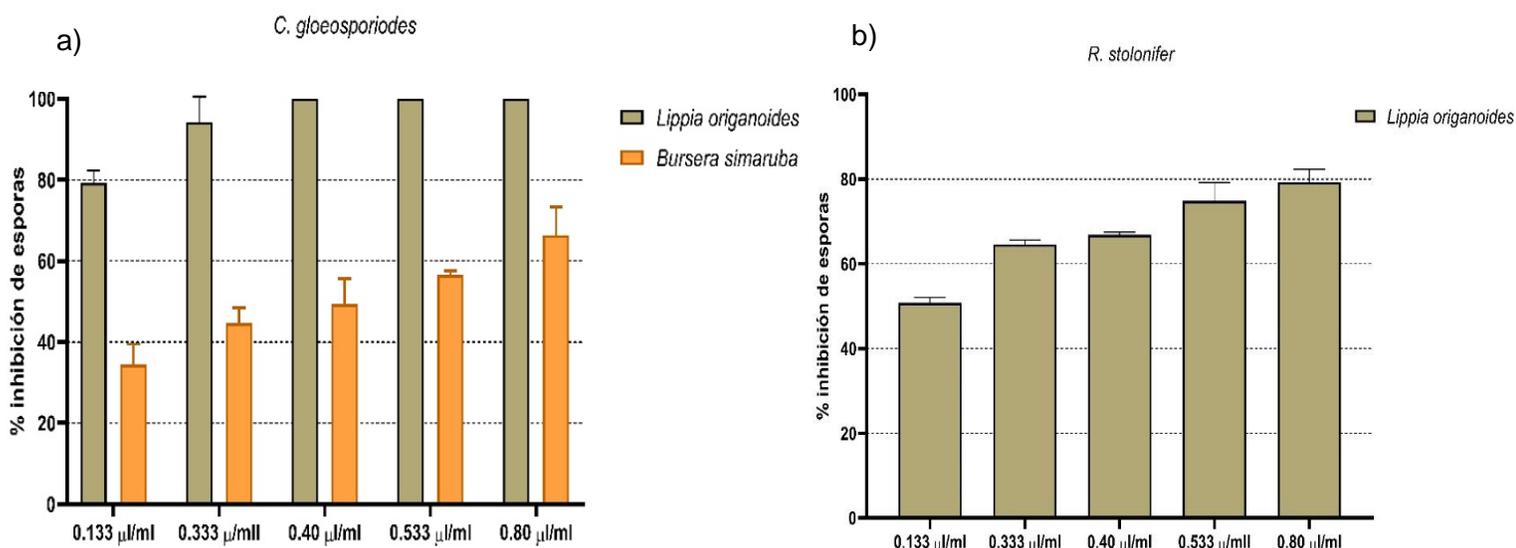


Figura 3.8. Actividad antifúngica de AEs en fase de vapor sobre el porcentaje de inhibición de esporas de *C. gloeosporioides* (a) y *R. stolonifer* (b). Se presentan los valores promedio \pm la desviación estándar para tres réplicas.

Tabla 3.3 Valores de IC₅₀ obtenidos en la inhibición de la germinación esporas.

Aceite esencial	<i>R. stolonifer</i> IC ₅₀ (μL/mL de aire)	<i>C. gloeosporioides</i> IC ₅₀ (μL/mL de aire)
<i>L. origanoides</i>	^A 0.13 ± 0.01	^B 0.073 ± 0.03 ^a
<i>B. simaruba</i>	ND	0.37 ± 0.14 ^b

Se presentan los valores promedios ± la desviación estándar para tres replicas. ND: No determinado. Las letras mayúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de t entre los valores de IC₅₀ del AE de *L. origanoides* en los dos hongos; las letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas de la prueba de t entre los valores de IC₅₀ de los AEs contra la inhibición de la germinación de esporas de *C. gloeosporioides*.

3.1.6. Análisis ultraestructural mediante microscopía electrónica de barrido

Las imágenes del microscopio electrónico de barrido (MEB), muestran los cambios morfológicos de las esporas y las hifas de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*, al aplicar los diferentes tratamientos de los AEs que resultaron activos. En el caso del micelio, las fotografías de las muestras control, tanto de *C. gloeosporioides* como de *R. stolonifer*, mostraron hifas turgentes, de grosor uniforme y con una superficie lisa (Figuras 3.9a, 3.9e). En contraste, la morfología de las hifas cambió en presencia de la IC₅₀ de los AEs de *L. origanoides* (Figuras 3.9b, 3.9f), *B. simaruba* (Figuras 3.9c, 3.9g), y *P. auritum* (Figuras 3.9d, 3.9h). La exposición a los AEs provocó la contracción y el colapso de las hifas.

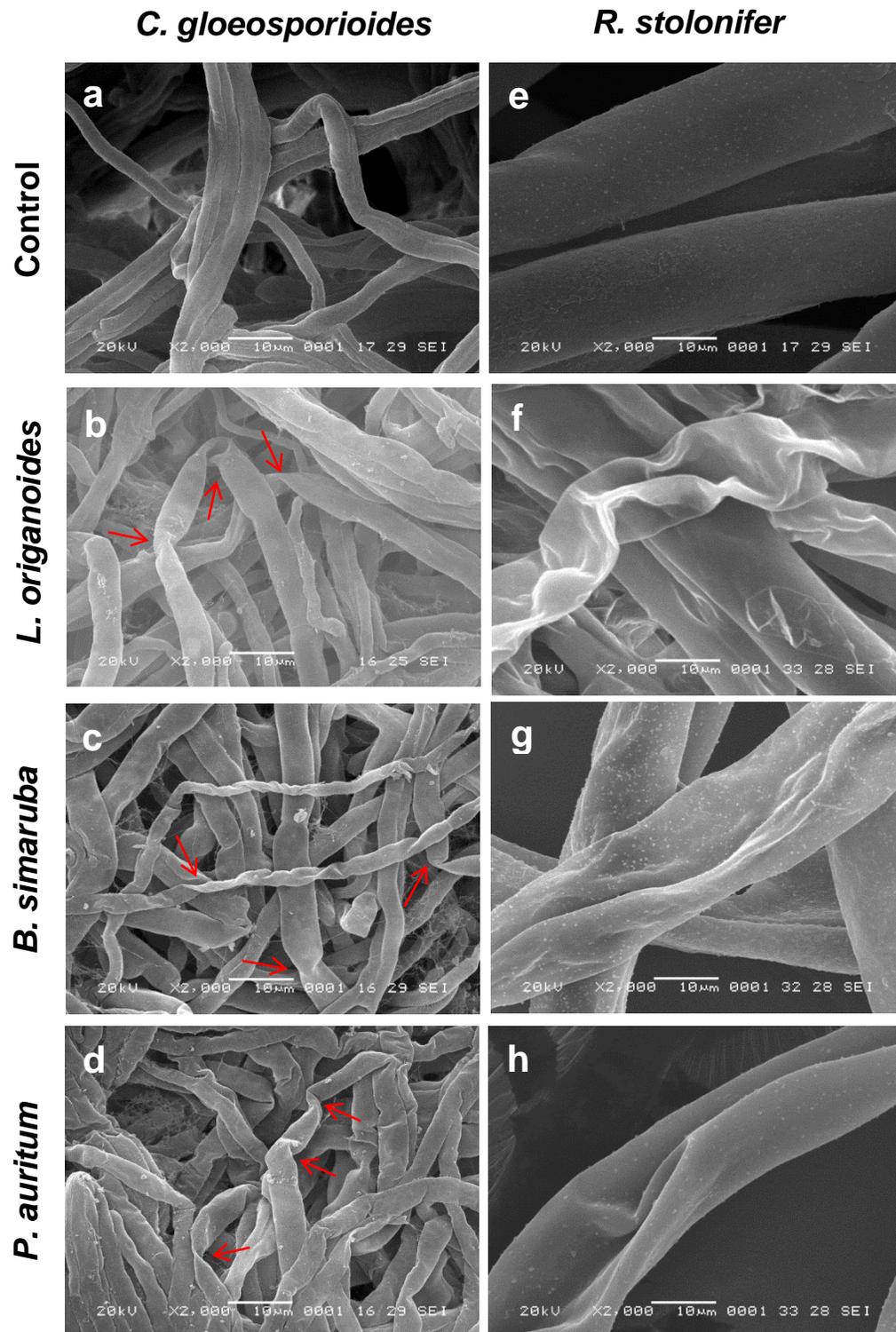


Figura 3.9. Observación por MEB de la morfología del micelio de *C. gloeosporioides* (a, b, c, d) y *R. stolonifer* (e, f, g, h), expuestas al AE de *L. origanoides* (b, f), *B. simaruba* (c, g), *P. auritum* (d, h), control (a, e). Las muestras fueron tratadas con la IC₅₀ en fase de vapor de los AEs. Con flechas rojas se señalan las hifas colapsadas. Fotografías con un aumento de x2000.

En cuanto a las esporas, en las muestras control de *C. gloeosporioides* (Figuras 3.10a, 3.10b), las esporas se muestran relativamente lisas y turgentes. Efecto contrario se observó con las esporas tratadas con la IC₅₀ tanto *L. origanoides* (0.073 µL/mL de aire) (Figuras 3.10c, 3.10d), como de *B. simaruba* (0.37 µL/mL de aire) (Figuras 3.10e, 3.10f). En ambos casos, las esporas se mostraron colapsadas y perdieron su turgencia.

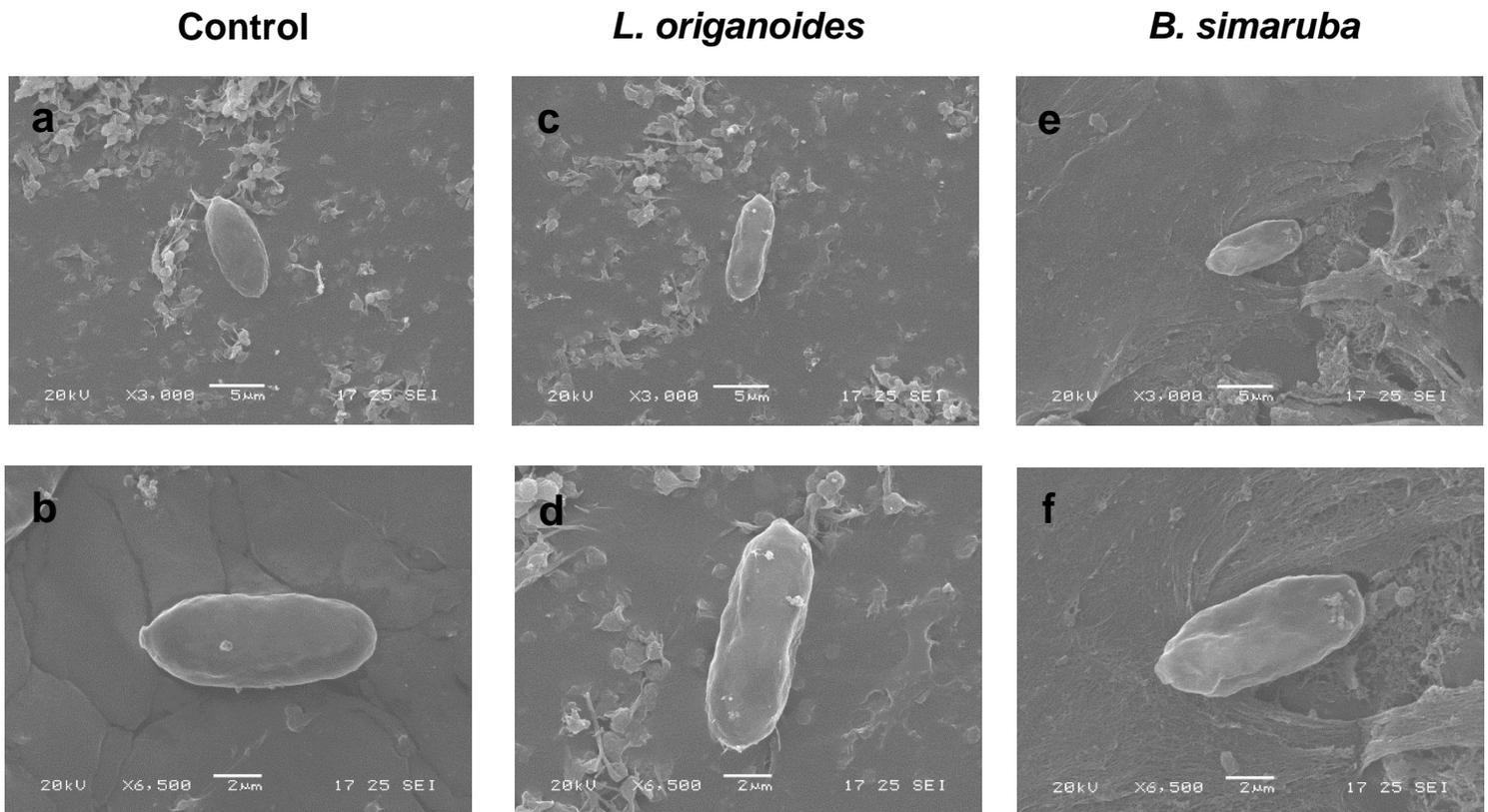


Figura 3.10. Observación por MEB de la morfología de las esporas de *C. gloeosporioides*, expuestas al AE de *L. origanoides* (c, d), *B. simaruba* (e, f), control (a, b). Tratadas con la IC₅₀ en fase de vapor. Imágenes en la parte superior con un aumento de x3000 y en la parte de inferior de x6500.

Por último, en las muestras control de las esporas de *R. stolonifer*, se pudo observar una morfología normal, presentando su ornamentación característica, con crestas continuas a lo largo de la superficie (Figuras 3.11a, 3.11b, 3.11c). Sin embargo, el tratamiento con el AE de *L. origanoides* a la IC₅₀ (0.13 µL/mL de aire) resultó en la deformación y colapso de las esporas (Figuras 3.11d–3.11f).

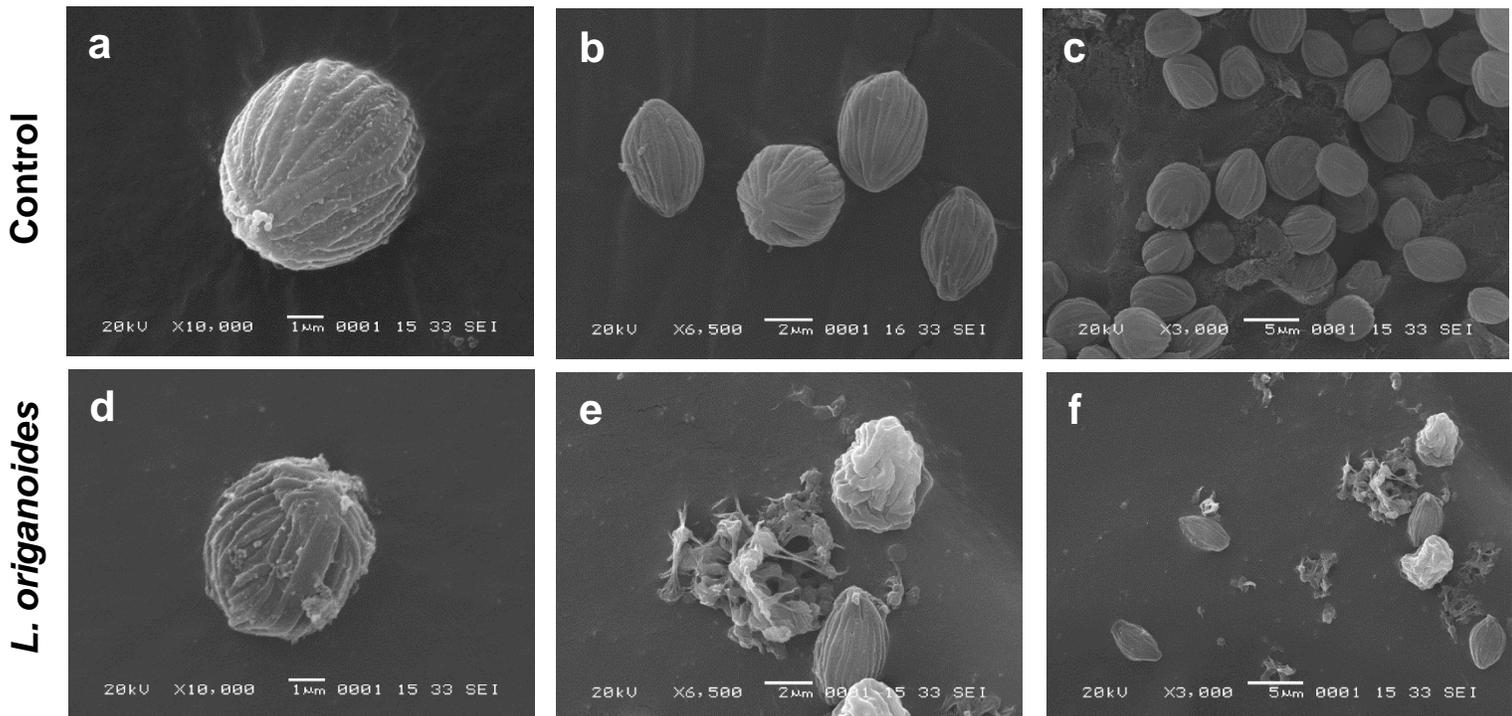


Figura 3.11. Observación por MEB de la morfología de las esporas de *R. stolonifer*, expuestas al AE de *L. origanoides* (d, e, f), control (a, b, c). Tratadas con la IC₅₀ en fase de vapor. Fotografías con un aumento de x10000 (a, d), x6500 (b, e), x3000 (c, f).

3.1.7. Análisis de la relación entre la composición química y actividad antifúngica

El modelo OPLS-DA de la actividad antifúngica contra el micelio de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer* mostró una clara separación entre los AEs activos (*L. origanoides*, *B. simaruba* y *P. auritum*) y los inactivos (Figura 3.12a). Se obtuvo un valor de R^2 de 0.91 y para Q^2 de 0.88. Los metabolitos asociados con la actividad antifúngica del micelio fueron carvacrol, p-cimeno, mayoritarios en el AE de *L. origanoides*, α -pineno y β -pineno, mayoritarios en el AE de *Bursera simaruba* y safrol, metabolito mayoritario en el AE de *Piper auritum* (Figura 3.12b).

