

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

DIRECCIÓN DE POSTGRADO

**ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS DE PLANTAS CON Y SIN
CERA DE CANDELILLA, CONTRA HONGOS DE
POSTCOSECHA EN FRUTOS DE INTERÉS COMERCIAL**

T E S I S

POR

LUIS ELIGIO MORENO ZUCCOLOTTO

**Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como
requisito parcial, para optar al grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGIA AGRICOLA**

C O M I T É P A R T I C U L A R

Asesor principal:

Dr. Diana Jasso Cantú

Asesor:

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo

Asesor:

Dr. Raúl Rodríguez García

Asesor:

Dr. Cristóbal Noé Aguilar González

Asesor:

M. C. Jose Hugo Rancaño Arrijoa

**Dr. Jerónimo Landeros Flores
Director de Postgrado**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Diciembre del 2009.

“DEDICATORIAS”

A MI ESPOSA: Por estar conmigo en las buenas y en las malas, y por el apoyo y comprensión en cada momento de mi vida. Ana Azucena Salas Correa

A MI PADRE: Por que siempre le dedicaré mis logros y éxitos. (QEPD) Luis Moreno Valecia.

A MI MADRE: Por ser mi tesoro maspreciado y creer y apoyarme siempre en todas las aventuras que emprendo en esta vida. Celia Zuccolotto Ramirez.

A MIS SUEGROS: Que siempre me han recibido en su casa, haciéndome sentir que estoy en la mía.

Bernardo A. Salas Reyes y Rafaela Correa Flores

A MIS HERMANOS: José Antonio y Braulio Moreno Zuccolotto que siempre me tienen en sus pensamientos y recuerdos de nuestros años felices en nuestra niñez (espero que algún día estemos juntos otra vez)

A MI HERMANITO: Saulo Moreno Zuccolotto (QEPD), que siempre fuimos cómplices en todas las travesuras.

A MI ALMA MATER. Por el nivel de estudios proporcionado.

AL CONACYT. Por el apoyo económico en la formación de nuevos Investigadores.

A la Dra. Diana Jasso Cantú, Por la confianza y amistad que siempre me ha brindado y por el apoyo con la asesoría necesaria para realizar esta Investigación.

Al M. C. Hugo Rancaño, por su valiosa colaboración en la revisión de la presentación, artículos y tesis.

A la T.A. Edith E. Chaires Colunga. Por su apoyo en las mediciones efectuadas.

A la T.A. Maria Guadalupe Moreno Esquivel. Por su colaboración en el trabajo de laboratorio y por hacer agradable el tiempo en el que trabaje en el laboratorio de fitoquímica.

COMPENDIO

Actividad Antifúngica de Extractos de Plantas con y sin Cera de Candelilla, Contra Hongos de Postcosecha en Frutos de Interés Comercial

POR:

LUIS ELIGIO MORENO ZUCCOLOTTO

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Buenavista Saltillo Coahuila, Agosto del 2009

Dr. Diana Jasso Cantu – Asesor Principal –

Palabras clave: *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana* *Agave Lechuguilla*, *Colletotrichum* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. extracto etanólico, extracto hexánico.

El presente trabajo se realizó en dos partes, la primera fue la prueba de inhibición *in vitro* de los hongos estudiados. En la segunda parte se realizó una prueba *in vivo* con la aplicación de los dos mejores extractos de la primera prueba en emulsión con cera de candelilla y agua como recubrimientos de frutos para evaluar la vida de anaquel con y sin inóculo de los hongos estudiados.

Se utilizaron hojas de *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana* y *Agave lechuguilla*, colectadas en el Desierto Chihuahuense, en el Sureste del Estado de

Coahuila. Se utilizaron etanol y hexano, solventes de diferente polaridad, para obtener los extractos de las plantas, estos extractos fueron mezclados individualmente en medio PDA y se vaciaron en cajas Petri utilizando dosis de 0, 500, 1000, 2000, 3000, 4000 y 5000 ppm, para después ser inoculadas con cepas monospóricas de *Colletotrichum* sp. *Penicillium* sp. y *Rhizopus* sp. Las variables evaluadas fueron: crecimiento micelial y número de esporas.

Todos los extractos provocaron inhibición en el desarrollo del micelio y cantidad de esporas, pero solo se consideró la inhibición total con la dosis mas baja, es decir la menor dosis que inhibió al 100 % el desarrollo de los hongos estudiados, para ser utilizados en la prueba *in vivo* de cubiertas de frutos.

Los extractos etanólico y hexánico de *Lippia graveolens* inhibieron el desarrollo del micelio y la esporulación al 100 % de *Rhizopus* sp. y *Colletotrichum* sp. en 500 ppm, al micelio de *Penicillium* sp. en 3000 ppm y a las esporas en 2000 ppm.