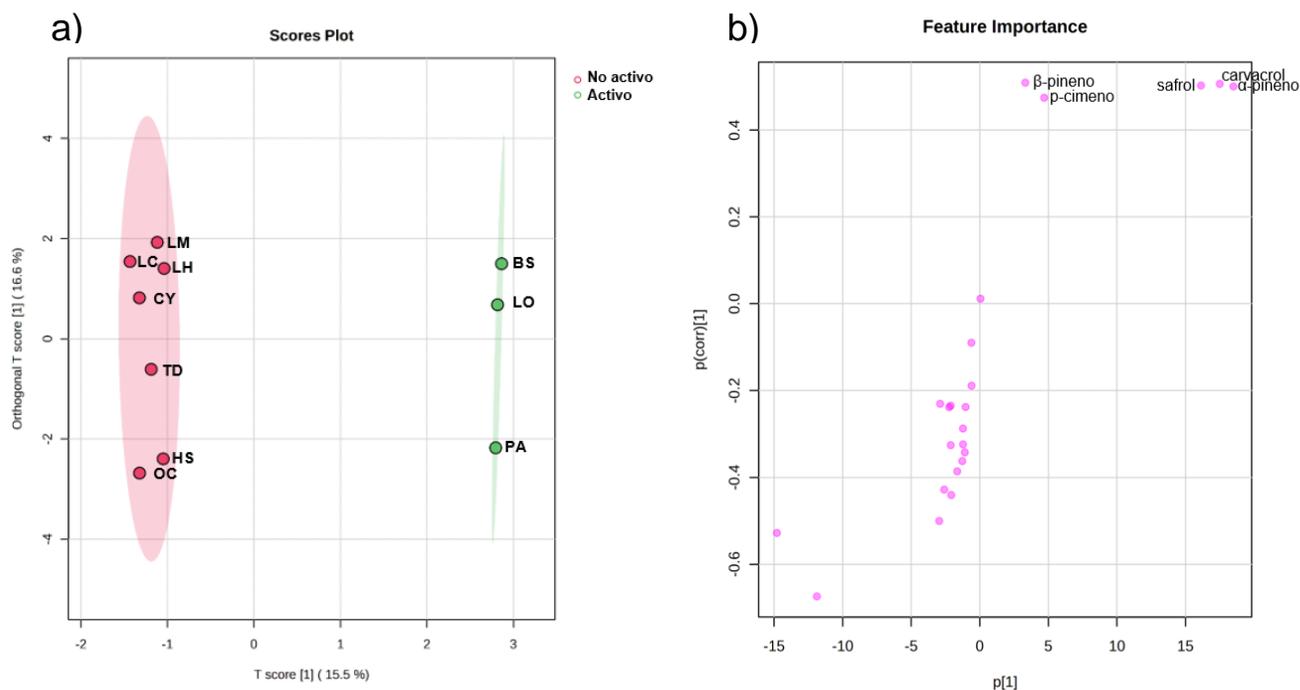


Figura 3.12. OPLS-DA de la actividad antifúngica contra el micelio de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*. A la izquierda se muestra el Score Plot (a) y a la izquierda el S-plot (b). En el S-plot sólo se etiquetan los metabolitos con valor de VIP >1. No activo: AEs con actividad antifúngica <30%, Activo: AEs con actividad antifúngica \geq 30%. LO= *L. origanoides*, BS= *B. simaruba*, PA= *P. auritum*, CY= *C. yucatanensis*, HS= *H. suaveolens*, LC= *L. canescens*, LH= *L. hirta*, LM= *L. myriocephala*, OC= *O. campechianum* y TD= *T. diffusa*.

Por último, el modelo OPLS-DA de la actividad antifúngica contra las esporas de *C. gloeosporioides*, separó a los AEs que resultaron activos, *L. origanoides* y *B. simaruba*, del resto de los AEs inactivos (Figura 3.13a). Para este modelo, los valores obtenidos de R^2 y Q^2 fueron de 0.89 y 0.86, respectivamente, lo que indica que el modelo es confiable y robusto. Adicionalmente, se realizó un análisis de S-plot, para lograr identificar las variables que mejor explican las diferencias observadas entre las dos clases de actividad. Los metabolitos más influyentes fueron el carvacrol, p-cimeno, ambos mayoritarios en el AE de *L. origanoides* y α -pineno y β -pineno, mayoritarios en el AE de *B. simaruba*. Estos fueron los metabolitos con valores más altos en ambos ejes del S-plot (Figura 3.13c). Por otro lado, el modelo OPLS-DA para las esporas de *R. stolonifer* mostró una clara separación del único AE activo, el de *L. origanoides*, del resto de los AEs (Figura 3.13b). El valor de R^2 y Q^2 fue de 0.89 y 0.81, respectivamente, lo cual enfatiza su confiabilidad y robustez. Por su parte, el S-plot identificó al carvacrol y el p-cimeno como los metabolitos que más se correlacionan con la actividad antifúngica de *L. origanoides* contra las esporas de *R. stolonifer* (Figura 3.13d).

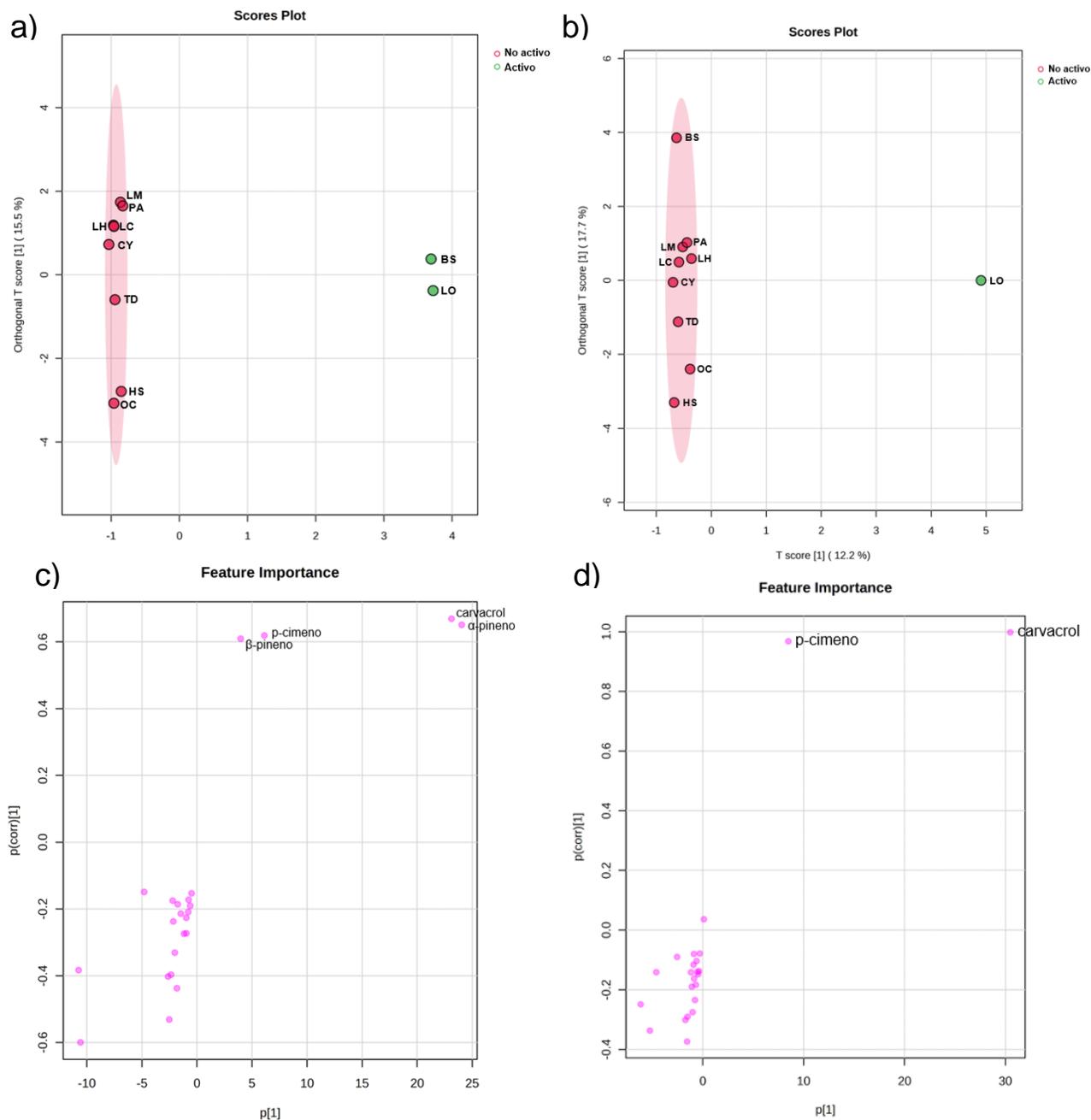


Figura 3.13. Score Plot del Análisis Discriminante de Proyecciones de Estructuras Latentes Ortogonales a las Variables Predictoras (OPLS-DA) de la actividad antifúngica de los AEs contra las esporas de *C. gloeosporioides* (a) y de *R. stolonifer* (b), con su respectivo S-plot (c) y (d). En el S-plot sólo se etiquetan los metabolitos con valor de VIP >1. No activo: AEs con actividad antifúngica <30%, Activo: AEs con actividad antifúngica \geq 30%. LO= *L. organoides*, BS= *B. simaruba*, PA= *P. auritum*, CY= *C. yucatanensis*, HS= *H. suaveolens*, LC= *L. canescens*, LH= *L. hirta*, LM= *L. myriocephala*, OC= *O. campechianum* y TD= *T. diffusa*.

Todos los metabolitos que se identificaron en los S-plot de los análisis OPLS-DA, se encuentran en la tabla 3.4.

Tabla 3.4. Compuestos asociados con la actividad antifúngica identificados por el OPLS-DA.

Tipo de actividad antifúngica	Compuesto	Clase	VIP	Carga predictiva
Micelio de <i>C. gloeosporioides</i> y <i>R. stolonifer</i>	carvacrol	MO	1.2	17.4
	p-cimeno	M	1.2	4.6
	α -pineno	M	1.2	18.5
	β -pineno	M	1.2	3.3
	safrol	MO	1.2	16.1
Esporas de <i>C. gloeosporioides</i>	carvacrol	MO	1.7	23.1
	p-cimeno	M	1.5	6.1
	α -pineno	M	1.6	24.0
	β -pineno	M	1.5	3.9
Esporas de <i>R. stolonifer</i>	carvacrol	MO	2.8	30.4
	p-cimeno	M	2.7	8.4

M= Monoterpeno, MO= Monoterpeno oxigenado.

CAPÍTULO IV

4.1. DISCUSIÓN

En el presente estudio se utilizaron diez AEs provenientes de plantas nativas de la PY y para evaluar su capacidad inhibitoria *in vitro* en fase de vapor sobre el micelio y las esporas de los hongos fitopatógenos *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*. Esta bioprospección, enriquece los esfuerzos para describir el potencial antifúngico de las plantas aromáticas nativas del sureste mexicano. Los resultados obtenidos mostraron que el AE con mayor actividad antifúngica fue el de *L. origanoides*, con un efecto antifúngico tanto en el crecimiento del micelio como en la germinación de esporas. Los AEs de *B. simaruba* y de *P. auritum* presentaron una actividad antifúngica menos importante.

En el caso del AE de *L. origanoides*, en nuestro conocimiento actual, este es el primer trabajo de su actividad antifúngica en fase de vapor contra *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*, tanto en micelio como en esporas. Mientras que para los AEs de *B. simaruba* y *P. auritum*, este es el primer estudio que explora su actividad antifúngica en fase de vapor contra hongos fitopatógenos. La comparación de nuestros resultados con los de estudios previos se ve limitada ya que la mayoría de los estudios sobre la actividad antifúngica contra micelio y/o esporas de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer* se han realizado en bioensayos en fase líquida, por lo que no son comparables y son escasos los estudios realizados en fase vapor.

4.1.1. Composición química y actividad antifúngica de *L. origanoides*

Diversos estudios han caracterizado la composición química del AE de *L. origanoides*, destacando su considerable diversidad fitoquímica. Con base en sus compuestos mayoritarios, se han descrito hasta tres quimiotipos de *L. origanoides* en la PY, dos fenólicos, que se caracterizan por presentar monoterpenos oxigenados, con altos contenidos de carvacrol, o timol y un tercero, dominado por sesquiterpenos (Calvo-Irabien *et al.*, 2014; Ribeiro *et al.*, 2014). Dentro de cada quimiotipo, las concentraciones de los compuestos mayoritarios son variables. Las concentraciones reportadas para el quimiotipo carvacrol en el AE de *L. origanoides* varían de 26.2 hasta 78.5% (Sarrazin *et al.*, 2024; Brandão *et al.*, 2021; Menezes *et al.*, 2018; Hernandez *et al.*, 2017; Majolo *et al.*, 2017; Andrade *et al.*, 2014; Calvo-Irabien *et al.*, 2014; Teixeira *et al.*, 2014; Teles *et al.*, 2014; Gómez-Sánchez *et al.*, 2011). En nuestro AE, además del carvacrol (60%), otro metabolito abundante fue el p-cimeno (17.8%), y en menor proporción, el timol (4.4%). El p-cimeno, es un compuesto frecuentemente reportado en la composición química de *L. origanoides*. Esto se debe a que el p-cimeno, es el precursor biosintético del carvacrol y

adicionalmente, se ha descrito la capacidad del p-cimeno de potenciar la actividad del carvacrol en ensayos de actividad biológica (Hyldgaard *et al.*, 2012; Krause *et al.*, 2021; Rattanachaikunsopon y Phumkhachorn, 2010; Ultee *et al.*, 2002).

En los ensayos de actividad antifúngica, el AE de *L. origanoides* mostró una elevada actividad en la inhibición del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*, al presentar valores de IC₅₀ significativamente más bajos que los obtenidos para *B. simaruba* y *P. auritum*. Existen varios estudios que reportan la actividad antifúngica del AE de *L. origanoides*, sin embargo, su actividad en fase de vapor ha sido poco explorada. Los únicos reportes de su actividad en fase de vapor incluyen la inhibición del micelio de *A. flavus*, con una MIC de 0.294 µL/mL de aire (Gómez-Sánchez *et al.*, 2011) y los estudios realizados por Cueto-Wong *et al.*, (2010), quienes reportaron una MIC de 0.15 µL/mL de aire sobre el micelio de *Fusarium oxysporum*. En contraste con estos estudios, en nuestro trabajo el AE de *L. origanoides* resultó más activo contra el micelio de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*, con valores de MIC de 0.010 µL/mL y 0.006 µL/mL de aire, respectivamente. La aplicación del AE de *L. origanoides* en fase de vapor presenta los valores de MIC e IC₅₀ más bajos contra el micelio de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer* descritos hasta ahora, en comparación con otros AEs estudiados contra estos fitopatógenos (Wang *et al.*, 2023; Huang *et al.*, 2021; Bammou *et al.*, 2020; Perumal *et al.*, 2016; Manssouri *et al.*, 2016; Khalid *et al.*, 2015; Sellamuthu *et al.*, 2013; Abdollahi *et al.*, 2011; Ziedan y Farrag, 2008).

Por otra parte, este es el primer estudio que evalúa el AE de *L. origanoides* contra la inhibición de la germinación de esporas de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*. Se ha evaluado el AE de *L. origanoides* en fase de vapor contra la inhibición de la germinación de esporas de otros fitopatógenos fúngicos como *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* y *Trichophyton rubrum*, con valores de MIC de 0.26 a 1.0 µL/mL de aire (Reyes-Jurado *et al.*, 2019). Nuestros resultados obtenidos contra las esporas de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer* fueron similares, con valores de IC₅₀ de 0.07 y 0.13 µL/mL de aire, respectivamente. No hay estudios previos con otros AEs en fase de vapor contra las esporas de *C. gloeosporioides*; para *R. stolonifer* se ha evaluado el AE de *Teucrium luteum* subsp. *flavovirens*, con una MIC de 2 µL/mL de aire (Znini, 2021).

Mediante un análisis OPLS-DA se identificaron los metabolitos de *L. origanoides* que presentaron una correlación significativa con la actividad antifúngica. Para la inhibición del crecimiento micelial y las esporas de ambas especies de fitopatógenos, los metabolitos identificados fueron carvacrol y p-cimeno. Diversos estudios han explorado el potencial antifúngico del carvacrol, con la finalidad

de inhibir enfermedades causadas por hongos fitopatógenos y aumentar el tiempo de vida de los productos poscosecha durante el almacenaje (Wang *et al.*, 2024; Nostro *et al.*, 2012). Para el carvacrol se ha reportado un amplio espectro de actividad antifúngica sobre varios hongos fitopatógenos, entre los que destacan: *B. cinerea* (Zhang *et al.*, 2019), *Aspergillus flavus*, *A. spp.*, *Cladosporium spp.* (Abbaszadeh *et al.*, 2014), *A. flavus* (Duan *et al.*, 2024), *Colletotrichum fructicola* (Pei *et al.*, 2020), *Clonostachys rosea*, *Fusarium equiseti* (Mi *et al.*, 2023), *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *Penicillium brevicompactum* y *P. expansum* (Zabka y Pavela, 2013).

De manera particular, la actividad antifúngica del carvacrol y el p-cimeno, en fase de vapor, ha sido estudiada por Hong *et al.* (2015) contra el micelio de *C. gloeosporioides*. El carvacrol fue el compuesto con mayor actividad antifúngica con una MIC de 0.025 $\mu\text{L/mL}$ de aire, mientras que el p-cimeno no inhibió el crecimiento micelial. Al comparar estos resultados con el valor de MIC del AE obtenido en este estudio (0.01 $\mu\text{L/mL}$ de aire), observamos que la actividad antifúngica del AE, en el caso del micelio, fue mayor que el carvacrol y el p-cimeno puros. Lo anterior sugiere la interacción sinérgica de estas dos moléculas y posiblemente algunas otras presentes en el AE de *L. origanoides* para explicar el efecto antifúngico en el micelio de *C. gloeosporioides*.

El carvacrol como compuesto puro, también ha sido estudiado en fase de vapor contra el micelio de *R. stolonifer*, con una MIC reportada de 0.00625 $\mu\text{L/mL}$ de aire (Zhou *et al.*, 2018). Este valor es muy cercano al encontrado para el AE de *L. origanoides* en este estudio (MIC = 0.006 $\mu\text{L/mL}$ de aire), lo que apoya que muy posiblemente es el carvacrol el compuesto responsable de la inhibición del crecimiento micelial en *R. stolonifer*. El mecanismo de acción antifúngico del carvacrol ha sido estudiado por Zhou *et al.* (2018) quienes determinaron que el carvacrol incrementa la permeabilidad de la membrana citoplasmática y la pérdida de componentes celulares, además de mostrar una reducción en el contenido de ergosterol sobre el micelio de *R. stolonifer*. Asimismo, Pei *et al.* (2020), determinaron que el carvacrol aumenta la permeabilidad de la membrana y como consecuencia, la pérdida de componentes celulares en las hifas de *C. fructicola* e induce la generación de ROS. La presencia del grupo hidroxilo le confiere al carvacrol un carácter hidrofóbico, lo que permite que este compuesto interactúe con los lípidos de la membrana citoplasmática de la célula fúngica, afectando su permeabilidad (Raveau *et al.*, 2020).

Además de lo reportado por Hong *et al.* (2015), se ha descrito la actividad antifúngica del p-cimeno en ensayos en fase líquida al inhibir el crecimiento del micelio de *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* y *A. niger* (Dutta *et al.*, 2020). Dutta y colaboradores (2020), realizaron un estudio de acoplamiento molecular para elucidar el mecanismo de acción antifúngico del p-cimeno. El

estudio reveló que la actividad podría estar relacionada a la interacción del p-cimeno con la enzima glucosamina-6-fosfato sintasa. Esta enzima participa en la síntesis de N-acetilglucosamina, componente esencial de la quitina, presente en la pared celular de los hongos (Banerjee *et al.*, 2011).

En cuanto a la inhibición de la germinación de esporas de *C. gloeosporioides*, se ha explorado la actividad del carvacrol y el p-cimeno. Al igual que en la inhibición del crecimiento micelial, el carvacrol tuvo la mayor actividad antifúngica con una MIC de 0.025 $\mu\text{L/mL}$ de aire, mientras que el p-cimeno a 0.1 $\mu\text{L/mL}$ de aire inhibió la germinación de las esporas en un 98.8% (Hong *et al.*, 2015). El valor de MIC de *L. origanoides* obtenido en el presente estudio fue de 0.4 $\mu\text{L/mL}$ de aire, por lo que el efecto del AE fue menor que el de los compuestos puros. La actividad antifúngica del p-cimeno para inhibir la germinación de esporas ha sido explorada en fase líquida contra otros fitopatógenos fúngicos como *Aspergillus carbonarius*, *A. ochraceus*, *A. flavus*, y *A. niger* (Souza *et al.*, 2021).

Se han descrito los mecanismos de acción antifúngica del carvacrol sobre la inhibición de la germinación de esporas de *C. acutatum*. Los resultados obtenidos por Scariot *et al.* (2020), demostraron que la actividad antifúngica del carvacrol está asociada con la pérdida de integridad de la membrana celular y la acumulación de ROS, lo cual puede inducir la muerte celular. La acumulación de ROS en el citoplasma puede ser uno de los efectos más importantes de los monoterpenos oxigenados en la inhibición de la germinación de esporas (Scariot *et al.*, 2020). La actividad en fase de vapor del carvacrol y el p-cimeno sobre la inhibición de la germinación de esporas de *R. stolonifer* no ha sido estudiada.

4.1.2. Composición química y actividad antifúngica de *B. simaruba*

Los AEs de *B. simaruba* y *P. auritum* también presentaron actividad antifúngica, aunque más baja que la presentada por el AE de *L. origanoides* sobre las hifas y esporas de ambos hongos. Para *B. simaruba*, se determinaron como compuestos mayoritarios los monoterpenos α -pineno (65.2%), β -pineno (11.8%) y el limoneno (4.4%). Junor *et al.* (2008), reportaron α -pineno (10.2%), trans-cadina-(6), 4-diene (9.7%) y β -cariofileno (9.0%), como los compuestos mayoritarios. También se ha identificado el limoneno como mayoritario, pero en concentraciones más altas de 46.7%, seguido de β -cariofileno (14.7%) y α -humuleno (13.2%) (Sylvestre *et al.*, 2007).

El AE de *B. simaruba* presentó una baja actividad antifúngica en fase de vapor contra el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*, debido a que los valores de IC_{50} en este estudio es más alta (0.640 y 0.453 $\mu\text{L/mL}$ de aire, respectivamente), en comparación con los

reportados para otros AEs. Los valores de MIC reportados para el micelio de *C. gloeosporioides* van de 0.04 a 0.1 $\mu\text{L/mL}$ de aire (Tabla 1.2), destacando el AE de clavo (*Syzygium aromaticum*) como el más activo (Wang *et al.*, 2023). En cuanto al micelio de *R. stolonifer*, también se han evaluado distintos AEs en fase de vapor, con valores de MIC que van desde 0.06 hasta 0.5 $\mu\text{L/mL}$ de aire, siendo el AE de tomillo (*T. vulgaris*) el que presentó la mayor actividad antifúngica (Sellamuthu *et al.*, 2013).

Al igual que en el micelio, el AE de *B. simaruba* presentó una baja actividad antifúngica contra la inhibición de la germinación de esporas de *C. gloeosporioides*, y una nula actividad sobre las esporas de *R. stolonifer*. A diferencia de *B. simaruba*, el AE de *T. luteum* tuvo una MIC de 2 $\mu\text{L/mL}$ de aire sobre la germinación de esporas de *R. stolonifer*.

El análisis OPLS-DA mostró que otro de los metabolitos responsables de la inhibición del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer* fue α -pineno y β -pineno, compuestos mayoritarios de *B. simaruba*. Estos metabolitos también fueron evaluados en fase de vapor por Hong *et al.* (2015). No presentaron actividad contra el micelio de *C. gloeosporioides*, ya que no hubo diferencias significativas con el tratamiento control. Sin embargo, a una concentración de 0.1 $\mu\text{L/mL}$ de aire. α -pineno y β -pineno sí tuvieron actividad antifúngica sobre la germinación de esporas del 79.2% y 60.5%, respectivamente.

La actividad antifúngica del α -pineno podría deberse a su capacidad para unirse al ergosterol de la membrana celular, lo cual fue propuesto por de Barros *et al.* (2023), mediante un estudio de acoplamiento molecular. Para el metabolito β -pineno, no existen estudios sobre su mecanismo de acción sobre fitopatógenos fúngicos.

4.1.3. Composición química y actividad antifúngica de *P. auritum*

Por último, el tercer AE catalogado como activo fue *P. auritum*. El metabolito mayoritario de *P. auritum* fue el safrol (55.7%) y en concentraciones más bajas, el β -cariofileno (5.9%) y germacreno D (5.8%). Nuestros resultados coinciden con varios estudios previos, en los que el safrol es el compuesto más abundante (Lam-Gutiérrez *et al.*, 2024; Caballero-Gallardo *et al.*, 2014; Rodríguez *et al.*, 2013; Monzote *et al.*, 2010).

El AE de *P. auritum* presentó actividad antifúngica sobre la inhibición del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*, con valores de IC_{50} de 0.443 y 0.286 $\mu\text{L/mL}$ de aire, respectivamente. Estudios previos en AEs de otras especies muestran una actividad mayor del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides*, con valores de IC_{50} que van entre 0.075 a 0.188 $\mu\text{L/mL}$

de aire para *Pimpinella anisum*, *Vitex negundo*, *Artemisia annua*, *Artemisia lavandulifolia* y *Artemisia scoparia*, (Huang *et al.*, 2021; Perumal *et al.*, 2016). Por otra parte, no hay valores de IC₅₀ reportados por otros AEs contra el micelio de *R. stolonifer*.

El AE de *P. auritum* no presentó actividad antifúngica sobre la inhibición de la germinación de las esporas de ambos fitopatógenos, por lo que el micelio fue la única estructura fúngica sensible al AE de *P. auritum*. La capacidad antifúngica de *P. auritum* podría deberse a su alto contenido de safrol, ya que AEs con altos contenidos de safrol han sido reportados como activos frente a hongos fitopatógenos en otros estudios (Gutiérrez, 2024; Valarezo *et al.*, 2021; Mezzomo *et al.*, 2019).

El análisis OPLS-DA identificó al safrol como biomarcador en la inhibición del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*. Se ha estudiado el safrol en fase de vapor contra el micelio de *R. stolonifer*, con un valor de MIC de >1.25 µl/mL de aire (Thompson, 1989). Este metabolito también tiene reportes de su actividad antifúngica en fase líquida contra el micelio de *Alternaria solani*, *Fusarium graminearum*, *Sclerotium sclerotiorum*, *R. solani*, *A. niger* y *A. fumigatus* (Tokgöz *et al.* 2024; Poudel *et al.*, 2021). Hasta el momento, en la literatura, no se ha elucidado el mecanismo de acción antifúngico del safrol. Sin embargo, para los fenilpropanoides como el safrol, se ha propuesto que las cadenas de carbonos unidas al anillo aromático les confieren una característica lipofílica. Esta característica permite interactuar con la bicapa lipídica de la membrana celular, alterando su permeabilidad (Pineda *et al.*, 2018; Carrasco *et al.*, 2012).

A pesar de los reportes que evidencian la actividad antifúngica de los compuestos mayoritarios identificados en los AE activos, dicha actividad no puede atribuirse exclusivamente a estos compuestos. Diversos autores han propuesto que la actividad antifúngica observada podría ser el resultado de interacciones sinérgicas entre los compuestos mayoritarios y minoritarios (Oliveira *et al.*, 2019; Alitonou *et al.*, 2012; Hyldgaard *et al.*, 2012; Lu *et al.*, 2013). Además de la posible sinergia entre los distintos fitoconstituyentes, la gran diversidad química de los AE les confiere la capacidad de ejercer múltiples modos de acción. Este aspecto es particularmente relevante, ya que, a diferencia de los fungicidas comerciales, la compleja composición de los AE podría dificultar el desarrollo de resistencia fúngica (Mani-López *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2019; Bosquez-Molina *et al.*, 2010).

A diferencia de *L. organoides*, *P. auritum* y *B. simaruba*, el resto de los AEs estudiados en el presente trabajo no presentaron actividad antifúngica sobre la inhibición del crecimiento micelial y la germinación de esporas de ambos hongos. Dentro de los AEs no activos, algunas especies

como *H. suaveolens* y *O. campechianum* tienen reportes previos de actividad antifúngica en fase de vapor y fase líquida contra otras especies de hongos fitopatógenos. Estas diferencias en actividad pueden deberse a diversos factores, como la especie de hongo fitopatógeno, el medio de contacto empleado ya sea líquido o en fase de vapor, y a la variabilidad en la composición química del AE que se puede presentar dentro de una misma especie (Mani-López *et al.*, 2021). Esta variabilidad que presentan los AEs en su composición química puede deberse a diversos factores, como la época del año, el estado fenológico, tipo de suelo y las condiciones climáticas de donde las plantas son colectadas (Cruz-Cerino *et al.*, 2023). Estos factores pueden modificar la biosíntesis química, y, en consecuencia, mostrar variaciones en las concentraciones de los metabolitos (Sarrazin *et al.*, 2015).

El AE de *H. suaveolens* se caracterizó por presentar como compuestos mayoritarios a β -cariofileno (16.2%), espatulenol (11.4%) y α -bergamoteno (7.5%). *H. suaveolens* tiene reportes de actividad antifúngica en fase de vapor sobre el micelio de *F. oxysporum* (Tripathi, 2009). Sin embargo, la composición química reportada por este autor contrasta con nuestros resultados, tanto en el metabolito mayoritario como en su concentración. El compuesto mayoritario fue el eucaliptol con 44.4% (Tripathi, 2009).

En contraste con nuestros resultados, Souza *et al.* (2022) reportaron la capacidad de *O. campechianum* para inhibir la germinación de esporas de *C. gloeosporioides* en ensayos en fase líquida. No obstante, se identificaron otros compuestos como mayoritarios y en mayores abundancias: eugenol (49.18%), β -cariofileno (17.26%) y elixeno (9.46%), mientras que en el AE de este estudio se identificaron como compuestos mayoritarios el eucaliptol (22.7%) y β -elemeno (8.6 %). El β -cariofileno (17.2%) presentó concentraciones similares. Dichas diferencias en actividad pueden deberse a la composición química del AE y el medio de contacto utilizado. *O. campechianum* también tiene reportes de actividad antifúngica micelial contra *Colletotrichum gossypii* (Figueiredo *et al.*, 2018). No obstante, la composición química fue contrastante, se identificó metil-eugenol como el compuesto mayoritario, con una abundancia de 84.2%. Estas diferencias en la actividad evidencian la importancia de la composición química en el efecto antifúngico de los AEs.

Los resultados del presente estudio demostraron que aquellos AEs que en su composición química predominaron compuestos claramente mayoritarios (>50%), presentaron una mayor actividad antifúngica. No obstante, es importante destacar que, la presencia de un metabolito mayoritario con una alta abundancia no garantiza, por sí sola, la actividad antifúngica del AE. Este

es el caso de los AEs de *L. myriccephala* y *L. canescens*, en los que el óxido de cariofileno, un sesquiterpeno, fue el compuesto predominante con porcentajes de área de 41.9 y 37.8%, respectivamente y cuya actividad antifúngica fue nula. Únicamente aquellos AEs con un compuesto claramente mayoritario de tipo monoterpenoide como *L. origanoides* (carvacrol), *B. simaruba* (α -pineno) y *P. auritum* (safrol) mostraron actividad antifúngica sobre *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*. Estos hallazgos respaldan las hipótesis previamente planteadas sobre la importancia de la presencia de compuestos monoterpenoides en concentraciones superiores al 50% y su asociación con una mayor actividad antifúngica de los AEs. La actividad antifúngica de los monoterpenos oxigenados se atribuye en gran medida a la presencia del grupo hidroxilo (OH), el cuál interactúa con la membrana celular de los hongos, afectando la homeostasis fúngica (Scariot *et al.*, 2020; Kordali *et al.*, 2008; Kalemba y Kunicka, 2003).

4.1.4. Análisis por microscopio electrónico de barrido

Las imágenes obtenidas mediante MEB evidenciaron que los AEs de *L. origanoides*, *B. simaruba* y *P. auritum* inducen alteraciones morfológicas en las hifas de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*. Estos hallazgos coinciden con lo reportado en otros estudios, en los que se ha documentado que la exposición a AEs genera modificaciones estructurales en hongos fitopatógenos, tanto en fase de vapor (Tripathi, 2009; Soyly *et al.*, 2006; Soyly *et al.*, 2007) como en fase líquida (Brandão *et al.*, 2021; Huang *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2019; Kohiyama *et al.*, 2015; Lu *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2009). Asimismo, se ha demostrado que el carvacrol, compuesto mayoritario del AE de *L. origanoides*, provoca disrupción estructural en las hifas de *R. stolonifer* en fase de vapor (Zhou *et al.*, 2018), así como en las de *C. fructicola* en fase líquida (Pei *et al.*, 2020).

Por otro lado, los análisis mediante MEB también revelaron efectos significativos de los AEs de *L. origanoides* y *B. simaruba* sobre las esporas. A diferencia del micelio, el impacto de los AEs sobre las esporas ha sido escasamente abordado en la literatura mediante MEB, tanto en fase de vapor (Tyagi y Malik, 2010) como en fase líquida (Brandão *et al.*, 2021; Kohiyama *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2009).

En el presente estudio se constató que, en ambos fitopatógenos, el micelio fue la estructura fúngica más susceptible a los AEs, lo que confirma nuestra hipótesis respecto a la mayor susceptibilidad del micelio en comparación con las esporas. A diferencia de las hifas, las esporas se caracterizan por presentar una alta tolerancia a las condiciones ambientales adversas. Esto puede deberse a las características de la spora que son naturalmente resistentes para prevalecer en el proceso de infección contra los compuestos de defensa de las plantas (El

Enshasy, 2022; Baltussen *et al.*, 2020). Los cambios morfológicos observados tanto en el micelio como en las esporas se podrían atribuir a las características lipofílicas de los compuestos mayoritarios presentes en los AEs, los cuales provocan alteraciones en la permeabilidad de la membrana citoplasmática (Brandão *et al.*, 2021; Kordali *et al.*, 2008).

Además, los AEs pueden actuar sobre la pared celular fúngica, al causar alteraciones en el ensamblaje de los componentes que la conforman, afectando su integridad (Mani-López *et al.*, 2021; Lu *et al.*, 2013). Se ha reportado una disminución del contenido de quitina y β -1,3-glucanos en la pared celular del micelio de *Alternaria alternata*, posterior a la exposición de carvacrol en fase de vapor, lo cual sugiere que el carvacrol es capaz de interferir con la construcción de la pared celular, conduciendo al deterioro de la permeabilidad e integridad de esta (Zhao *et al.*, 2023). El grosor de la pared celular de las esporas también podría interferir con la actividad antifúngica de los AEs en fase de vapor, como lo reportado por Svircev *et al.* (2007), quienes no encontraron efecto alguno del timol en los organelos presentes en el citoplasma de las esporas de *Monilinia fructicola*, mientras que las estructuras más finas, como las hifas, tubos germinativos y apresorios fueron significativamente más afectadas por el timol. Nuestros resultados también concuerdan con Abd-Alla *et al.* (2006), al reportar que las hifas de *A. niger* fueron más susceptibles que las esporas a los vapores de los AEs de *Cymbopogon citratus* y *T. vulgaris*.

Por otra parte, los resultados obtenidos muestran que el micelio de *R. stolonifer* fue el más sensible a los AEs de *L. origanoides*, *B. simaruba* y *P. auritum*. De manera concordante, en un estudio *in vitro* realizado por Sellamuthu *et al.* (2013), AEs de *T. vulgaris*, *C. nardus* y *Mentha piperita* aplicados en fase de vapor, tuvieron un mayor efecto en la inhibición del crecimiento micelial de *R. stolonifer* en comparación con *C. gloeosporioides*. Esta diferencia en la susceptibilidad fúngica podría deberse a que *C. gloeosporioides* se caracteriza por contener mayor melanina en la pared celular del micelio y del apresorio (Wang *et al.*, 2021). La melanina es un pigmento asociado con la virulencia en diversas especies fúngicas, y su presencia se ha vinculado con una mayor resistencia frente a factores ambientales adversos, como temperaturas extremas, radiación ultravioleta, especies reactivas de oxígeno y la acción de fungicidas (Steiner y Oerke, 2022; Chen *et al.*, 2021; Pascoe y Maillard, 2021; Garcia-Rubio *et al.*, 2020).