El extracto etanólico de *Agave lechuguilla* inhibió al 37 % el micelio en *Rhizopus* sp. y la esporulación en 77.1 % en la dosis de 5000 ppm en *Colletotrichum* sp. la inhibición del micelio y la esporulación fue del 100 % en la dosis de 500 ppm y en *Penicillium* sp. la inhibición del micelio fue de 84 % y de la esporulación 52.6 % en 5000 ppm. Con el extracto hexánico de *A. lechuguilla* la inhibición en la esporulación de *Rhizopus* sp. fue de 100 % en la dosis de 500 ppm y 3000 en el micelio. En *Colletotrichum* sp. la inhibición fue de 91.1 % para el micelio y 99.7 % en la esporulación en la dosis de 5000 ppm y en *Penicillium* sp. la inhibición fue 84 y 90.5 % con 5000 ppm.

La inhibición causada con el extracto etanólico de *Y. carnerosana* en *Rhizopus* sp. fue de 40 % para el micelio y 30.8 % en la esporulación, para *Colletotrichum* sp. 55

% en la dosis de 5000 ppm y con el extracto hexánico la inhibición del micelio y esporulación en *Rhizopus* sp. fue del 100 % con 3000 ppm, en *Colletotrichum* sp. de 28.9 y 65.5 % y para *Penicillium* sp. 44 y 61.6 % en la dosis de 5000 ppm.

Los extractos de *Yucca filifera* también causaron inhibición en el desarrollo de los hongos. Con extracto etanólico la inhibición de *Rhizopus* sp. en el micelio y esporulación fue de 100 % con la dosis de 4000 ppm, en *Colletotrichum* sp. de 35 y 99.1 % y *Penicillium* sp. en 80 y 93.6 % en la dosis de 5000 ppm y con extracto hexánico la inhibición del micelio de *Rhizopus* sp. fue de 100 % en 4000 ppm y esporulación 3000 ppm, en *Colletotrichum* sp. la inhibición del micelio y esporulación fue de 66.7 y 51.2 %, en *Penicillium* sp. de 40 y 54 % con la dosis de 5000 ppm.

La segunda parte de este trabajo, evaluación *in vivo*, consistió en la aplicación de cubiertas de cera de candelilla en emulsión y agua en solución con extractos hexánico y etanólico de *Lippia graveolens*, los dos mejores extractos de la primera prueba, en manzana y tomate. La cera de candelilla fue formulada por la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila y los frutos se compraron en huertos y supermercados locales.

Los tratamientos fueron: a) cera de candelilla, b) extracto hexánico de *L. graveolens* en emulsión con cera de candelilla, c) extracto etanólico de *L. graveolens* en emulsión con cera de candelilla, d) extracto hexánico en solución con agua, e) extracto etanólico de *L. graveolens* en solución con agua y f) testigo.

En la prueba *in vivo* con inoculación de patógenos se evaluaron los tratamientos antes mencionados sobre los frutos distribuidos de la siguiente manera: a) frutos con lesión e inoculados antes de aplicar la cubierta, b) frutos con lesión e inoculados después de aplicar la cubierta c) frutos sin lesión con la cubierta e inoculados y d) testigos: frutos

con lesión e inoculados y frutos sin lesión e inoculados. Las variables evaluadas fueron: pérdida de peso, cambio de color, firmeza, pH, azúcares totales y °Brix.

Los resultados se presentaron en formas muy diversas para los diferentes tratamientos: la pérdida de color en el testigo fue mas rápida que en el resto de los tratamientos donde el cambio de color fue de forma gradual sin perder el color amarillo. La disminución en la pérdida de peso y firmeza fueron considerables con el extracto hexánico de *L. graveolens* en agua, para ambos frutos.

Para las variables de azúcares totales, °Brix y pH, se indico que no hubo efecto considerable en los procesos fisiológicos de los frutos. Aunque cabe señalar, que la producción de azucars fue disminuida por el efecto de las cubiertas.

En las pruebas de patogenicidad para tomates no lesionados e inoculados con *Rhizopus* sp., no enfermaron, pero si los lesionados e inoculados antes y después de poner la cubierta.

El extracto etanólico de *L. graveolens* no permitió el desarrollo de *Rhizopus* sp. en manzanas inoculadas y sin lesión, pero en el testigo las manzanas con lesión enfermaron rápidamente así como en el tratamiento con cera de candelilla y extracto hexánico en agua.

Las manzanas lesionadas e inoculadas antes y después de la aplicación de la cubierta se enfermaron; las manzanas lesionadas antes de la aplicación de la cubierta con extracto etanólico también.

Los frutos lesionados después de aplicar la cubierta de los extractos etanólico y hexánico con cera de candelilla lograron resistir al desarrollo del patógeno manteniendo sin enfermedad a todas las manzanas lesionadas y no lesionadas al mismo tiempo que el testigo.