La evaluación de la actividad antifúngica sobre el micelio y las esporas es muy importante, ya que permite probar la capacidad curativa o preventiva de los AEs, según sea el caso (Cárdenas-Laverde *et al.*, 2021). La inhibición del crecimiento micelial evita que la infección fúngica se disemine en los productos poscosecha, al tener contacto con frutos infectados. Por su parte, la

inhibición de la germinación de esporas es crucial, ya que son el principal medio de propagación de la infección durante el almacenaje poscosecha (Tzortzakis, 2009; Szczerbanik *et al.*, 2007).

CAPÍTULO V

5.1. CONCLUSIONES

En el presente estudio se encontró que los AEs que exhibieron una mayor actividad antifúngica, fueron aquellos cuya composición química estuvo dominada por monoterpenoides y presentaron un compuesto claramente mayoritario, con una proporción superior al 50% del área del cromatograma. En particular, el AE de *L. organoides* mostró el efecto antifúngico más potente, reflejado en valores de IC_{50} significativamente más bajos en comparación con los AEs de *B. simaruba* y *P. auritum*. Los ensayos *in vitro*, junto con las imágenes obtenidas por MEB, evidenciaron que los AEs de *L. organoides*, *B. simaruba* y *P. auritum* inhibieron el crecimiento de ambos hongos fitopatógenos y provocaron alteraciones morfológicas significativas en sus estructuras.

El micelio se identificó como la estructura más susceptible a la acción de los AEs evaluados, siendo *R. stolonifer* la especie más sensible. Por otro lado, los AEs demostraron una menor eficacia en la inhibición de la germinación de las esporas, lo cual podría atribuirse a la resistencia de estas estructuras que les permite conservar su viabilidad en condiciones ambientales adversas. Dada su elevada actividad antifúngica, el AE de *L. organoides* se perfila como el candidato más prometedor para estudios *in vivo* orientados a evaluar su efectividad en el control de las enfermedades causadas por *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer* en frutos, proporcionando así una aproximación más completa y precisa de su potencial aplicación como biofungicida en el proceso poscosecha.

Este estudio enriquece el conocimiento sobre el potencial antifúngico de las plantas aromáticas nativas de la PY y marca una pauta para el desarrollo de estudios futuros con un enfoque en la conservación y el uso sostenible de la flora regional, al desarrollar productos capaces de controlar la antracnosis y la pudrición blanda en frutos.

5.2. PERSPECTIVAS

La potente actividad del AE de *L. organoides* contra la inhibición del micelio y la germinación de esporas de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer* reportado en este estudio, indica que su aplicación en fase de vapor presenta un potencial importante y el siguiente paso sería realizar estudios *in vivo*. El uso de los AEs en fase de vapor puede ser ventajoso, ya que, debido a su naturaleza

volátil, se espera que produzcan pocos residuos (Boubaker *et al.*, 2016) y, por consiguiente, no genere cambios organolépticos al ser usado en frutos poscosecha (Laird y Phillips, 2012; Goñi *et al.*, 2009). Estudios recientes han contrastado la actividad antifúngica de los AEs en fase de vapor y en fase líquida, siendo la fase de vapor la más eficiente, al requerir concentraciones más bajas para inhibir el crecimiento de fitopatógenos fúngicos (Wang *et al.*, 2023; Znini, 2021; Dimić *et al.*, 2015; Mejía-Garibay *et al.*, 2015; Hua *et al.*, 2014; Velázquez-Nuñez *et al.*, 2013; Shao *et al.*, 2013; Soylu *et al.*, 2010). Además, la aplicación de los AEs en fase de vapor hace que el proceso de esterilización poscosecha sea más conveniente durante las etapas de transporte y almacenamiento de los frutos (Wang *et al.*, 2023; Shao *et al.*, 2013).

En México, la gran mayoría de la cosecha de *L. origanoides* se realiza principalmente por comunidades rurales e indígenas. La comercialización de las hojas genera ingresos a diversas familias en comunidades ubicadas al noroeste de Yucatán (Llamas-Torres *et al.*, 2022). Por lo que, realizar un producto biofungicida con *L. origanoides* resulta viable, ya que es una planta que cuenta con un aprovechamiento previo.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbaszadeh, S., Sharifzadeh, A., Shokri, H., Khosravi, A. R., y Abbaszadeh, A. (2014). Antifungal efficacy of thymol, carvacrol, eugenol and menthol as alternative agents to control the growth of food-relevant fungi. *Journal de mycologie medicale*, 24(2), e51-e56.
- Abd-Alla, M. A., El-Mohamedy, R. S. R., y Badaea, R. I. (2006). Effect of some volatile compounds on black mould disease on onion bulbs during storage. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 2(6), 384-90.
- Abd-Alla, M. A., y Haggag, W. M. (2013). Use of some plant essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of anthracnose disease of mango fruits (*Mangifera indica* L.) caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz). *International Journal of Agriculture and Forestry*, 3(1), 1-6.
- Abdollahi, A. L. I., Hassani, A., Ghosta, Y., Meshkatalasadat, M. H., y Shabani, R. (2011). Screening of antifungal properties of essential oils extracted from sweet basil, fennel, summer savory and thyme against postharvest phytopathogenic fungi. *Journal of Food Safety*, 31(3), 350-356.
- Abe, F., Usui, K., y Hiraki, T. (2009). Fluconazole modulates membrane rigidity, heterogeneity, and water penetration into the plasma membrane in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochemistry*, 48(36), 8494-8504.
- Abers, M., Schroeder, S., Goelz, L., Sulser, A., St. Rose, T., Puchalski, K., y Langland, J. (2021). Antimicrobial activity of volatile substances from essential oils. *BMC complementary medicine and therapies*, 21, 1-14.
- Adams, R. P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Quinta edición. Texensis Publishing, Texas, pp. 456.
- Adjou, E. S., Chougourou, D., y Soumanou, M. M. (2019). Insecticidal and repellent effects of essential oils from leaves of *Hyptis suaveolens* and *Ocimum canum* against *Tenebroides mauritanicus* (L.) isolated from peanut in post-harvest. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 14, 25-30.

-
- Aguilar-González, A. E., Palou, E., y López-Malo, A. (2015). Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 32, 181-185.
- Alfaro-Sifuentes, L., Juan, M., Troncoso-Rojas, R., Meca, D. E., Elorrieta, M. A., y Valenzuela, J. L. (2019). Effectiveness of chemical and thermal treatments on control *Rhizopus stolonifer* fruit infection comparing tomato cultivars with different sensitivities to cracking. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(15), 2754
- Alitonou, G. A., Tchobo, F. P., Avlessi, F., Yehouenou, B., Yedomonhan, P., Koudoro, A. Y. y Sohounhloue, D. K. (2012). Chemical and biological investigations of *Syzygium aromaticum* L. essential oil from Benin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6(3), 1360-1367.
- Andrade, V. A., Almeida, A. C., Souza, D. S., Colen, K. G., Macêdo, A. A., Martins, E. R. y Santos, R. L. (2014). Antimicrobial activity and acute and chronic toxicity of the essential oil of *Lippia origanoides*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34, 1153-1161.
- Andrade, W. P., y Vieira, G. H. C. (2016). Effect of essential oils on *in vitro* anthracnose and in fruits of the papaya plant. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 18, 367-372.
- Antonia, B. D., de Oliveira, J., da Silva, P. P. M., dos Mares Biazotto, A., de Toledo, N. M. V., da Glória, E. M., y Spoto, M. H. F. (2024). Positive effect of *Lippia sidoides* essential oil associated with carboxymethylcellulose in the control of anthracnose in avocado. *Food Production, Processing and Nutrition*, 6(1), 39.
- Aquino, C. F., Sales, N. L. P., Soares, E. P. S., Martins, E. R., y Costa, C. A. (2014). Chemical composition and *in vitro* activity of three essential oils on *Colletotrichum gloeosporioides* from passion fruit. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 16, 329-336.
- Arango-Bendoya, O., Hurtado Benavides, A. M., Pantoja Daza, D., y Santacruz Chazatar, L. (2015). Actividad inhibitoria del aceite esencial de *Lippia origanoides* HBK sobre el crecimiento de *Phytophthora infestans*. *Acta Agronómica*, 64(2), 116-124

-
- Aremu, A. O., Omogbene, T. O., Fadiji, T., Lawal, I. O., Opara, U. L., y Fawole, O. A. (2024). Plants as an alternative to the use of chemicals for crop protection against biotic threats: trends and future perspectives. *European Journal of Plant Pathology*, 170, 711-776.
- Armengol, E., Harmanci, M., y Laffleur, F. (2021). Current strategies to determine antifungal and antimicrobial activity of natural compounds. *Microbiological Research*, 252, 126867.
- Athayde, A. J. A. A., De Oliveira, P. D. L., Guerra, I. C. D., Da Conceicao, M. L., De Lima, M. A. B., Arcanjo, N. M. O. y de Souza, E. L. (2016). A coating composed of chitosan and *Cymbopogon citratus* (Dc. Ex Nees) essential oil to control *Rhizopus* soft rot and quality in tomato fruit stored at room temperature. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 91(6), 582-591.
- Ayilara, M. S., Adeleke, B. S., Akinola, S. A., Fayose, C. A., Adeyemi, U. T., Gbadegesin, L. A. y Babalola, O. O. (2023). Biopesticides as a promising alternative to synthetic pesticides: A case for microbial pesticides, phytopesticides, and nanobiopesticides. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1040901.
- Baggio, J. S., Gonçalves, F. P., Lourenço, S. A., Tanaka, F. A. O., Pascholati, S. F., y Amorim, L. (2016). Direct penetration of *Rhizopus stolonifer* into stone fruits causing *Rhizopus* rot. *Plant Pathology*, 65(4), 633-642.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., y Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils— a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475.
- Baltussen, T. J., Zoll, J., Verweij, P. E., y Melchers, W. J. (2020). Molecular mechanisms of conidial germination in *Aspergillus* spp. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 84(1), 10-1128
- Bammou, M., Bouhlali, E. D. T., Sellam, K., Ramchoun, M., McDonald, A. G., Ouzidan y Nassiri, L. (2019). Investigation on chemical composition, antioxidant and antimicrobial potential of *Pulicaria mauritanica* essential oil applied by direct addition or vapor contact. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 7(1), 7-13.
- Bammou, M., Tariq Bouhlali, E. D., Sellam, K., Derouich, M., El-Rhaffari, L., Ibjibijen, J., y Nassiri, L. (2020). Chemical profile and antimicrobial properties of liquid and vapor phases of the

essential oil of *Cladanthus eriolepis*: an endemic asteraceae growing in the Moroccan oases. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 23(5), 1042-1053.

Bancal, V., y Ray, R. C. (2022). Overview of food loss and waste in fruits and vegetables: From issue to resources. In *Fruits and vegetable waste: Valorization to bioproducts and platform chemicals* (pp. 3-29). Singapore: Springer Nature Singapore.

Banerjee, K., Gupta, U., Gupta, S., Wadhwa, G., Gabrani, R., Sharma, S. K., y Jain, C. K. (2011). Molecular docking of glucosamine-6-phosphate synthase in *Rhizopus oryzae*. *Bioinformation*, 7(6), 285.

Baptista-Silva, S., Borges, S., Ramos, O. L., Pintado, M., y Sarmiento, B. (2020). The progress of essential oils as potential therapeutic agents: A review. *Journal of Essential Oil Research*, 32(4), 279-295.

Barrera-Necha, L. L., Bautista-Baños, S., Flores-Moctezuma H. E., y Estudillo, A. R. (2008). Efficacy of essential oils on the conidial germination, growth of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc and control of postharvest diseases in papaya (*Carica papaya* L.). *Plant Pathology Journal*, 7(2), 174-178.

Basaid, K., Chebli, B., Mayad, E. H., Furze, J. N., Bouharroud, R., Krier, F. y Paulitz, T. (2021). Biological activities of essential oils and lipopeptides applied to control plant pests and diseases: A review. *International Journal of Pest Management*, 67(2), 155-177.

Bautista-Baños, S., Bosquez-Molina, E., y Barrera-Necha, L. L. (2014). *Rhizopus stolonifer* (soft rot). In *Postharvest decay* (pp. 1-44). Academic Press.

Bordoh, P. K., Ali, A., Dickinson, M., Siddiqui, Y., y Romanazzi, G. (2020). A review on the management of postharvest anthracnose in dragon fruits caused by *Colletotrichum* spp. *Crop Protection*, 130, 105067.

Bosquez-Molina, E., Ronquillo-de Jesús, E., Bautista-Baños, S., Verde-Calvo, J. R., y Morales-López, J. (2010). Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 57(2), 132-137.

-
- Boubaker, H., Karim, H., El Hamdaoui, A., Msanda, F., Leach, D., Bombarda, I. y Aoumar, A. A. B. (2016). Chemical characterization and antifungal activities of four *Thymus* species essential oils against postharvest fungal pathogens of citrus. *Industrial Crops and Products*, 86, 95-101.
- Boukhatem, M. N., Boumaiza, A., Nada, H. G., Rajabi, M., y Mousa, S. A. (2020). *Eucalyptus globulus* essential oil as a natural food preservative: Antioxidant, antibacterial and antifungal properties *in vitro* and in a real food matrix (orangina fruit juice). *Applied Sciences*, 10(16), 5581.
- Brandão, R. M., Ferreira, V. R. F., Batista, L. R., Alves, E., Santiago, W. D., Barbosa, R. B. y Cardoso, M. D. G. (2021). Antifungal activity and the effect of the essential oil of *Lippia organoides* on *Aspergillus mycotoxins*. *Australia Journal of Crop Science*, 15, 1005-12.
- Bueno, J., Escobar, P., Martínez, J. R., Leal, S. M., y Stashenko, E. E. (2011). Composition of three essential oils, and their mammalian cell toxicity and antimycobacterial activity against drug resistant-tuberculosis and non-tuberculous mycobacteria strains. *Natural Product Communications*, 6(11), 1934578X1100601143.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253.
- Caballero-Gallardo, K., Olivero-Verbel, J., Nayive, P. B., y Stashenko, E. E. (2014). Chemical composition and bioactivity of *Piper auritum* and *P. multiplinervium* essential oils against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 13(1), 10-19.
- Calvo-Irabien, L. (2012). Plantas aromáticas de Yucatán. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán, México. Pp. 67.
- Calvo-Irabien, L. M., Parra-Tabla, V., Acosta-Arriola, V., Escalante-Erosa, F., Díaz-Vera, L., Dzib, G. R., y Peña-Rodríguez, L. M. (2014). Phytochemical Diversity of the Essential Oils of Mexican Oregano (*Lippia graveolens* Kunth) Populations along an Edapho-Climatic Gradient. *Chemistry & Biodiversity*, 11(7), 1010-1021.

-
- Calvo-Irabien, L. M. (2018). Native Mexican aromatic flora and essential oils: Current research status, gaps in knowledge and agro-industrial potential. *Industrial Crops and Products*, 111, 807-822.
- Canale, A., Benelli, G., Conti, B., Lenzi, G., Flamini, G., Francini, A., y Cioni, P. L. (2013). Ingestion toxicity of three Lamiaceae essential oils incorporated in protein baits against the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera Tephritidae). *Natural Product Research*, 27(22), 2091-2099.
- Cárdenas-Laverde, D., Barbosa-Cornelio, R., y Coy-Barrera, E. (2021). Antifungal activity against *Fusarium oxysporum* of botanical end-products: an integration of chemical composition and antifungal activity datasets to identify antifungal bioactives. *Plants*, 10(12), 2563.
- Carovic-Stanko K., Orlic´ S., Politeo O., Strikic´ F., Kolak I., Milos M., y Satovic Z. (2010). Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum* taxa. *Food Chemistry*, 119(1), 196–201.
- Carrasco, H., Raimondi, M., Svetaz, L., Liberto, M. D., Rodriguez, M. V., Espinoza, L. y Zacchino, S. (2012). Antifungal activity of eugenol analogues. Influence of different substituents and studies on mechanism of action. *Molecules*, 17(1), 1002-1024.
- Carreño, H., Stashenko, E. E., y Escobar, P. (2023). Essential oils distilled from colombian aromatic plants and their constituents as penetration enhancers for transdermal drug delivery. *Molecules*, 28(6), 2872.
- Carris, L. M., Little, C. R. Stiles, y C. M. (2012). Introduction to Fungi. *The Plant Health Instructor*, 35, 65-78.
- Chacón, C., Bojórquez-Quintal, E., Caamal-Chan, G., Ruíz-Valdiviezo, V. M., Montes-Molina, J. A., Garrido-Ramírez, E. R. y Ruiz-Lau, N. (2021). *In vitro* antifungal activity and chemical composition of *Piper auritum* kunth essential oil against *Fusarium oxysporum* and *Fusarium equiseti*. *Agronomy*, 11(6), 1098.
- Chaudhari, A. K., Singh, V. K., Dwivedy, A. K., Das, S., Upadhyay, N., Singh, A., y Dubey, N. K. (2018). Chemically characterised *Pimenta dioica* (L.) Merr. essential oil as a novel plant-based antimicrobial against fungal and aflatoxin B1 contamination of stored maize and its possible mode of action. *Natural product research*, 34(5), 745-749.

-
-
- Chen, X., Zhu, C., Na, Y., Ren, D., Zhang, C., He, Y., y Zhu, P. (2021). Compartmentalization of melanin biosynthetic enzymes contributes to self-defense against intermediate compound scytalone in *Botrytis cinerea*. *Microbiology*, 12(2), 10-1128.
- Cheng, Y. J., Wu, Y. J., Lee, F. W., Ou, L. Y., Chen, C. N., Chu, Y. Y., y Kuan, Y. C. (2022). Impact of storage condition on chemical composition and antifungal activity of pomelo extract against *Colletotrichum gloeosporioides* and anthracnose in post-harvest mango. *Plants*, 11(5), 2064.
- Chung, N. T., Huong, L. T., Dai, D. N., y Ogunwande, I. A. (2020). Chemical compositions of essential oils and antimicrobial activity of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae) from Vietnam. *European Journal of Medicinal Plants*, 31(8), 114-123.
- CICY (2024). Flora de la península de Yucatán: *Croton yucatanensis*. Obtenido de: https://www.cicy.mx/sitios/flora%20digital/ficha_virtual.php?especie=1356 [Acceso 03 de diciembre de 2024].
- Cid-Pérez, T. S., Torres-Muñoz, J. V., Nevárez-Moorillón, G. V., Palou, E., y López-Malo, A. (2016). Chemical characterization and antifungal activity of *Poliomintha longiflora* Mexican oregano. *Journal of Essential Oil Research*, 28(2), 157-165.
- Ciofini, A., Negrini, F., Baroncelli, R., y Baraldi, E. (2022). Management of post-harvest anthracnose: current approaches and future perspectives. *Plants*, 11(14), 1856.
- COEPRIS. (2017). Cloratonil. Obtenido de: <https://coepris.michoacan.gob.mx/wp-content/uploads/2017/11/ANEXO-1-Hojas-de-Datos-1.pdf> [Acceso 13 de mayo de 2023]
- Combrinck, S., Regnier, T., y Kamatou, G. P. (2011). *In vitro* activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. *Industrial Crops and Products*, 33(2), 344-349.
- Cortés-Rivera, H. J., González-Estrada, R. R., Huerta-Ocampo, J. Á., Blancas-Benítez, F. J., y Gutiérrez-Martínez, P. (2022). Evaluación de quitosano comercial y extractos acuosos de mesocarpio de coco (*Cocos nucifera* L.) para el control de *Rhizopus stolonifer* aislado de guanábana (*Annona muricata* L.): Pruebas *in vitro*. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 24 (1).

-
- Cruz-Cerino, P., Cristóbal-Alejo, J., Ruiz-Carrera, V., y Gamboa-Angulo, M. (2023). Plant extracts from the Yucatan peninsula in the in vitro control of *Curvularia lunata* and antifungal effect of *Mosannonna depressa* and *Piper neesianum* extracts on postharvest fruits of Habanero Pepper. *Plants*, 12(16), 2908.
- Cueto-Wong, M. C., Rivas-Morales, C., Alanís-Guzmán, M. G., Oranday-Cárdenas, A., Amaya-Guerra, C. A., Núñez-González, A. y Cano-Ríos, P. (2010). Antifungal properties of essential oil of mexican oregano (*Lippia berlandieri*) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Revista mexicana de micología*, 31, 29-35.
- da Silva, M. E. T. D., Monte, A. L. D. S., Damaceno, M. N., Braga, R. C., Coimbra, J. S. D. R., Ramanathan, S., y Almeida, F. A. D. (2022). Extraction, chemical composition and *in vitro* antibacterial activity of the essential oil of *Lippia origanoides* kunth from northeast brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 65, e22210480.
- da Silva, P. P. M., de Oliveira, J., dos Mares Biazotto, A., Parisi, M. M., da Glória, E. M., y Spoto, M. H. F. (2020). Essential oils from *Eucalyptus staigeriana* F. Muell. ex Bailey and *Eucalyptus urograndis* W. Hill ex Maiden associated to carboxymethylcellulose coating for the control of *Botrytis cinerea* Pers. Fr. and *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. in strawberries. *Industrial Crops and Products*, 156, 112884.
- Damasceno, E. T. S., Almeida, R. R., de Carvalho, S. Y. B., de Carvalho, G. S. G., Mano, V., Pereira, A. C., y de Lima Guimaraes, L. G. (2018). *Lippia origanoides* Kunth. essential oil loaded in nanogel based on the chitosan and ρ -coumaric acid: Encapsulation efficiency and antioxidant activity. *Industrial Crops and Products*, 125, 85-94.
- Dantas, A., Nascimento, S., Cruz, B., Silva, D., Ambrósio, M., y Senhor, F. (2018). Alternative control of post-harvest diseases in papaya. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 48, 29-35.
- de Barros, D. B., de Oliveira, L., Silva, L. A., Fonseca, M. C., Diniz-Neto, H., da Silva Rocha, W. P., y da Silva, M. V. (2022). Efeito antifúngico de α -pineno isolado e em associação com antifúngicos frente às cepas de *Candida albicans*. *Research, Society and Development*, 11(4), e58711427748.
- de Barros, D. B., e Lima, L. D. O., da Silva, L. A., Fonseca, M. C., Ferreira, R. C., Neto, H. D. y da Silva, M. V. (2023). α -Pinene: docking study, cytotoxicity, mechanism of action, and anti-biofilm effect against *Candida albicans*. *Antibiotics*, 12(3), 123.

-
- de Oliveira, T. S., Costa, A. M. M., Cabral, L. M. C., Freitas-Silva, O., Rosenthal, A., y Tonon, R. V. (2023). Anthracnose controlled by essential oils: are nanoemulsion-based films and coatings a viable and efficient technology for tropical fruit preservation? *Foods*, 12(2), 279.
- Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D. y Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414-430.
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., y Mnif, W. (2016). Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Medicines*, 3(4), 25.
- Dimić, G., Kocić-Tanackov, S., Mojović, L., y Pejin, J. (2015). Antifungal activity of lemon essential oil, coriander and cinnamon extracts foodborne molds in direct contact and the vapor phase. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 1778-1787.
- Du, H., Sun, X., Bian, X., Zhang, W., Xie, J., Zhu, Z., y Wen, Y. (2023). pH and amylase dual stimuli-responsive electrospinning membrane for smart releasing thymol to control melon *Rhizopus stolonifer*. *Chemical Engineering Journal*, 471, 144473
- Duan, W. Y., Zhu, X. M., Zhang, S. B., Lv, Y. Y., Zhai, H. C., Wei, S. y Hu, Y. S. (2024). Antifungal effects of carvacrol, the main volatile compound in *Origanum vulgare* L. essential oil, against *Aspergillus flavus* in postharvest wheat. *International Journal of Food Microbiology*, 410, 110514.
- Dunan, L., Malanga, T., Benhamou, S., Papaiconomou, N., Desneux, N., Lavoit, A. V., y Michel, T. (2023). Effects of essential oil-based formulation on biopesticide activity. *Industrial Crops and Products*, 202, 117006.
- Dutta, S., Kundu, A., Saha, S., Prabhakaran, P., y Mandal, A. (2020). Characterization, antifungal properties and in silico modelling perspectives of *Trachyspermum ammi* essential oil. *LWT – Food Science and Technology*, 131, 109786.
- Edris, A. E., y Farrag, E. S. (2003). Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase. *Foods*, 47(2), 117-121.

El Enshasy, H. A. (2022). Fungal morphology: a challenge in bioprocess engineering industries for product development. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 35, 100729.

EPA. (2023). Ingredients Used in Pesticide Products: Pesticides. What Are Biopesticides? Obtenido de: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/what-are-biopesticides> [Acceso 13 de abril de 2024].

Esmaeili, Y., Paidari, S., Baghbaderani, S. A., Nateghi, L., Al-Hassan, A. A., y Ariffin, F. (2022). Essential oils as natural antimicrobial agents in postharvest treatments of fruits and vegetables: A review. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 30, 1-16.

Falleh, H., Jemaa, M. B., Saada, M., y Ksouri, R. (2020). Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. *Food Chemistry*, 330, 127268.

FAO. (2013). Save Food: Seeking end to loss and waste of food along production chain. Obtenido de: <https://www.fao.org/partnerships/news-archive/news-article/es/c/210839/> [Acceso 24 de mayo de 2024].

FAO. (2022). Major Tropical Fruits - Statistical Compendium 2021. Rome. Pp. 103.

Figueiredo, P. L. B., Silva, S. G., Nascimento, L. D., Ramos, A. R., Setzer, W. N., da Silva, J. K. R., y Andrade, E. H. A. (2018). Seasonal study of methyleugenol chemotype of *Ocimum campechianum* essential oil and its fungicidal and antioxidant activities. *Natural Product Communications*, 13(8), 1934578X1801300833.

Filho, J. G. S., Xavier, H. S., Filho, J. M. B., & Durringer, J. M. (2010). A chemical marker proposal for the *Lantana* genus: composition of the essential oils from the leaves of *Lantana radula* and *L. canescens*. *Natural Product Communications*, 5(4), 1934578X1000500429.

Gakuubi, M. M., Maina, A. W., y Wagacha, J. M. (2017). Antifungal activity of essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. against selected *Fusarium* spp. *International Journal of Microbiology*, 2017(1), 8761610.

Gañán, L., Álvarez, E., y Castaño-Zapata, J. (2015). Identificación genética de ais-lamientos de *Colletotrichum* spp. causantes de antracnosis en frutos de aguacate, banano, mango y tomate de árbol. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 39(152), 339-347.

-
- García-Rubio, R., de Oliveira, H. C., Rivera, J., y Trevijano-Contador, N. (2020). The fungal cell wall: *Candida*, *Cryptococcus*, and *Aspergillus* species. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2993.
- Germosen-Robineau, L. (2014). Farmacopea vegetal caribeña. Mérida: Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY). Pp. 89.
- Gómez-Sánchez, A., Palou, E., y López-Malo, A. (2011). Antifungal activity evaluation of Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) essential oil on the growth of *Aspergillus flavus* by gaseous contact. *Journal of Food Protection*, 74(12), 2192-2198.
- Goñi, P., López, P., Sánchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril, R., y Nerín, C. (2009). Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry*, 116(4), 982-989.
- Gow, N. A., y Lenardon, M. D. (2023). Architecture of the dynamic fungal cell wall. *Nature Reviews Microbiology*, 21(4), 248-259.
- Gupta, I., Singh, R., Muthusamy, S., Sharma, M., Grewal, K., Singh, H. P., y Batish, D. R. (2023). Plant essential oils as biopesticides: Applications, mechanisms, innovations, and constraints. *Plants*, 12(16), 2916.
- Gutiérrez, D. (2024). Antifungal activity of *Peperomia subspathulata* Yunck against three phytopathogenic fungi: *Aspergillus*, *Botrytis*, and *Penicillium* species. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 18(1), 32.
- Hernandes, C., Pina, E. S., Taleb-Contini, S. H., Bertoni, B. W., Cestari, I. M., Espanha, L. G. y Pereira, A. M. S. (2017). *Lippia origanoides* essential oil: an efficient and safe alternative to preserve food, cosmetic and pharmaceutical products. *Journal of Applied Microbiology*, 122(4), 900-910.
- Herrera-González, J. A., Bautista-Baños, S., Salazar-García, S., y Gutiérrez-Martínez, P. (2020). Situación actual del manejo poscosecha y de enfermedades fungosas del aguacate 'Hass' para exportación en Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(7), 1647-1660.

-
-
- Hong, J. K., Yang, H. J., Jung, H., Yoon, D. J., Sang, M. K., y Jeun, Y. C. (2015). Application of volatile antifungal plant essential oils for controlling pepper fruit anthracnose by *Colletotrichum gloeosporioides*. *The Plant Pathology Journal*, 31(3), 269.
- Hua, H., Xing, F., Selvaraj, J. N., Wang, Y., Zhao, Y., Zhou, L., y Liu, Y. (2014). Inhibitory effect of essential oils on *Aspergillus ochraceus* growth and ochratoxin A production. *PLoS One*, 9(9), e108285.
- Huang, X., Liu, T., Zhou, C., Huang, Y., Liu, X., y Yuan, H. (2021). Antifungal activity of essential oils from three *Artemisia* species against *Colletotrichum gloeosporioides* of mango. *Antibiotics*, 10(11), 1331.
- Hyltdgaard, M., Mygind, T., y Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in microbiology*, 3, 12.
- Iguarán, E. J. C., y Alzate, O. A. T. (2014). Hallazgos de la biosíntesis del etileno en frutas climatéricas y de los factores que afectan la ruta metabólica. *Alimentos Hoy*, 22(31), 46-63.
- Jenny, F., Sultana, N., Islam, M., Khandaker, M. M., y Bhuiyan, M. A. B. (2019). A review on anthracnose of mango caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Bangladesh J. Plant Phytopathol*, 35, 65-74.
- Joseph, B. C., Duniya, S. V., y Sokoato, M. I. (2020). Characterization of essential oils from *Hyptis suaveolens* leaves by gas chromatography-mass spectroscopy and fourier transform infra-red spectroscopy. *International Journal of Molecular Biology*, 5(3), 125-133.
- Junor, G. A. O., Porter, R. B., y Yee, T. H. (2008). The chemical composition of the essential oils from the leaves, bark and fruits of *Bursera simaruba* (L.) Sarg. from Jamaica. *Journal of Essential Oil Research*, 20(5), 426-429.
- Kahramanoğlu, İ., Panfilova, O., Kesimci, T. G., Bozhüyük, A. U., Gürbüz, R., y Alptekin, H. (2022). Control of postharvest gray mold at strawberry fruits caused by *Botrytis cinerea* and improving fruit storability through *Origanum onites* L. and *Ziziphora clinopodioides* L. volatile essential oils. *Agronomy*, 12(2), 389.

-
- Kalemba, D. A. A. K., y Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10(10), 813-829.
- Kamle, M., y Kumar, P. (2016). Colletotrichum gloeosporioides: Pathogen of anthracnose disease in mango (*Mangifera indica* L.). *Current Trends in Plant Disease Diagnostics and Management Practices*, 207-219.
- Khalid, S., Mohamed, B., Mhamed, R., Tariq, B. E. D., y Laila, N. (2015). Antifungal potential of the seed and Leaf *Foeniculum vulgare* Mill essential oil in liquid and vapor phase against phytopathogenic fungi. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(11), 050-054.
- Kiran, S., Kujur, A., y Prakash, B. (2016). Assessment of preservative potential of *Cinnamomum zeylanicum* Blume essential oil against food borne molds, aflatoxin B1 synthesis, its functional properties and mode of action. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 37, 184-191.
- Kohiyama, C. Y., Ribeiro, M. M. Y., Mossini, S. A. G., Bando, E., da Silva Bomfim, N., Nerilo, S. B., y Machinski Jr, M. (2015). Antifungal properties and inhibitory effects upon aflatoxin production of *Thymus vulgaris* L. by *Aspergillus flavus* Link. *Food Chemistry*, 173, 1006-1010.
- Kong, J., Zhang, Y., Ju, J., Xie, Y., Guo, Y., Cheng, Y. y Yao, W. (2019). Antifungal effects of thymol and salicylic acid on cell membrane and mitochondria of *Rhizopus stolonifer* and their application in postharvest preservation of tomatoes. *Food Chemistry*, 285, 380-388.
- Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M., y Mete, E. (2008). Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource technology*, 99(18), 8788-8795.
- Krause, S. T., Liao, P., Crocoll, C., Boachon, B., Förster, C., Leidecker, F. y Degenhardt, J. (2021). The biosynthesis of thymol, carvacrol, and thymohydroquinone in Lamiaceae proceeds via cytochrome P450s and a short-chain dehydrogenase. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 118(52), e2110092118.
- Kritzinger, Q., y Dethoup, T. (2024). Botanical pesticides for crop protection. *European Journal of Plant Pathology*, 170(4), 709-710.

-
- Kumar, A., y Kudachikar, V. B. (2018). Antifungal properties of essential oils against anthracnose disease: A critical appraisal. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 125, 133-144.
- Kumar, J., Ramlal, A., Mallick, D., y Mishra, V. (2021). An overview of some biopesticides and their importance in plant protection for commercial acceptance. *Plants*, 10(6), 1185.
- Kwon, J. H., y Lee, C. J. (2006). Rhizopus soft rot on pear (*Pyrus serotina*) caused by Rhizopus stolonifer in Korea. *Mycobiology*, 34(3), 151-153.
- Laird, K., y Phillips, C. (2012). Vapour phase: a potential future use for essential oils as antimicrobials? *Letters in Applied Microbiology*, 54(3), 169-174.
- Lam-Gutiérrez, A., Ayora-Talavera, T., Garrido-Ramírez, E. R., Ruíz-Valdiviezo, V. M., Guzmán-Albores, J. M., y Cristóbal-Alejo, J. (2024). Chemical composition and antifungal activity of essential oils extracted from *Pimenta dioica* and *Piper auritum* leaves grown in Mexico. *Cogent Food y Agriculture*, 10(1), 2356935.
- Leal, A. L. A. B., Braga, A. L., de Araújo Barbosa, B., Rodrigues, A. M. X., de Carvalho Teixeira, F. A. F., da Silva, K. M. R., y de Medeiros, M. D. G. F. (2019). Antimicrobial action of essential oil of *Lippia origanoides* HBK. *Journal of Clinical Microbiology and Biochemical Technology*, 5(1), 007-012.
- Li, Y., Wang, Y., Kong, W., Yang, S., Luo, J., y Yang, M. (2020). *Illicium verum* essential oil, a potential natural fumigant in preservation of lotus seeds from fungal contamination. *Food and Chemical Toxicology*, 141, 111347.
- Lin, H. J., Lin, Y. L., Huang, B. B., Lin, Y. T., Li, H. K., Lu, W. J. y Lin, H. T. V. (2022). Solid-and vapour-phase antifungal activities of six essential oils and their applications in postharvest fungal control of peach (*Prunus persica* L. Batsch). *LWT – Food Science and Technology*, 156, 113031.
- Lisboa, C. F., Melo, E. C., Demuner, A. J., da Silva, L. C., Carneiro, A. P., y Coelho, A. P. F. (2020). Chemical composition of *Lippia origanoides* Kunt. and *Ocimum gratissimum* L. essential oils stored at- 20° C. *Industrial Crops and Products*, 151, 112485.
- Liu, B., Xin, Q., Zhang, M., Chen, J., Lu, Q., Zhou, X. y Sun, J. (2022). Research progress on mango post-harvest ripening physiology and regulatory technologies. *Foods*, 12(1), 173.