En las pruebas con *Penicillium* sp. las manzanas de todos los tratamientos inoculadas pero no lesionadas no enfermaron en contraste con todas las manzanas lesionadas antes y después de aplicar la cubierta de todos los tratamientos que si enfermaron al mismo tiempo que el testigo.

ABSTRACT**Activity Antifungal of Extract of Plants with and without Candelilla Wax, Against Fungi of Postharvest in Fruit of Commercial Interest****BY:****LUIS ELIGIO MORENO ZUCCOLOTTO****MASTER IN SCIENCES IN
AGRICULTURAL PARASITOLOGY****UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO****Buenavista Saltillo Coahuila, August, 2009****Dr. Diana Jasso Cantu – Main Advisor –**

Additional Keywords: *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana* *Agave Lechuguilla*, *Colletotrichum* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., ethanolic extract, hexanic extract.

The present work was made in two parts; the first one was the *in vitro* inhibition test of the studied fungi. The second one was made *in vivo* with the application of the best extracts from the first test in emulsion candelilla wax and water were used as fruit coatings to evaluate the shelf life with and without inoculum of the studied fungi.

Leaves of the *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana* and *Agave lechuguilla* collected in the chihuahuan desert in the southeast of the state of Coahuila, were used. Ethanol and hexane, solvents of different polarity, were used to obtain the extracts of the plants, this extracts were individually mixed in PDA medium and poured in Petri dishes, using doses of 0, 500, 1000, 2000, 3000, 4000 y 5000 ppm then, they

were inoculated with monosporic strains of *Colletotrichum* sp. *Penicillium* sp. y *Rhizopus* sp. The variables evaluated were: mycelial growth and number of spores.

All extracts caused inhibition in the development of the mycelium and quantity of spores. But only the total inhibition was considered with the lowest dosis, it means that the lowest dosis that inhibited in 100 % the development of the studied fungi, was used in *in vivo* test of coating of fruits.

The ethanolic and hexanic extracts of *L. graveolens* inhibited the mycelial and sporulation development in 100 % of *Rhizopus* sp. the *Colletotrichum* sp. in 500 ppm but the mycelium of *Penicillium* sp. in 3000 ppm and the spores in 2000 ppm.

The ethanolic extract of *Agave lechuguilla* inhibited in 37% the mycelium in *Rhizopus* sp. and sporulation in 77.1 % in the doses of 5000 ppm. In *Colletotrichum* sp. the inhibition of the mycelium and the sporulation was of 100 % in the doses of 500 ppm and in the penicillim sp. The inhibition of the mycelium was of 84 % and sporulation of 52.6 % in 5000 ppm. With the hexanic extract of *A. lechuguilla* the inhibition in the sporulation of *Rhizopus* sp. was of 100 % in the doses of 500 and 3000 ppm in the mycelium. In *Colletotrichum* sp. the inhibition was of 91.1 % to the mycelium and 99.7 % to sporulation in the doses of 5000 ppm and in *Penicillium* sp. the inhibition was 84 and 90.5 % with 5000 ppm.

The inhibition caused by the ethanolic extract of *carnerosana* on *Rhizopus* sp. was of 40 % to the mycelium and 30.8 % in the sporulation, to *Colletotrichum* sp. 55 % in the doses of 5000 ppm and with the hexanic extract the inhibition of mycelium and sporulation in *Rhizopus* sp. was of 100 % with 3000 ppm, in *Colletotrichum* sp. 28.9 and 65.5 % and to *Penicillium* sp. 44 and 61.6 % in the doses of 5000 ppm.

The *Yucca filifera* extracts also caused inhibition in the development of the fungi. With ethanolic extract, the inhibition of *Rhizopus* sp. in the mycelium and sporulation was of 100 % with the doses of 4000 ppm in *Colletotrichum* sp. of 35 and 99.1 % and *Penicillium* sp. in 80 and 93.6 % in the doses of 5000 ppm and with hexanic extract the inhibition of mycelium of *Rhizopus* sp. was of 100 % in 4000 ppm and sporulation 3000 ppm in *Colletotrichum* sp. the inhibition of mycelium and sporulation was of 66.7 and 51.2 % and in *Penicillium* sp. of 40 and 54 % with the doses of 5000 ppm.

The second part of this work was the evaluation *in vivo*, consisted in the application of coating of the candelilla wax in emulsion and water in solution, and with hexanic and ethanolic extracts of *Lippia graveolens*, the two best extracts from the first test, on apples and tomatoes.

The candelilla wax was formulated by researchers of the Faculty of Chemical Sciences of the University Autonomy of Coahuila and the fruits were bought in local orchards and local supermarkets.

The treatments were: a) candelilla wax, b) *L. graveolens* hexanic extract in emulsion with candelilla wax, d) hexanic extract in solution with water, e) *L. graveolens* ethanolic extract in solution with water and f) witness.

In the *in vivo* test with inoculation of pathogens above mentioned were evaluated on the fruits distributed as follows: a) fruits with injury and inoculated before the application of coating, b) fruits with injury, c) fruits without injury with the coating and inoculated and d) witnesses: fruits with injury and inoculated and fruits without injury and inoculated. The variables evaluated were: weight loss, color change, firmness, pH, total sugars, °Brix.

The results were presented in many forms for different treatments: the loss of color in the witness was faster than in the rest of the treatments where the color change was gradually without losing the yellow. The decrease in weight loss and firmness were significant with the *L. graveolens* hexanic extract in water for both fruits.

For the variables of total sugars, °Brix and pH, indicated that there was no indicated effect on the physiological processes of fruit. However, the sugar production was reduced by the coatings effect.

The pathogenicity test, the tomatoes without injured and inoculated with *Rhizopus* sp. did not decay, but the tomatoes injured and inoculated decayed before and after putting the coating.

The *L. graveolens* ethanolic extract did not allow the development of *Rhizopus* sp. In inoculated apples and without injury, but the witness apples with injury decay quickly as well as in treatment of candelilla wax and hexanic extract in water.

Injured and inoculated apple decayed before and after the application of the coating; injured apples also decayed before the application of ethanolic extract.

The injured fruits after applying ethanolic and hexanic extracts with candelilla wax coating achieve to resist the development of pathogens keeping all the injured and not injured apples without decay at the same time as the witness.

In the test where *Penicillium* sp. was used, every inoculated but not injured apple did not decay, in contrast with the injured apples that decayed at the same time as the witness before and after the application of the coating in all the treatments.

ÍNDICE GENERAL

	Página
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
REVISIÓN DE LITERAURA	4
<i>Lippia graveolens</i>	4
Descripción botánica	4
Componentes químicos	4
Actividad antifúngica	6
<i>Yucca filifera</i>	6
Descripción botánica	6
Componentes químicos	6
<i>Yucca carnerosana</i>	7
Descripción botánica	7
Componentes químicos	7
Actividad antifúngica	7
<i>Agave lechuguilla</i>	8
Descripción botánica	8
Componentes químicos	8
Actividad antifúngica	8
Reportes de extractos etanólicos y hexánicos de plantas con actividad antifúngica.	9

ARTÍCULO 1: Actividad Antifúngica <i>in vitro</i> de Plantas del Desierto Chihuahuense Mexicano Contra Hongos de Frutos en Postcosecha	11
Abstract	11
Resumen	12
INTRODUCCIÓN	13
MATERIALES Y METODOS	15
Colecta de plantas	16
Obtención de extractos	16
Obtención de hongos	16
Bioensayos	17
Diseño experimental	17
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
Crecimiento micelial de <i>Rhizopus</i> sp.	18
Inhibición de la esporulación de <i>Rhizopus</i> sp.	18
Crecimiento micelial de <i>Colletotrichum</i> sp.	19
Inhibición de la esporulación de <i>Colletotrichum</i> sp.	20
Crecimiento micelial de <i>Penicillium</i> sp.	20
Inhibición de la esporulación de <i>Penicillium</i> sp.	21
CONCLUSIONES	22
AGRADECIMIENTOS	23
LITERATURA CITADA	23

ÍNDICE DE CUADROS ARTÍCULO 1

Cuadro 1. Tratamientos evaluados *in vitro* para determinar la actividad biológica de extractos etanólicos y hexánicos de cuatro especies del Desierto Chihuahuense, contra tres hongos causantes de enfermedades de frutos en postcosecha. 29

Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza del efecto de los extractos etanólicos y hexánicos de *Lippia graveolens*, *Agave lechuguilla*, *Yucca carnerosana*, *Yucca filifera* en el crecimiento micelial de los tres patógenos estudiados. 30

Cuadro 3. Cuadrados Medios del análisis de varianza del efecto de los extractos etanólicos y hexánicos de *Lippia graveolens*, *Agave lechuguilla*, *Yucca carnerosana*, *Yucca filifera* en la esporulación de los tres patógenos estudiados. 30

ÍNDICE DE FIGURAS ARTÍCULO 1

- Figura 1.** Inhibición micelial *in vitro* de *Rhizopus* sp. por efecto de los extractos etanólico (A) y hexánico (B) de *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana*, y *Agave lechuguilla* a diferentes dosis. 31
- Figura 2.** Inhibición de esporulación *in vitro* de *Rhizopus* sp. por efecto de los extractos etanólico (A) y hexánico (B) de *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana*, y *Agave lechuguilla* a diferentes dosis. 31
- Figura 3.** Inhibición micelial *in vitro* de *Colletotrichum* sp. por efecto de los extractos etanólico (A) y hexánico (B) de *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana*, y *Agave lechuguilla* a diferentes dosis. 32
- Figura 4.** Inhibición de esporulación de *Colletotrichum* sp. por efecto de los extractos etanólico (A, B) y hexánico (C, D) de *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana*, y *Agave lechuguilla* a diferentes dosis. 32
- Figura 5.** Inhibición micelial de *Penicillium* sp. por efecto de los extractos etanólico (A) y hexánico (B) de *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana*, y *Agave lechuguilla* a diferentes dosis. 33
- Figura 6.** Inhibición de esporulación de *Penicillium* sp. por efecto de los extractos etanólico (A) y hexánico (B) de *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana*, y *Agave lechuguilla* a diferentes dosis. 33