-
- Liu, Q., Chen, Q., Liu, H., Du, Y., Jiao, W., Sun, F., y Fu, M. (2024). *Rhizopus stolonifer* and related control strategies in postharvest fruit: A review. *Heliyon*, 45, 34-39.
- Liu, X., Wang, L. P., Li, Y. C., Li, H. Y., Yu, T., y Zheng, X. D. (2009). Antifungal activity of thyme oil against *Geotrichum citri-aurantii* *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Applied Microbiology*, 107(5), 1450-1456.
- Llamas-Torres, I., Grijalva-Arango, R., Porter-Bolland, L., y Calvo-Irabien, L. M. (2022). Impact of the *in situ-ex situ* management of Mexican oregano *Lippia origanoides* Kunth in northwestern Yucatan. *Botanical Sciences*, 100(3), 610-630.
- Lu, M., Han, Z., Xu, Y., y Yao, L. (2013). Effects of essential oils from Chinese indigenous aromatic plants on mycelial growth and morphogenesis of three phytopathogens. *Flavour and Fragrance Journal*, 28(2), 84-92.
- Majolo, C., da Rocha, S. I. B., Chagas, E. C., Chaves, F. C. M., y Bizzo, H. R. (2017). Chemical composition of *Lippia* spp. essential oil and antimicrobial activity against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Research*, 48(5), 2380-2387.
- Malele, R. S., Mutayabarwa, C. K., Mwangi, J. W., Thoithi, G. N., Lopez, A. G., Lucini, E. I., y Zygadlo, J. A. (2003). Essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. from Tanzania: Composition and antifungal activity. *Journal of Essential Oil Research*, 15(6), 438-440.
- Mani-López, E., Cortés-Zavaleta, O., y López-Malo, A. (2021). A review of the methods used to determine the target site or the mechanism of action of essential oils and their components against fungi. *SN Applied Sciences*, 3(1), 44.
- Manssouri, M., Znini, M., El Harrak, A., y Majidi, L. (2016). Antifungal activity of essential oil from the fruits of *Ammodaucus leucotrichus* Coss. y Dur., in liquid and vapour phase against postharvest phytopathogenic fungi in apples. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(5), 131-136.
- Marrone, P. G. (2019). Pesticidal natural products—status and future potential. *Pest Management Science*, 75(9), 2325-2340.
- Martínez-Blay, V., Pérez-Gago, M. B., de la Fuente, B., Carbó, R., y Palou, L. (2020). Edible coatings formulated with antifungal GRAS salts to control citrus anthracnose caused by

Colletotrichum gloeosporioides and preserve postharvest fruit quality. *Coatings*, 10(8), 730.

Masyita, A., Sari, R. M., Astuti, A. D., Yasir, B., Rumata, N. R., Emran, T. B. y Simal-Gandara, J. (2022). Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chemistry*, 13, 100217.

Maurya, A., Prasad, J., Das, S., y Dwivedy, A. K. (2021). Essential oils and their application in food safety. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 653420.

Mejía-Garibay, B., Palou, E., y Pez-Malo, A. L. (2015). Composition, diffusion, and antifungal activity of black mustard (*Brassica nigra*) essential oil when applied by direct addition or vapor phase contact. *Journal of Food Protection*, 78(4), 843-848.

Méndez-González, M., Argáez, B., Euan, D., Muñoz, T., y Luiscoaut, J. (2012). Flora medicinal de los mayas peninsulares. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán, México, pp. 450.

Menezes, P. M. N., Brito, M. C., de Paiva, G. O., Dos Santos, C. O., de Oliveira, L. M., de Araújo Ribeiro, L. A. y Silva, F. S. (2018). Relaxant effect of *Lippia origanoides* essential oil in guinea-pig trachea smooth muscle involves potassium channels and soluble guanylyl cyclase. *Journal of Ethnopharmacology*, 220, 16-25.

Mesa, V. A. M., Marín, P., Ocampo, O., Calle, J., y Monsalve, Z. (2019). Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. *Revista de investigaciones agropecuarias*, 45(1), 23-30.

Mezzomo, P., Sausen, T. L., Paroul, N., Roman, S. S., Mielniczki, A. A. P., y Cansian, R. L. (2019). Antifungal activity of *Ocotea odorifera* (Vell.) Rowher, *Ocotea puberula* (rich.) Nees and *Cinnamodendron dinisii* Schwanke essential oils. *BioRxiv*, 859272.

Mi, T., Luo, D., Li, J., Qu, G., Sun, Y., y Cao, S. (2023). Carvacrol exhibits direct antifungal activity against stem-end rot disease and induces disease resistance to stem-end rot disease in kiwifruit. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 127, 102065.

-
- Mohammadi, S., Aroiee, H., Aminifard, M. H., Tehranifar, A., y Jahanbakhsh, V. (2014). Effect of fungicidal essential oils against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* rot fungus *in vitro* conditions. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 47(13), 1603-1610.
- Monzote, L., García, M., Montalvo, A. M., Scull, R., y Miranda, M. (2010). Chemistry, cytotoxicity and antileishmanial activity of the essential oil from *Piper auritum*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 105, 168-173.
- Moo-Koh, F. A., Cristóbal Alejo, J., Reyes-Ramírez, A., Tun-Suárez, J. M., Sandoval-Luna, R., y Ramírez-Pool, J. A. (2014). Actividad *in vitro* del extracto acuoso del *Bonellia flammea* contra hongos fitopatógenos. *Agrociencia*, 48(8), 833-845.
- Moo-Koh, F. A., Cristóbal-Alejo, J., Tun-Suárez, J. M., Medina-Baizabal, I. L., Arjona-Cruz, A. A., & Gamboa-Angulo, M. (2022). Activity of aqueous extracts from native plants of the Yucatan Peninsula against fungal pathogens of tomato *in vitro* and from *Croton chichenensis* against *Corynespora cassiicola* on tomato. *Plants*, 11(21), 2821.
- Moreira, A. C. P., Lima, E. D. O., Wanderley, P. A., Carmo, E. S., y Souza, E. L. D. (2010). Chemical composition and antifungal activity of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit leaves essential oil against *Aspergillus* species. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 28-33.
- Namiota, M., y Bonikowski, R. (2021). The current state of knowledge about essential oil fumigation for quality of crops during postharvest. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(24), 13351.
- Naserzadeh, Y., Mahmoudi, N., y Pakina, E. (2019). Antipathogenic effects of emulsion and nanoemulsion of cinnamon essential oil against *Rhizopus* rot and grey mold on strawberry fruits. *Foods and Raw materials*, 7(1), 210-216.
- Naturalist (2024a). *Bursera simaruba*. Obtenido de: <https://mexico.inaturalist.org/photos/116223724> [Acceso 03 de diciembre de 2024].
- Naturalist (2024b). *Bursera simaruba*. Obtenido de: <https://mexico.inaturalist.org/photos/1709197> [Acceso 03 de diciembre de 2024].
- Naturalist (2024c). *Lantana hirta*. Obtenido de: <https://mexico.inaturalist.org/photos/88440785> [Acceso 03 de diciembre de 2024].
-

-
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., y De Feo, V. (2017). Essential oils and antifungal activity. *Pharmaceuticals*, 10(4), 86.
- Niño-Vega, G. (2021). La pared celular de hongos patógenos: su importancia en la supervivencia del hongo y el establecimiento de las infecciones fúngicas. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 41(1 y 2), 5-11.
- Nogueira, J. H., Gonçalves, E., Galleti, S. R., Facanali, R., Marques, M. O., y Felício, J. D. (2010). *Ageratum conyzoides* essential oil as aflatoxin suppressor of *Aspergillus flavus*. *International Journal of Food Microbiology*, 137(1), 55-60.
- Noriega-Rivera, P. F., Larenas Uría, C. F., Chasipanta Ronquillo, E. C., Chicaiza Galarza, T. S., y Ibarra Martínez, M. V. (2018). Antioxidant potential of five essential oils from kutukú biological station. *Pharmacologyonline*, 3, 161-169.
- Nostro, A., Scaffaro, R., D'Arrigo, M., Botta, L., Filocamo, A., Marino, A., y Bisignano, G. (2012). Study on carvacrol and cinnamaldehyde polymeric films: mechanical properties, release kinetics and antibacterial and antibiofilm activities. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96, 1029-1038.
- Nuruzzaman, M., Liu, Y., Rahman, M. M., Dharmarajan, R., Duan, L., Uddin, A. F. M. J., y Naidu, R. (2019). Nanobiopesticides: Composition and preparation methods, en: *Nanobiopesticides today and future perspectives*, Academic Press, New Jersey, pp. 69-131.
- Oladipupo, O. A., Avoseh, O. N., Tinubu, O. J., Ogunwande, I. A., Ascrizzi, R., Flamini, G., y Mtunzi, F. M. (2020). Anti-nociceptive Property, Anti-inflammatory Activity and Constituents of Essential Oils from the Leaves and Stem Bark of *Turnera diffusa* Wild (Passifloraceae) Growing in Nigeria. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 10(6), 473-483.
- Oliveira, J., Parisi, M. C. M., Baggio, J. S., Silva, P. P. M., Paviani, B., Spoto, M. H. F., y Gloria, E. M. D. (2019). Control of *Rhizopus stolonifer* in strawberries by the combination of essential oil with carboxymethylcellulose. *International Journal of Food Microbiology*, 292, 150-158.

-
- Oliveira-Filho, J. G., Silva, G., Egea, M. B., de Azeredo, H. M. C., y Ferreira, M. D. (2021). Essential oils as natural fungicides to control *Rhizopus stolonifer*-induced spoiled of strawberries. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(5), 13244-13251.
- Olunusi, S. O., Ramli, N. H., Fatmawati, A., Ismail, A. F., y Okwuwa, C. C. (2024). Revolutionizing tropical fruits preservation: Emerging edible coating technologies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 13, 130682.
- Ondarza-Beneitez, M. A. (2017). Biopesticidas: tipos y aplicaciones en el control de plagas agrícolas. *Agro productividad*, 10(3), 32.
- Páez-Redondo, A., Prusky, D., y Hoyos-Carvajal, L. (2022). Quiescence as a strategic stage for the infective process of *Colletotrichum* species. *Revista UDCA Actualidad y Divulgación Científica*, 25(2), 13-17.
- Palou, L. (2023). Enfermedades de poscosecha de fruta fresca y métodos de control no contaminantes. In IV Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha. Pp 62.
- Parikh, L., Agindotan, B. O., y Burrows, M. E. (2021). Antifungal activity of plant-derived essential oils on pathogens of pulse crops. *Plant Disease*, 105(6), 1692-1701.
- Pascoe, M. J., y Maillard, J. Y. (2021). The role of melanin in *Aspergillus* tolerance to biocides and photosensitizers. *Letters in Applied Microbiology*, 72(4), 375-381.
- Paudel, A., Poudel, P., y Yogi, M. (2022). Insights on the mango anthracnose and its management. *Journal of Plant Pathology*, 4, 81-90.
- Pavela, R., y Benelli, G. (2016). Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. *Trends in Plant Science*, 21(12), 1000-1007.
- Pei, S., Liu, R., Gao, H., Chen, H., Wu, W., Fang, X., y Han, Y. (2020). Inhibitory effect and possible mechanism of carvacrol against *Colletotrichum fructicola*. *Postharvest Biology and Technology*, 163, 111126.
- Peralta-Bohórquez, A. F., Quijano-Célis, C., Gaviria, M., Vanegas-López, C., y Pino, J. A. (2011). Essential oil from leaves of *Lantana canescens* and *L. lopez-palacii* grown in Colombia. *Natural Product Communications*, 6(2), 1934578X1100600223.

-
- Peralta-Ruiz, Y., Rossi, C., Grande-Tovar, C. D., y Chaves-López, C. (2023). Green management of postharvest anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Journal of Fungi*, 9(6), 623.
- Pérez, A., Rojas, J., Chamorro, L., y Pérez, K. (2011). Evaluación de la actividad antifúngica de *Melia azederach* sobre aislados de *Colletotrichum* spp. *Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA*, 3(2), 309-320.
- Perumal, A. B., Sellamuthu, P. S., Nambiar, R. B., y Sadiku, E. R. (2016). Antifungal activity of five different essential oils in vapour phase for the control of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Lasiodiplodia theobromae* *in vitro* and on mango. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(2), 411-418.
- Perumal, A. B., Nambiar, R. B., Sellamuthu, P. S., y Emmanuel, R. S. (2021). Use of modified atmosphere packaging combined with essential oils for prolonging post-harvest shelf life of mango (cv. Banganapalli and cv. Totapuri). *LWT Food Science and Technology*, 148, 111662.
- Pham, T. T., Nguyen, L. L. P., Dam, M. S., y Baranyai, L. (2023). Application of edible coating in extension of fruit shelf life. *AgriEngineering*, 5(1), 520-536.
- Pineda, M. R., Vizcaíno P, S., García P, C. M., Gil G, J. H., y Durango R, D. L. (2012). Chemical composition and antifungal activity of *Piper auritum* Kunth and *Piper holtonii* C. DC. against phytopathogenic fungi. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72(4), 507-515.
- Pineda, R., Vizcaíno, S., García, C. M., Gil, J. H., y Durango, D. (2018). Antifungal activity of extracts, essential oil and constituents from *Petroselinum crispum* against *Colletotrichum acutatum*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 71(3), 8563-8572.
- Pineda-Alegría, J. A., Peña-Rodríguez, L. M., Cardoso-Taketa, A., Sánchez, J. E., de Jesús Torres-Acosta, J. F., Hernández-Bolio, G. I. y Aguilar-Marcelino, L. (2024). 1H-NMR metabolomic study of the mushroom *Pleurotus djamor* for the identification of nematocidal compounds. *Pharmaceuticals*, 17(5), 580.
- Portillo-Ruiz, M. C., Viramontes-Ramos, S., Muñoz-Castellanos, L. N., Gastélum-Franco, M. G., y Nevárez-Moorillón, G. V. (2005). Antifungal activity of Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Shauer). *Journal Of Food Protection*, 68(12), 2713-2717.

-
- Poudel, D. K., Rokaya, A., Ojha, P. K., Timsina, S., Satyal, R., Dosoky, N. S. y Setzer, W. N. (2021). The chemical profiling of essential oils from different tissues of *Cinnamomum camphora* L. and their antimicrobial activities. *Molecules*, 26(17), 5132.
- Powers, C. N., Satyal, P., Mayo, J. A., McFeeters, H., y McFeeters, R. L. (2019). Bigger data approach to analysis of essential oils and their antifungal activity against *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, and *Cryptococcus neoformans*. *Molecules*, 24(16), 2868.
- Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. (2024) Los ODS en acción. Obtenido de: <https://www.undp.org/es/sustainable-development-goals> [Acceso 28 de mayo de 2024].
- Rabari, V. P., Chudashama, K. S., y Thaker, V. S. (2018). *In vitro* screening of 75 essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides*: a causal agent of anthracnose disease of mango. *International Journal of Fruit Science*, 18(1), 1-13.
- Ramos-Guerrero, A., González-Estrada, R. R., Hanako-Rosas, G., Bautista-Baños, S., Acevedo-Hernández, G., Tiznado-Hernández, M. E., y Gutiérrez-Martínez, P. (2018). Use of inductors in the control of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* isolated from soursop fruits: *in vitro* tests. *Food Science and Biotechnology*, 27, 755-763.
- Rattanachaiakunsopon, P., y Phumkhachorn, P. (2010). Assessment of factors influencing antimicrobial activity of carvacrol and cymene against *Vibrio cholerae* in food. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 110, 614–619.
- Raveau, R., Fontaine, J., y Lounès-Hadj Sahraoui, A. (2020). Essential oils as potential alternative biocontrol products against plant pathogens and weeds: A review. *Foods*, 9(3), 365.
- Ravelo-Martínez, S. A., Rodríguez Melendez, V. I., Rosero Rosero, J. C., Stashenko, E., y Tafurt-García, G. (2024). Volatile metabolites, antioxidants and biological activities of *Bursera simaruba* (L.) Sarg. essential oil, from the tropical dry forest, Cesar, Colombian Caribbean Region. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 14(1), 51-63.
- Reyes, A., y Morales, J.L. (2007). Determinación de la temperatura óptima de desarrollo *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. en aguacate “Hass”, en la zona aguacatera de Michoacán, México. VI World Avocado Congress (Actas VI Congreso Mundial del Aguacate).

-
- Reyes-Jurado, F., Cervantes-Rincón, T., Bach, H., López-Malo, A., y Palou, E. (2019). Antimicrobial activity of Mexican oregano (*Lippia berlandieri*), thyme (*Thymus vulgaris*), and mustard (*Brassica nigra*) essential oils in gaseous phase. *Industrial Crops and Products*, 131, 90-95.
- Reyes-Jurado, F., Navarro-Cruz, A. R., Ochoa-Velasco, C. E., Palou, E., López-Malo, A., y Ávila-Sosa, R. (2020). Essential oils in vapor phase as alternative antimicrobials: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(10), 1641-1650.
- Rezende, J. L., Fernandes, C. C., Costa, A. O. M., Santos, L. S., Vicente Neto, F., Sperandio, E. M. y Miranda, M. L. D. (2020). Antifungal potential of essential oils from two varieties of *Citrus sinensis* (lima orange and bahia navel orange) in postharvest control of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. *Food Science and Technology*, 40, 405-409.
- Ribeiro, A. F., Andrade, E. H. A., Salimena, F. R. G., y Maia, J. G. S. (2014). Circadian and seasonal study of the cinnamate chemotype from *Lippia organoides* Kunth. *Biochemical Systematics and Ecology*, 55, 249-259.
- Ribeiro, F. P., Santana de Oliveira, M., de Oliveira Feitosa, A., Santana Barbosa Marinho, P., Moacir do Rosario Marinho, A., de Aguiar Andrade, E. H., y Favacho Ribeiro, A. (2021). Chemical composition and antibacterial activity of the *Lippia organoides* Kunth essential oil from the Carajás National Forest, Brazil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021(1), 9930336.
- Rodrigues, C., Souza, V. G. L., Coelho, I., y Fernando, A. L. (2021). Bio-based sensors for smart food packaging—Current applications and future trends. *Sensors*, 21(6), 2148.
- Rodrigues, J. P., de Souza Coelho, C. C., Soares, A. G., y Freitas-Silva, O. (2021). Current technologies to control fungal diseases in postharvest papaya (*Carica papaya* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 36, 102128.
- Rodríguez, A. T., Dávila, J. F. R., Siclán, M. L. S., Vildózola, Á. C., Zamora, F. I. M., y Díaz, A. V. L. (2020). Distribución espacial de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) en aguacate en el Estado de México, México. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(1), 72-81.

-
- Rodríguez, E. J., Saucedo-Hernandez, Y., Heyden, Y. V., Simo-Alfonso, E. F., Ramis-Ramos, G., Lerma-García, M. J. y Herrero-Martínez, J. M. (2013). Chemical analysis and antioxidant activity of the essential oils of three Piperaceae species growing in the central region of Cuba. *Natural Product Communications*, 8(9), 1934578X1300800935.
- Rojo-Báez, I., Álvarez-Rodríguez, B., García-Estrada, R. S., León-Félix, J., Sañudo-Barajas, A., y Allende-Molar, R. (2017). Status of *Colletotrichum* spp. in Mexico: Taxonomy, characterization, pathogenesis, and control. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(3), 549-570.
- Safari, M., Kamaly, A., Hadian, J., y Farzaneh, M. (2011). Inhibition of spore development and mycelial growth of *Rhizopus stolonifer* by essential oil of *Satureja richingeri* from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 23(6), 5-10.
- Salem, E. A., Youssef, K., y Sanzani, S. M. (2016). Evaluation of alternative means to control postharvest *Rhizopus* rot of peaches. *Scientia horticultrae*, 198, 86-90.
- Sameza, M. L., Nguemnang Mabou, L. C., Tchameni, S. N., Boat Bedine, M. A., Tchoumboungang, F., Jazet Dongmo, P. M., y Boyom Fekam, F. (2016). Evaluation of clove essential oil as a mycobiocide against *Rhizopus stolonifer* and *Fusarium solani*, tuber rot causing fungi in yam (*Dioscorea rotundata* Poir.). *Journal of Phytopathology*, 164(7-8), 433-440.
- Sánchez-Hernández, G. R., Villa-Ruano, N., Rubio-Rosas, E., Zarate-Reyes, J. A., Cruz-Durán, R., y Lozoya-Gloria, E. (2018). Chemical constituents and anti-fungal activity of the essential oils from *Lantana hirta* and *Croton ciliatoglandulifer*. *Revista Latinoamericana de Química*, 46(2/3), 17-24.
- Santamaría-Basulto, F. S., Plaza, R. D., Alonso, O. G., Fernández, J. S., y Saavedra, A. L. (2011). Control de dos especies de *Colletotrichum* y su efecto sobre el color y sólidos solubles totales en frutos de papaya Maradol. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 12(1), 19-27.
- Santos-Filho, L. G. D., Reis, R. B., Souza, A. S. Q., Canuto, K. M., BRITO, E. S., Castro, K. N., y Diniz, F. M. (2023). Chemical composition and biological activities of the essential oils from *Lippia alba* and *Lippia organoides*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 95, e20220359.

-
- Sarkhosh, A., Schaffer, B., Vargas, A. I., Palmateer, A. J., Lopez, P., Soleymani, A., y Farzaneh, M. (2018). Antifungal activity of five plant-extracted essential oils against anthracnose in papaya fruit. *Biological Agriculture and Horticulture*, 34(1), 18-26.
- Sarrazin, S. L. F., Bourdineaud, J. P., Maia, J. G. S., Mourão, R. H. V., y Oliveira, R. B. (2024). Antifungal chemosensitization through induction of oxidative stress: A model for control of candidiasis based on the *Lippia origanoides* essential oil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 96(1), e20230532.
- Sarrazin, S. L. F., da Silva, L. A., Oliveira, R. B., Raposo, J. D. A., da Silva, J. K. R., Salimena, F. R. G. y Mourão, R. H. V. (2015). Antibacterial action against food-borne microorganisms and antioxidant activity of carvacrol-rich oil from *Lippia origanoides* Kunth. *Lipids in Health and Disease*, 14, 1-8.
- Savary, S., Ficke, A., Aubertot, J. N., y Hollier, C. (2012). Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. *Food security*, 4(4), 519-537.
- Scariot, F. J., Foresti, L., Delamare, A. P. L., y Echeverrigaray, A. S. (2020). Activity of monoterpenoids on the *in vitro* growth of two *Colletotrichum* species and the mode of action on *C. acutatum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 170, 104698.
- Sellamuthu, P. S., Sivakumar, D., Soundy, P., y Korsten, L. (2013). Essential oil vapours suppress the development of anthracnose and enhance defence related and antioxidant enzyme activities in avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 81, 66-72.
- Setzer, W. N. (2014). Leaf and bark essential oil compositions of *Bursera simaruba* from Monteverde, Costa Rica. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 1, 34-36.
- Shao, X., Cheng, S., Wang, H., Yu, D., y Mungai, C. (2013). The possible mechanism of antifungal action of tea tree oil on *Botrytis cinerea*. *Journal of Applied Microbiology*, 114(6), 1642-1649.
- Shivaprakash, M. R., Appannanavar, S. B., Dhaliwal, M., Gupta, A., Gupta, S., Gupta, A., y Chakrabarti, A. (2011). *Colletotrichum truncatum*: an unusual pathogen causing mycotic keratitis and endophthalmitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(8), 2894-2898.

-
- Siddiqui, T., Sharma, V., Khan, M. U., y Gupta, K. (2024). Terpenoids in Essential Oils: chemistry, classification, and potential impact on human health and industry. *Phytomedicine plus*, 13, 100549.
- Siddiqui, Y., y Ali, A. (2014). *Colletotrichum gloeosporioides* (Anthracnose). In Postharvest Decay. Academic Press. Pp. 366-371.
- Siegwart, M., y Lavoit, A. V. (2022). Botanical pesticides as biocontrol products. In Extended biocontrol. Dordrecht: Springer Netherlands. Pp. 149-160.
- Silva-Trujillo, L., Quintero-Rueda, E., Stashenko, E. E., Conde-Ocazonez, S., Rondón-Villarreal, P., y Ocazonez, R. E. (2022). Essential oils from Colombian plants: Antiviral potential against dengue virus based on chemical composition, *in vitro* and *in silico* analyses. *Molecules*, 27(20), 6844.
- Song, J., Zhang, S., y Lu, L. (2018). Fungal cytochrome P450 protein Cyp51: What we can learn from its evolution, regulons and Cyp51-based azole resistance. *Fungal Biology Reviews*, 32(3), 131-142.
- Sousa, V. I., Parente, J. F., Marques, J. F., Forte, M. A., y Tavares, C. J. (2022). Microencapsulation of essential oils: A review. *Polymers*, 14(9), 1730.
- Souza, R. V., das Graças Cardoso, M., Ferreira, V. R. F., Oliveira, C. D., Alves, M. V. P., Campolina, G. A., y Batista, L. R. (2021). Potencial antifúngico de constituintes de óleos essenciais. *Research, Society and Development*, 10(12), e457101220537.
- Souza, F. S., Mouchrek, A. N., Serra, J. L., Mendonça, C. D. J. S., Borges, K. R. A., Mendonça, S. D. J. R. y Silva, F. C. (2022). *Ocimum campechianum* essential oil: chemical composition and antifungal activity against filamentous fungi: Óleo essencial de *Ocimum campechianum*: composição química e atividade antifúngica frente à fungos filamentosos. *Brazilian Journal of Development*, 8(9), 62056-62073.
- Soylu, E. M., Soyly, S., y Kurt, S. (2006). Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia*, 161, 119-128.

-
- Soylu, S., Yigitbas, H., Soylu, E. M., y Kurt, Ş. (2007). Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Applied Microbiology*, 103(4), 1021-1030.
- Soylu, E. M., Kurt, Ş., & Soylu, S. (2010). *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *International journal of food microbiology*, 143(3), 183-189.
- Stashenko, E., Córdoba, Y., y Martínez, J. R. (2015). Oxygen radical absorption capacity of *Lippia origanoides* (thymol and phellandrene chemotypes) and *Turnera diffusa* essential oils and extracts. *Planta Medica*, 81(16), 32-45.
- Steiner, U., y Oerke, E. C. (2022). A melanin-deficient isolate of *Venturia inaequalis* reveals various roles of melanin in pathogen life cycle and fitness. *Journal of Fungi*, 9(1), 35.
- Suárez-Quiroz, M. L., Mendoza, I., Monroy, J. A., de la Cruz, J., Angulo, O., y González, O. (2013). Aislamiento, identificación y sensibilidad a antifúngicos de hongos fitopatógenos de papaya cv. Maradol (*Carica papaya* L.). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 14(2), 115-124.
- Svircev, A. M., Smith, R. J., Zhou, T., Hernadez, M., Liu, W., & Chu, C. L. (2007). Effects of thymol fumigation on survival and ultrastructure of *Monilinia fructicola*. *Postharvest Biology and Technology*, 45(2), 228-233.
- Sylvestre, M., Longtin, A. P. A., y Legault, J. (2007). Volatile leaf constituents and anticancer activity of *Bursera simaruba* (L.) Sarg. essential oil. *Natural Product Communications*, 2(12), 1934578X0700201217.
- Szczerbanik, M., Jobling, J., Morris, S., y Holford, P. (2007). Essential oil vapours control some common postharvest fungal pathogens. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 47(1), 103-109.
- Tabassum, N. y Vidyasagar, G.M. (2013). Antifungal investigations on plant essential oils. A review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, (2), 19-28.
- Tacchini, M., Echeverria Guevara, M. P., Grandini, A., Maresca, I., Radice, M., Angiolella, L., y Guerrini, A. (2020). *Ocimum campechianum* mill. from Amazonian Ecuador: Chemical

Composition and biological activities of extracts and their main constituents (eugenol and rosmarinic acid). *Molecules*, 26(1), 84.

- Tan, G. H., Ali, A., y Siddiqui, Y. (2023). Major fungal postharvest diseases of papaya: Current and prospective diagnosis methods. *Crop Protection*, 15, 106399.
- Tangarife-Castaño, V., Correa-Royero, J., Zapata-Londoño, B., Durán, C., Stanshenko, E., y Mesa-Arango, A. C. (2011). Anti-*Candida albicans* activity, cytotoxicity and interaction with antifungal drugs of essential oils and extracts from aromatic and medicinal plants. *Infectio*, 15(3), 160-167.
- Tavares, G. M. y Souza, P. E. (2005). Effects of fungicides on the *in vitro* control of *Colletotrichum gloeosporioides*, the anthracnosis etiologic agent of the papaya tree (*Carica papaya* L.). *Ciência e Agrotecnologia*, 29, 52-59.
- Teixeira, M. L., Cardoso, M. D. G., Figueiredo, A. C. S., Moraes, J. C., Assis, F. A., de Andrade, J., y de Albuquerque, L. R. M. (2014). Essential oils from *Lippia organoides* Kunth. And *Mentha spicata* L.: Chemical composition, insecticidal and antioxidant activities. *American Journal of Plant Sciences*, 5(9), 44519.
- Teles, S., Pereira, J. A., de Oliveira, L. M., Malheiro, R., Machado, S. S., Lucchese, A. M., y Silva, F. (2014). Organic and mineral fertilization influence biomass and essential oil production, composition and antioxidant activity of *Lippia organoides* HBK. *Industrial Crops and Products*, 59, 169-176.
- Téllez-Téllez, M., Amaro-Guadarrama, B., Agapito-Ocampo, A. R., y de Lourdes Acosta-Urdapilleta, M. (2024). Antagonismo y actividad antifúngica de *Humphreya coffeata* (Berk.) Steyaert contra *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 11(1), 32-40.
- Thompson, D. P. (1989). Fungitoxic activity of essential oil components on food storage fungi. *Mycologia*, 81(1), 151-153.
- Tian, J., Ban, X., Zeng, H., He, J., Chen, Y., y Wang, Y. (2012). The mechanism of antifungal action of essential oil from dill (*Anethum graveolens* L.) on *Aspergillus flavus*. *PLoS One*, 7(1), e30147.

-
- Tokgöz, S. (2024). Evaluation of essential oils and their major components for disease resistance. Tesis de doctorado. University of Nebraska, United States, pp. 111.
- Toscano-Oviedo, M. A., García Zapateiro, L. A., y Quintana, S. E. (2024). Tropical fruits as a potential source for the recovery of bioactive compounds: *Tamarindus indica* L., *Annona muricata*, *Psidium guajava* and *Mangifera indica*. *Journal of Food Science and Technology*, 23, 1-9.
- Tripathi, A. K., y Upadhyay, S. (2009). Repellent and insecticidal activities of *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) leaf essential oil against four stored-grain coleopteran pests. *International Journal of Tropical Insect Science*, 29(4), 219-228.
- Tyagi, A. K., y Malik, A. (2010). Liquid and vapour-phase antifungal activities of selected essential oils against *Candida albicans*: microscopic observations and chemical characterization of *Cymbopogon citratus*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10, 1-11.
- Tzortzakis, N. G. (2009). Impact of cinnamon oil-enrichment on microbial spoilage of fresh produce. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(1), 97-102.
- Ultee, A., Bennik, M. H. J., y Moezelaar, R. J. A. E. M. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(4), 1561-1568.
- Valarezo, E., Benítez, L., Palacio, C., Aguilar, S., Armijos, C., Calva, J., y Ramírez, J. (2021). Volatile and non-volatile metabolite study of endemic ecuadorian specie *Piper lanceifolium* Kunth. *Journal of Essential Oil Research*, 33(2), 182-188.
- Valdés-Pérez, O., Borrego-Alonso, S., Vivar-González, I., Anaya-Villalpanda, M., y Molina-Veloso, A. (2016). Actividad antifúngica del aceite esencial de clavo de olor en el control del biodeterioro fúngico de documentos. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 47(2), 78-85.
- Velásquez-Valle, R., Reveles-Hernández, M. y Reveles-Torres L.R. (2017). Identificación de enfermedades causadas por hongos en cultivos de Aguascalientes, Durango y Zacatecas. Folleto Técnico Núm 90. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC – INIFAP, 1-86.

-
- Velázquez-Nuñez, M. J., Avila-Sosa, R., Palou, E., y López-Malo, A. (2013). Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. *Food Control*, 31(1), 1-4.
- Ventura-Aguilar, R. I., Díaz-Galindo, E. P., Bautista-Baños, S., Mendoza-Acevedo, S., Munguía-Cervantes, J. E., Correa-Pacheco, Z. N., y Bosquez-Molina, E. (2021). Monitoring the infection process of *Rhizopus stolonifer* on strawberry fruit during storage using films based on chitosan/polyvinyl alcohol/polyvinylpyrrolidone and plant extracts. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 583-594.
- Vieira, R. F., y Simon, J. E. (2000). Caracterização Química de Basil (*Ocimum* spp.) encontrados em mercados e usados na medicina popular no. *Economic Botany*, 54, 207-216.
- Vila, R., Iglesias, J., Cañigüeral, S., y Cicció, J. F. (2004). Composition of the essential oil from leaves of *Lippia myriocephala* from Costa Rica. *Journal of Essential Oil Research*, 16(3), 177-179.
- Vilaplana, R., Pazmiño, L., y Valencia-Chamorro, S. (2018). Control of anthracnose, caused by *Colletotrichum musae*, on postharvest organic banana by thyme oil. *Postharvest Biology and Technology*, 138, 56-63.
- Walden, A. B., Haber, W. A., y Setzer, W. N. (2009). Essential oil compositions of three Lantana species from Monteverde, Costa Rica. *Natural Product Communications*, 4(1), 1934578X0900400123.
- Walker, G. M., y White, N. A. (2017). Introduction to fungal physiology. *Fungi: Biology and Applications*, 32, 1-35.
- Wang, D., Wang, G., Wang, J., Zhai, H., y Xue, X. (2023). Inhibitory effect and underlying mechanism of cinnamon and clove essential oils on *Botryosphaeria dothidea* and *Colletotrichum gloeosporioides* causing rots in postharvest bagging-free apple fruits. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1109028.
- Wang, D., Zhang, J., Jia, X., Xin, L., y Zhai, H. (2019). Antifungal effects and potential mechanism of essential oils on *Colletotrichum gloeosporioides* *in vitro* and *in vivo*. *Molecules*, 24(18), 3386.

-
-
- Wang, X., Lu, D., y Tian, C. (2021). Analysis of melanin biosynthesis in the plant pathogenic fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. *Fungal Biology*, 125(9), 679-692.
- Wang, Y., Pan, L., y Tu, K. (2024). Biodegradable soy protein isolate carvacrol coating controls soft rot on nectarines by enhancing defense response. *Journal of Stored Products Research*, 109, 102444.
- Wei, S., Mei, J., y Xie, J. (2021). Effects of edible coating and modified atmosphere technology on the physiology and quality of mangoes after low-temperature transportation at 13 C in vibration mitigation packaging. *Plants*, 10(11), 2432.
- Wilson, T. M., Murphy, B. J., Abad, A., Packer, C., Poulson, A., y Carlson, R. E. (2022). Essential oil composition and stable isotope profile of cultivated *Ocimum campechianum* Mill. (Lamiaceae) from Peru. *Molecules*, 27(9), 2777.
- Xu, D. H., Huang, Y. S., Jiang, D. Q., y Yuan, K. (2013). The essential oils chemical compositions and antimicrobial, antioxidant activities and toxicity of three *Hyptis* species. *Pharmaceutical Biology*, 51(9), 1125-1130.
- Yan, J., Wu, H., Shi, F., Wang, H., Chen, K., Feng, J., y Jia, W. (2021). Antifungal activity screening for mint and thyme essential oils against *Rhizopus stolonifer* and their application in postharvest preservation of strawberry and peach fruits. *Journal of Applied Microbiology*, 130(6), 1993-2007.
- Zabka, M. y Pavela, R. (2013). Antifungal efficacy of some natural phenolic compounds against significant pathogenic and toxinogenic filamentous fungi. *Chemosphere*, 93, 1051–1056.
- Zhang, J., Ma, S., Du, S., Chen, S., y Sun, H. (2019). Antifungal activity of thymol and carvacrol against postharvest pathogens *Botrytis cinerea*. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 2611-2620.
- Zhao, L., Wang, J., Zhang, H., Wang, P., Wang, C., Zhou, T., y Wu, R. (2023). Inhibitory effect of carvacrol against *Alternaria alternata* causing goji fruit rot by disrupting the integrity and composition of cell wall. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1139749.

-
-
- Zhou, D., Wang, Z., Li, M., Xing, M., Xian, T., y Tu, K. (2018). Carvacrol and eugenol effectively inhibit *Rhizopus stolonifer* and control postharvest soft rot decay in peaches. *Journal of Applied Microbiology*, 124(1), 166-178.
- Ziedan, E. H. E., y Farrag, E. S. (2008). Fumigation of peach fruits with essential oils to control postharvest decay. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 4(5), 512-519.
- Znini, M. (2021). Chemical composition, liquid, and vapor-phase antifungal activities of essential oil of *Teucrium luteum* subsp. *flavovirens* against three postharvest phytopathogenic fungi. *International Journal of Fruit Science*, 21(1), 400-412.

ANEXOS

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES

En el AE de *L. origanoides* se identificaron diez compuestos, en su mayoría fueron por monoterpenos oxigenados (67.7%). Los compuestos mayoritarios fueron p-cimeno (17.8%) y carvacrol (60.0%), representando el 77.8% del perfil cromatográfico (Tabla A.1.).

Tabla A.1. Composición química del AE de *L. origanoides*.