ARTÍCULO 2: Efecto de la Cubierta de Cera de Candelilla con Extractos de <i>Lippia graveolens</i> en Frutos de Importancia Comercial	34
Abstract	34
Resumen	35
INTRODUCCIÓN	36
MATERIALES Y METODOS	37
Colecta de plantas y obtención de cera de candelilla	37
Obtención del extracto	38
Bioensayos <i>in vitro</i>	38
Bioensayos <i>in vivo</i>	38
Origen de la fruta	38
Preparación de la solución de esporas	39
Preparación de las cubiertas	39
Evaluación antifúngica	40
Ensayos de vida de anaquel	41
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
Pruebas <i>in vitro</i>	42
Bioensayos <i>in vivo</i>	43
Pruebas antifúngica en los frutos	43
Variables evaluadas	44
Pérdida de peso	44
Cambio de color	44
Firmeza	46
Azúcares totales	46
Sólidos solubles totales (°Brix)	47
Cambios en pH	48
CONCLUSIONES	50
LITERATURA CITADA	52

ÍNDICE DE CUADROS ARTÍCULO 2

- Cuadro 1.** Efecto antifúngico de tratamientos de extractos de *Lippia graveolens* con y sin cera de candelilla en frutos de manzana y tomate, resultados observados 3 días después de la inoculación con *Rhizopus* sp. y 8 días después de la inoculación con *Penicillium* sp. 58
- Cuadro 2.** Cuadrados Medios de los análisis de varianza del efecto de las cubiertas de cera de candelilla y agua con extractos etanólicos y hexánicos de *Lippia graveolens*, en la pérdida de peso, cambio de color y firmeza. 58
- Cuadro 3.** Diferencia de los cuadrados medios de los análisis de varianza del efecto de las cubiertas de cera de candelilla y agua con extractos etanólicos y hexánicos de *Lippia graveolens*, cambio de color y firmeza. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. 59

ÍNDICE DE FIGURAS ARTÍCULO 2

- Figura 1.** Pérdida de peso en manzana (A) y tomate (B), aplicando cubiertas de extractos de *L. graveolens* con y sin cera de candelilla. Tratamientos: Cub = Cera de candelilla, CuLiet = Emulsión de cera de candelilla con extracto etanólico; CuLihe = Emulsión de cera de candelilla con extracto hexánico, Lietag = Extracto etanólico en agua, Liheag = Extracto hexánico en agua. Prueba de Tukey 0.05%. 60
- Figura 2.** Cambio de color en manzana (A) y tomate (B), aplicando cubiertas de extractos de *L. graveolens* con y sin cera de candelilla. *ICm* = Índice de Colorimetría, Tratamientos: 1) testigo, 2) cera (Cub), 3) cera más extracto etanólico (CuLiet), 4) cera mas extracto hexánico (CuLihe), 5) extracto etanólico en agua (Lietag), 6) extracto hexánico en agua (Liheag). Tukey 0.05%. 61
- Figura 3.** Efecto de los tratamientos en el cambio de color en manzanas a partir de la semana 5 a la 7. Tratamientos: 1) testigo, 2) cera (Cub), 3) cera más extracto etanólico (CuLiet), 4) cera mas extracto hexánico (CuLihe), 5) extracto etanólico en agua (Lietag), 6) extracto hexánico en agua (Liheag). 62
- Figura 4.** Efecto de los tratamientos en el cambio de color en tomates a partir de la semana 5 a la 7. Tratamientos: 1) testigo, 2) cera (Cub), 3) cera más extracto etanólico (CuLiet), 4) cera mas extracto hexánico (CuLihe), 5) extracto etanólico en agua (Lietag), 6) extracto hexánico en agua (Liheag). 62
- Figura 5.** Efecto de cubiertas de extractos de *L. graveolens* en emulsión con cera de candelilla y agua en frutos de manzana (A) y tomate (B) en la firmeza de los frutos. Tratamientos: 1) testigo, 2) cera (Cub), 3) cera más extracto etanólico (CuLiet), 4) cera mas extracto hexánico (CuLihe), 5) extracto 63

etanólico en agua (Lietag), 6) extracto hexánico en agua (Liheag). Firmeza = El peso utilizado para penetrar la pulpa del fruto, expresado en gramos (g) para tomates y kilogramos (Kg) para manzanas. Prueba de Tukey 0.05 %.