Pico	Compuesto	Clase	IR ^a	IR ADAMS ^b	% área	Método de identificación ^c
1	mirceno	M	992	988	1.8	IR, MS
2	p-cimeno	M	1030	1020	17.8	IR, MS, IE
3	eucaliptol	MO	1037	1026	1.3	IR, MS, IE
4	γ-terpineno	M	1063	1054	1.5	IR, MS, IE
5	timol, metil-éter	MO	1238	1232	2.0	IR, MS
6	timol	MO	1295	1289	4.4	IR, MS, IE
7	carvacrol	MO	1310	1298	60.0	IR, MS
8	β-cariofileno	S	1440	1417	2.0	IR, MS, IE
9	α-humuleno	S	1474	1452	1.1	IR, MS, IE
10	óxido de cariofileno	SO	1607	1582	1.6	IR, MS, IE
% total de clase de compuestos						
Monoterpenos					21.1	
Monoterpenos oxigenados					67.7	
Sesquiterpenos					3.1	
Sesquiterpenos oxigenados					1.6	
% total identificado					93.5	

Únicamente se muestran compuestos con un área del cromatograma >1%. M= Monoterpeno, MO= Monoterpeno oxigenado, S= Sesquiterpeno, SO= Sesquiterpeno oxigenado. IR^a: Índices de retención calculados experimentalmente relativos a una serie de n-alcanos (C8-C40). IR ADAMS^b: Índices de retención bibliográficos (Adams, 2007). Método de identificación^c: IR = identificación tentativa basada en el índice de retención, MS= identificación tentativa basada en espectrometría de masas. IE= identificación confirmatoria con estándares comerciales. En gris se resaltan los tres compuestos con mayor abundancia.

En la composición química de *B. simaruba*, se detectaron diez compuestos, de los cuales siete fueron identificados (Tabla A.2). El AE de *B. simaruba* está compuesto en su mayoría por monoterpenos (83.7%). Los tres compuestos mayoritarios fueron α-pineno (65.2%), β-pineno (11.81%) y limoneno (4.4%), representando el 81.4% del total del perfil cromatográfico.

Tabla A.2. Composición química del AE de *B. simaruba*.

Pico	Compuesto	Clase	IR ^a	IR ADAMS ^b	% área	Método de identificación ^c
1	α-pineno	M	944	932	65.2	IR, MS, IE
2	canfeno	M	955	946	1.3	IR, MS, IE
3	β-pineno	M	984	974	11.8	IR, MS
4	mirceno	M	992	988	1.01	IR, MS, IE
5	limoneno	M	1034	1024	4.4	IR, MS, IE
6	trans-pinocarveol	MO	1148	1135	1.0	IR, MS
7	trans- verbenol	MO	1153	1140	1.3	IR, MS
8	NI		1309		3.2	
9	NI		1318		1.4	
10	NI		1321		1.4	
% total de clase de compuestos						
Monoterpenos					83.7	
Monoterpenos oxigenados					2.3	
Sesquiterpenos					-	
Sesquiterpenos oxigenados					-	
% total identificado					86.0	

Letras y abreviaturas iguales a la Tabla A.1. NI= No identificado. Los tres compuestos más abundantes se resaltan en gris.

En el caso de la composición química de *P. auritum*, en total se identificaron 13 compuestos (Tabla A.3). El AE de *P. auritum* se caracterizó por presentar una gran abundancia de monoterpenos oxigenados (55.7%). El compuesto mayoritario fue el safrol (55.7%), seguido del β-cariofileno (5.9%) y germacreno D (5.8%), los cuales representan el 67.4% del total del área del perfil cromatográfico.

Tabla A.3. Composición química del AE de *P. auritum*.

Pico	Compuesto	Clase	IR ^a	IR ADAMS ^b	% área	Método de identificación ^c
1	β-pineno	M	981	974	1.2	IR, MS, IE
2	p-cimeno	M	1028	1020	1.2	IR, MS, IE
3	γ-terpineno	M	1063	1054	2.4	IR, MS, IE
4	terpinoleno	M	1093	1086	2.0	IR, MS
5	safrol	MO	1309	1285	55.7	IR, MS, IE
6	α-copaeno	S	1392	1374	2.5	IR, MS
7	β-cariofileno	S	1442	1417	5.9	IR, MS, IE
8	NI		1494		1.3	IR, MS
9	germacreno D	S	1501	1480	5.8	IR, MS
10	biciclogermacreno	S	1517	1500	3.4	IR, MS
11	miristicina	S	1533	1517	1.9	IR, MS, IE
12	espatulenol	SO	1600	1577	2.8	IR, MS, IE
13	óxido de cariofileno	SO	1607	1582	1.6	IR, MS, IE
% total de clase de compuestos						
Monoterpenos					6.8	
Monoterpenos oxigenados					55.7	

Sesquiterpenos	20.8
Sesquiterpenos oxigenados	4.4
% total identificado	87.7

Letras y abreviaturas iguales a la Tabla A.1. Los tres compuestos más abundantes se resaltan en gris.

El AE de *H. suaveolens* se identificó una mayor cantidad de metabolitos, con un total de 22 picos (Tabla A.4). Ninguno de los metabolitos mostró una concentración >20% del total del área del cromatograma. Los compuestos mayoritarios fueron el β -cariofileno (16.2%), espatulenol (11.4%) y α -bergamoteno (7.5%), que representaron una abundancia del 35.1%.

Tabla A.4. Composición química del AE de *H. suaveolens*.

Pico	Compuesto	Clase	IR ^a	IR ADAMS ^b	% área	Método de identificación ^c
1	sabineno	M	977	969	3.8	IR, MS
2	β -pineno	M	981	974	1.0	IR, MS, IE
3	p-cimeno	M	1028	1020	2.7	IR, MS, IE
4	limoneno	M	1033	1024	2.0	IR, MS, IE
5	eucaliptol	MO	1036	1026	1.1	IR, MS, IE
6	terpinoleno	MO	1093	1086	1.6	IR, MS
7	α -cubebeno	S	1362	1345	1.1	IR, MS
8	α -copaeno	S	1393	1374	6.6	IR, MS
9	β -bourboneno	S	1403	1387	3.0	IR, MS
10	β -elemeno	S	1405	1389	1.7	IR, MS
11	β -cariofileno	S	1444	1417	16.2	IR, MS, IE
12	α -bergamoteno	S	1451	1411	7.5	IR, MS
13	α -humuleno	S	1475	1452	2.1	IR, MS, IE
14	germacreno D	S	1502	1480	5.1	IR, MS
15	β -selineno	S	1507	1489	1.0	IR, MS
16	elixeno	S	1518	1492	4.0	IR, MS
17	cubebol	SO	1544	1533	1.1	IR, MS
18	espatulenol	SO	1606	1577	11.4	IR, MS, IE
19	óxido de cariofileno	SO	1611	1582	4.4	IR, MS, IE
20	pogostol	SO	1678	1651	1.8	IR, MS
21	bergamotol	SO	1711	1690	5.5	IR, MS
22	abietatrieno	D	2094	2055	1.2	IR, MS
% total de clase de compuestos						
Monoterpenos					9.5	
Monoterpenos oxigenados					2.7	
Sesquiterpenos					48.3	
Sesquiterpenos oxigenados					24.2	
Diterpenos					1.2	
% total identificado					85.9	

Letras y abreviaturas iguales a la Tabla A.1. Los tres compuestos más abundantes se resaltan en gris.

Para el AE de *O. campechianum* se identificaron un total de 16 metabolitos (Tabla A.5). Los compuestos mayoritarios fueron el eucaliptol (22.7%), β -cariofileno (17.2%) y β -elemeno (8.6%), los cuales representan el 48.5% del total del área del cromatograma.

Tabla A.5. Composición química del AE de *O. campechianum*.

Pico	Compuesto	Clase	IR ^a	IR ADAMS ^b	% área	Método de identificación ^c
1	α -pineno	M	936	932	2.0	IR, MS, IE
2	canfeno	M	952	946	1.0	IR, MS,
3	β -pineno	M	980	974	3.5	IR, MS, IE
4	limoneno	M	1033	1024	4.0	IR, MS, IE
5	eucaliptol	MO	1037	1026	22.7	IR, MS, IE
6	canfor	MO	1153	1141	4.6	IR, MS, IE
7	α -copaeno	S	1389	1374	1.4	IR, MS,
8	β -elemeno	S	1404	1389	8.6	IR, MS, IE
9	β -cariofileno	S	1440	1417	17.2	IR, MS, IE
10	α -humuleno	S	1472	1452	4.1	IR, MS, IE
11	aromadendreno-allo	S	1479	1458	1.0	IR, MS
12	germacreno D	S	1498	1480	8.0	IR, MS
13	elixene	S	1515	1500	6.6	IR, MS
14	β -bisaboleno	S	1517	1505	4.0	IR, MS
15	espatulenol	SO	1596	1577	1.7	IR, MS, IE
16	óxido de cariofileno	SO	1604	1582	1.5	IR, MS, IE
% total de clase de compuestos						
Monoterpenos					10.5	
Monoterpenos oxigenados					27.3	
Sesquiterpenos					50.9	
Sesquiterpenos oxigenados					3.2	
% total identificado					91.9	

Letras y abreviaturas iguales a la Tabla A.1. Los tres compuestos más abundantes se resaltan en gris.

La caracterización química del AE de *L. hirta* mostró un total de 18 metabolitos (Tabla A.6). El β -cariofileno (19.8%), β -elemeno (16.1%) y óxido de cariofileno (12.9%), fueron los compuestos mayoritarios, los cuales representan el 48.8% del total de área del cromatograma.

Tabla A.6. Composición química del AE de *L. hirta*.

Pico	Compuesto	Clase	IR ^a	IR ADAMS ^b	% área	Método de identificación ^c
1	α -pineno	M	938	932	4.4	IR, MS, IE
2	p-cimeno	M	1028	1020	4.6	IR, MS, IE
3	α -copaeno	S	1391	1374	3.4	IR, MS
4	β -bourboneno	S	1401	1387	1.6	IR, MS
5	β - elemeno	S	1407	1389	16.1	IR, MS, IE
6	β -cariofileno	S	1443	1417	19.8	IR, MS, IE
7	α -humeleno	S	1473	1452	1.1	IR, MS, IE
8	aromadendreno-allo	S	1481	1464	1.8	IR, MS
9	γ -muroleno	S	1492	1478	1.9	IR, MS
10	germacreno D	S	1500	1480	3.2	IR, MS
11	aristolocheno 4,5-di-epi	S	1503	1471	1.1	IR, MS
12	β -selineno	S	1507	1489	3.4	IR, MS
13	isodauceno	S	1515	1500	1.8	IR, MS
14	δ -cadineno	S	1538	1522	1.1	IR, MS
15	espatulenol	SO	1601	1577	2.0	IR, MS, IE
16	óxido de cariofileno	SO	1609	1582	12.9	IR, MS, IE
17	10,10-dimetil-2,6-dimetilenobiciclo	SO	1660	1677	2.0	IR, MS
18	intermedeol-neo	SO	1679	1658	1.3	IR, MS
% total de clase de compuestos						
Monoterpenos					9.0	
Monoterpenos oxigenados						
Sesquiterpenos					56.3	
Sesquiterpenos oxigenados					18.2	
% total identificado					83.5	

Letras y abreviaturas iguales a la Tabla A.1. Los tres compuestos más abundantes se resaltan en gris.

Como se muestra en la tabla 11, en el AE de *L. canescens* se identificaron un total de nueve metabolitos (Tabla A.7.). Los compuestos más abundantes fueron el óxido de cariofileno (37.8%), β -cariofileno (25.8%) y sabineno (6.1%), los cuales mostraron una abundancia de 69.7%.

Tabla A.7. Composición química del AE de *L. canescens*.

Pico	Compuesto	Clase	IR ^a	IR ADAMS ^b	% área	Método de identificación ^c
1	sabineno	M	977	969	6.1	IR, MS
2	α -copaeno	S	1391	1374	3.6	IR, MS
3	β -elemeno	S	1405	1389	3.9	IR, MS
4	β -cariofileno	S	1445	1417	25.8	IR, MS, IE
5	α -humuleno	S	1475	1452	3.7	IR, MS, IE
6	aromadendreno-allo	S	1482	1458	1.6	IR, MS
7	γ -muroleno	S	1492	1478	1.2	IR, MS
8	óxido de cariofileno	SO	1615	1582	37.8	IR, MS, IE
9	epóxido II de humuleno	SO	1636	1608	2.5	IR, MS

% total de clase de compuestos	
Monoterpenos	6.1
Sesquiterpenos	39.8
Sesquiterpenos oxigenados	40.3
% total identificado	86.2

Letras y abreviaturas iguales a la Tabla A.1. Los tres compuestos más abundantes se resaltan en gris.

Se caracterizó la composición química del AE de *L. myriocephala* por CG-MS (Tabla A.8). En total se lograron identificar 12 metabolitos, de un total de 18. Entre los compuestos con mayor abundancia se encuentran el óxido de cariofileno (41.9%), α -copaeno (6.1%) y β -bourboneno (4.6%).

Tabla A.8. Composición química del AE de *L. myriocephala*.

Pico	Compuesto	Clase	IR ^a	IR ADAMS ^b	% área	Método de identificación ^c
1	p-cimeno	M	1028	1020	1.4	IR, MS, IE
2	α -copaeno	S	1392	1374	6.1	IR, MS
3	β -bourboneno	S	1402	1387	4.6	IR, MS
4	β -elemeno	S	1404	1389	2.3	IR, MS
5	β -cariofileno	S	1439	1417	1.0	IR, MS, IE
6	α -bergamoteno	S	1448	1432	1.8	IR, MS
7	γ -muroleno	S	1492	1478	1.7	IR, MS
8	α -muroleno	S	1515	1500	1.1	IR, MS
9	γ -cadineno	S	1532	1513	1.3	IR, MS
10	NI		1563		1.0	
11	NI		1575		2.3	
12	óxido de cariofileno	SO	1614	1582	41.9	IR, MS, IE
13	epóxido II de humuleno	SO	1636	1608	2.8	IR, MS
14	NI		1660		1.1	
15	NI		1693		3.8	
16	mustakone	SO	1702	1676	1.3	IR, MS
17	NI		1801		1.1	
18	NI		1866		1.0	
% total de clase de compuestos						
	Monoterpenos				1.4	
	Sesquiterpenos				19.9	
	Sesquiterpenos oxigenados				46.0	
	% total identificado				67.3	

Letras y abreviaturas iguales a la Tabla A.1. NI= No identificado. Los tres compuestos más abundantes se resaltan en gris.

En el AE de *C. yucatanensis* se identificaron 16 compuestos, de un total de 18, con un área del cromatograma >1% (Tabla A.9). Los compuestos mayoritarios presentes en el AE fueron α -bisabolol (16.2%), óxido de cariofileno (14.4%) y β -cariofileno (13%), los cuales representan el 43.6% del total de área del cromatograma.

Tabla A.9. Composición química del AE de *C. yucatanensis*.

Pico	Compuesto	Clase	IR ^a	IR ADAMS ^b	% área	Método de identificación ^c
1	α -copaeno	S	1392	1374	2.6	IR, MS
2	β -bourboneno	S	1405	1387	9.9	IR, MS
3	β -cariofileno	S	1443	1417	13.0	IR, MS, IE
4	β -copaeno	S	1449	1430	1.5	IR, MS
5	α -humuleno	S	1475	1452	1.9	IR, MS, IE
6	aromadendreno-allo	S	1482	1458	1.1	IR, MS
7	γ -muroloeno	S	1493	1478	1.4	IR, MS
8	germacreno D	S	1500	1484	1.2	IR, MS
9	β - bisaboleno	S	1520	1505	2.2	IR, MS
10	espatulenol	SO	1598	1577	4.2	IR, MS
11	óxido de cariofileno	SO	1613	1582	14.4	IR, MS, IE
12	NI		1634		1.0	
13	epóxido II de humuleno	SO	1636	1608	1.3	IR, MS
14	cubenol-1, 10-di-epi	SO	1638	1618	1.3	IR, MS
15	γ -eudesmol	SO	1647	1622	1.5	IR, MS
16	α -cadinol	SO	1676	1652	1.0	IR, MS
17	NI		1679		1.0	
18	α -bisabolol	SO	1706	1685	16.2	IR, MS
% total de clase de compuestos						
Sesquiterpenos					34.8	
Sesquiterpenos oxigenados					39.9	
% total identificado					74.7	

Letras y abreviaturas iguales a la Tabla A.1. NI= No identificado. Los tres compuestos más abundantes se resaltan en gris.

Para el AE de *T. diffusa* se identificaron 18 metabolitos de un total de 21 (Tabla A.10). Los compuestos mayoritarios fueron α -humuleno (11.3%), β -cariofileno (9.3%) y óxido de cariofileno (8.5%), los cuales representan el 29.1% del total de área del cromatograma.

Tabla A.10. Composición química del AE de *T. diffusa*.

Pico	Compuesto	Clase	IR ^a	IR ADAMS ^b	% área	Método de identificación ^c
1	α -pineno	M	938	932	2.4	IR, MS, IE
2	β -pineno	M	981	974	2.9	IR, MS, IE
5	eucaliptol	MO	1037	1026	3.0	IR, MS, IE
7	α -cubebeno	S	1362	1345	1.3	IR, MS
8	α -copaeno	S	1393	1374	5.0	IR, MS
9	β -bourboneno	S	1403	1387	4.3	IR, MS
11	β -cariofileno	S	1443	1417	9.3	IR, MS, IE
8	guaiadieno<6,9->	S	1461	1442	2.0	IR, MS
13	α -humuleno	S	1478	1452	11.3	IR, MS, IE
10	aromadendreno-allo	S	1405	1458	3.7	IR, MS
7	γ -muroloeno	S	1495	1478	4.6	IR, MS
14	germacreno D	S	1502	1480	1.7	IR, MS
13	guaieno	S	1516	1492	1.5	IR, MS
14	calameneno	S	1541	1521	4.2	IR, MS
15	espatulenol	SO	1599	1577	5.9	IR, MS
19	óxido de cariofileno	SO	1613	1582	8.5	IR, MS, IE
19	epóxido II de humuleno	SO	1636	1608	7.5	IR, MS
18	NI		1658		1.4	
19	NI		1662		1.4	
20	β -eudesmol	SO	1677	1649	1.1	IR, MS
21	NI		1679		1.2	IR, MS
% total de clase de compuestos						
Monoterpenos					5.3	
Monoterpenos oxigenados					3.0	
Sesquiterpenos					48.9	
Sesquiterpenos oxigenados					23.0	
% total identificado					80.2	

Letras y abreviaturas iguales a la Tabla A.1. NI= No identificado. Los tres compuestos más abundantes se resaltan en gris.