Figura 6. Efecto de cubiertas de extractos de *L. graveolens* en emulsión con cera de candelilla y agua en frutos de manzana (A) y tomate (B) sobre los azúcares totales. Tratamientos: 1) testigo, 2) cera (Cub), 3) cera más extracto etanólico (CuLiet), 4) cera mas extracto hexánico (CuLihe), 5) extracto etanólico en agua (Lietag), 6) extracto hexánico en agua (Liheag). 64

Figura 7. Efecto de cubiertas de extractos de *L. graveolens* en emulsión con cera de candelilla y agua, en los frutos de manzana (A) y tomate (B) sobre los Sólidos solubles totales (°Brix). Tratamientos: 1) testigo, 2) cera (Cub), 3) cera más extracto etanólico (CuLiet), 4) cera mas extracto hexánico (CuLihe), 5) extracto etanólico en agua (Lietag), 6) extracto hexánico en agua (Liheag). 65

Figura 8. Efecto de cubiertas de extractos de *L. graveolens* en emulsión con cera de candelilla y agua en el pH de manzana (A) y tomate (B). Tratamientos: 1) testigo, 2) cera (Cub), 3) cera más extracto etanólico (CuLiet), 4) cera mas extracto hexánico (CuLihe), 5) extracto etanólico en agua (Lietag), 6) extracto hexánico en agua (Liheag). 66

CONCLUSIONES GENERALES

67

LITERATURA CITADA

69

INTRODUCCIÓN

El estudio de las pérdidas en postcosecha y las posibles causas que las provocan, así como la forma de reducirlas o evitarlas, ha llegado a tener gran importancia. Se ha demostrado que es posible incrementar la vida de anaquel de los frutos, con técnicas como el uso de atmósferas controladas (Zarazúa-Escobar *et al.*, 2005) y la aplicación de cubiertas comestibles (Pérez *et al.*, 2003; Bosquez-Molina, 2003; Hernández-Lauzardo *et al.*, 2007).

Las infecciones de los frutos son causadas por microorganismos fitopatógenos que pueden comenzar la infección desde la floración, durante el desarrollo del fruto (Durán *et al.*, 1999) y hasta la cosecha. También pueden ser causadas por lesiones de insectos (Zapata y Alomia, 1986), durante la manipulación en postcosecha y la comercialización. Los hongos son los principales patógenos causantes de pudriciones de frutos en anaquel, para proteger los frutos en la comercialización se utilizan fungicidas químicos (Arias, 2007; Zaccari *et al.*, 2001). Esta situación puede ser peligrosa para los consumidores, de ahí la importancia de explorar y estudiar nuevas formas de control de enfermedades de frutos en postcosecha.

Los extractos vegetales son una alternativa para reducir la presencia de pesticidas residuales tóxicos en los alimentos (Pocoví *et al.*, 1998; Benkeblia, 2004; Guerrero-Rodríguez, 2007). El Desierto Chihuahuense es rico en plantas como *Larrea tridentata* (Lira-Saldivar, 2003), *Casimiroa pringlei*, *Decatropis bicolor*, *Chrysactinia mexicana*, *Flourensia cernua* (Cárdenas-Ortega *et al.*, 2005), que se desarrollan en ambientes ecológicos adversos, por lo que producen metabolitos secundarios para su defensa del medio que las rodea. Otra planta que habita este desierto es *Euforbia antisiphylítica*

mejor conocida como “candelilla”, es una planta de importancia económica para la región ixtlera-candelillera. La recolección de esta planta, así como la extracción de la cera (producto principal) y venta del cerote, han sido un medio de vida para los habitantes de zonas marginadas de varios estados del norte de México como Chihuahua, Coahuila, Durango, San Luis Potosí y Zacatecas. La cera es utilizada para la elaboración de confiterías, velas y cosméticos. En este trabajo se utilizó la cera de candelilla para formar una emulsión de cera en agua, adicionando extractos de plantas del Desierto Chihuahuense como son: *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana* y *Agave lechuguilla*, los cuales se evaluaron al aplicar la emulsión como cubierta sobre frutos de importancia comercial, inoculando hongos fitopatógenos que afectan la vida de anaquel y probando la actividad antifúngica contra estos hongos. Por los antecedentes expuestos, se han planteado los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

Contribuir al conocimiento científico de las plantas del Desierto Chihuahuense que pueden presentar actividad antifúngica, así como desarrollar emulsiones con cera de candelilla y con los extractos de las plantas estudiadas, para ser utilizadas como recubrimiento de los frutos y evaluar su efecto en la vida de anaquel.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar la actividad inhibitoria de los extractos de *Lippia graveolens* (orégano), *Agave lechuguilla* (lechuguilla), *Yucca carnerosana* (yuca) y *Yucca filifera* (palma china), en hongos de postcosecha *in vitro* en siete diferentes dosis.
- Determinar la actividad antifúngica *in vivo*, de los extractos que presentaron los mejores resultados así como las mejores dosis, en mezcla con la emulsión de cera de candelilla en agua, a través del desarrollo de la vida de anaquel de los frutos.

REVISIÓN DE LITERATURA

Lippia graveolens

Descripción botánica

Arbusto delgado de hasta 2 m de alto, ramas con pubescencia corto-pilosa, hojas en pecíolos de 5-10 mm de largo, las láminas oblongas, elípticas a ovalado-blongas, de 2-4 cm de largo, usualmente obtusas o redondeadas en el ápice, algunas veces agudas, redondeadas o subcordadas en la base, densamente pilosas en el haz, suaves al tacto, glandular y densamente tomentosa o pilosa en el envés, el borde crenado; dos a seis pedúnculos en la axila de la hoja, 4-12 mm de longitud. Flores en espigas subglobosas a oblongas de 4-12 mm de largo, cuatro brácteas gruesas, ovaladas a lanceoladas, agudas, glandulares y densamente pilosas; cáliz de 1-2 mm de largo, glandular y veloso; corola blanca, el tubo estrigoso de 3-6 mm de largo (Cáceres, 1996).

Componentes químicos

Los aceites esenciales han sido estudiados por diferentes investigadores y han coincidido que el carvacrol y timol son los componentes principales del orégano, aunque en diferentes porcentajes, dependiendo del lugar de colecta. (Uribe-Hernández *et al.*, 1992).

También se han encontrado otros compuestos importantes, por ejemplo, Pino *et al.* (1989) analizaron la composición del aceite volátil de *L. graveolens* HBK, aislado

por destilación de vapor en cromatografía de columna, cromatografía de gas y espectrometría y lograron identificar un total de 33 componentes incluyendo 22 hidrocarburos, cuatro alcoholes, cuatro éteres, dos fenoles y una cetona.

Por otra parte, Vernin *et al.* (2001) obtuvieron aceites esenciales de *L. graveolens* por hidrodestilación y los analizaron por CG-EM. Identificaron 45 compuestos los cuales constituían el 92-93% del aceite. Los dos componentes principales fueron carvacrol con 34.6 % a 71 % y timol con 5 a 7 %. Además de dos isómeros inusuales: 2-isopropil-4-metilfenol y 4-isopropil-2-metilfenol.

En plantas de *L. graveolens* colectadas en Guatemala encontraron 10 iridoides y secoiridoides glucósidos así como sus derivados ester. Los constituyentes encontrados en menor cantidad fueron loganina, secologanina, secoxiloganina, dimetilsecologanósido, ácido logánico, 8-*epi*- ácido logánico y carioptósido. Los constituyentes encontrados en mayor cantidad fueron los iridoides: ácido carioptosídico y lippióside I y II consistiendo de ácido carioptosídico esterificado en la posición C-6 de glucosa con *p*-coumaroil y residuos de caffeoil. Las estructuras de los mayores constituyentes fueron elucidadas por espectroscopía RMN. (Rastrelli *et al.*, 1998).

En análisis de muestras de aceite esencial de *L. graveolens* utilizando CG-EM, (Senatore y Rigano, 2001), se encontraron sesquiterpenos principalmente, timol (31.6 %), cariofileno (4.6 %) y óxido de cariofileno (4.8 %).

Al analizar por el método CL-DAD-ESI/EM se identificaron 23 flavonoides: luteolina-7-O-glucósido, apigenina 7-O-glucósido, floridzina, taxifolina, eriodictiol, escutellareina, luteolina, quercetina, naringenina, pinocembrina, galangina y la identificación de 6-hidroxluteolina, dos 6-hidroxluteolina 7-O-glicósidos, tres

pentahidroxi-flavanona hexósido, escutellareina 7-O- hexósido, 3-hidroxifloretina hexósido, y otros 3 flavones (Long-Ze *et al.*, 2007).

Actividad antifúngica

Los aceites esenciales de *L. graveolens* han mostrado propiedades antifúngicas, como las reportadas por Hernández *et al.* (2008), que lograron inhibir cepas de hongos fitopatógenos, *Aspergillus niger*, *Fusarium moniliforme*, *F. sporotrichum* y *Rhizoctonia solani*.

Yucca filifera

Descripción botánica

Yucca filifera es una planta de tipo arborescente, que alcanza más de 10 m de altura, se ramifica en su parte superior. El tallo tiene un diámetro de 50 - 90 cm, que con la edad se cubre con hojas muertas como protección. Las hojas no forman un penacho específico, son lineares de hasta 60 cm de longitud, y 2.5 cm de ancho, rectas desde la base y rematadas en un mucrón bastante agudo, no son muy rígidas, fibrosas, de un color pardo castaño, su inflorescencia es una panícula más o menos cónica de hasta 100 cm de longitud, erecta glabra, escasamente pubescente, y presenta flores de un color blanco cremoso (Matuda y Piña, 1980).

Componentes químicos

Los componentes principales de la hoja son las saponinas: sarsapogenina, willagenina y saponinas: filiferina A y filiferina B (Romo *et al.*, 1974).

Yucca carnerosana

Descripción botánica

Yucca carnerosana es una planta caulescente, simétrica, generalmente simple de 1.5 - 6 m de altura, algunas veces hasta 10 m y rara vez se ramifica. Sus hojas son de 50 - 100 cm de longitud y de 5 - 7.5 cm de ancho, rígidas, extendidas, constreñidas cerca de la base, de color verde - azulado, con gruesas cerdas en el margen. Su inflorescencia es una panícula elipsoidal densamente ramificada, que sobresale por completo del follaje, presenta brácteas blancas y persistentes. Fruto oblongo de 5 - 7.5 cm de largo y de 4 cm de diámetro, con un pico en su parte terminal (Matuda y Piña, 1980).

Componentes químicos

Los componentes principales de las hojas son sapogeninas: sarsapogenina, samogenina, (Dominguez, 1980), kammogenina, gitogenina (Scott, 1980).

Actividad antifúngica

Extractos etanólicos de *Y. carnerosana* a 4000 ppm provocaron una baja inhibición del 18 % del crecimiento micelial, al aplicarse *in vitro* en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), contra *Fusarium oxysporum*, pero actuaron como inductor de resistencia a la marchitez vascular (Cárdenas, 2007).

Agave lechuguilla

Descripción botánica

Es una planta suculenta con rosetas verdes-amarillas, se reproduce por estolones. El tallo floral, crece desde un grupo de numerosas hojas centrales. Sus hojas son de 10 - 30 cm de largo y de 2 - 3 cm de ancho, lineares, generalmente falcadas, redondas abajo y acanaladas arriba, los márgenes con 8 - 12 dientes hacia abajo, la planta puede alcanzar hasta 60 cm de altura (Matuda y Piña, 1980).

Componentes químicos

Los primeros estudios sobre la composición de *Agave lechuguilla* encontraron la presencia de esmilagenina y gitogenina con rendimientos de 5g/kg y 0.6g/kg en base seca respectivamente. En la lechuguilla se ha reportado la presencia de esmilagenina (sapogenina esteroidal) que es un precursor esteroidal, además de ocho especies de sapogeninas: yucagenina, gitogenina, hecogenina, tigogenina, diosgenina, gentrogenina, clorogenina y ruizgenina (Blunden *et al.*, 1980).

Actividad antifúngica

Galván *et al.* (2007), reportaron actividad antifúngica con extractos de *Agave lechuguilla* a 4000 ppm, contra *C. gloesporoides* (100 %), *A. alternata* (66.4 %) y *Rhizopus sp.* (78.9 %). También se ha encontrado inhibición de bacterias y levaduras con extractos etanólicos de esta planta (Verástegui *et al.*, 1996).

Reportes de extractos etanólicos y hexánicos de plantas con actividad antifúngica

Se ha reportado que el extracto hexánico de hojas de *Vitex trifolia* inhibió el crecimiento de *Fusarium* en dos días, (Hernández *et al.*, 1999). En pruebas biológicas con extractos hexánicos y etanólicos de la fruta, semillas y hojas de *Melia azedarach* L. se encontró actividad antifúngica contra *Aspergillus flavus*, *Diaporthe phaseolorum* var. Meridionales, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium verticillioides*, y *Sclerotinia sclerotiorum*. También se ha reportado que el extracto hexánico de las hojas y el etanólico de las semillas fueron eficaces en la inhibición con la mínima concentración utilizada (Carpinella *et al.*, 2003).

El extracto hexánico de hojas de *Cupressus lusitanica* fue estudiado con el método de dilución en agar para evaluar las propiedades antifúngicas del extracto crudo y sus fragmentos. Estos fragmentos mostraron varios grados de actividad antidermatófica contra *Microsporum audouinii*, *Microsporum langeronii*, *Microsporum levas*, *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton tonsurans*. Los fragmentos F1 y F3 exhibieron las actividades más altas, mientras los fragmentos F4 y F5 no previnieron el crecimiento de los hongos probados a dosificar 2500 g/ml (Jules-Roger *et al.*, 2006).

Extractos crudos de hojas y corteza de *Cassia alata* obtenidos con etanol y agua fueron probados *in vitro* contra *Aspergillus fumigatus*, *Microsporum canis* y *Cándida albicans*. Los resultados observados fueron la susceptibilidad a los extractos etanólicos y acuosos de la corteza pero resistencia hacia los extractos de hojas (Somchit *et al.*, 2003).

El aceite esencial y los extractos de *Cordia curassavica* (Jacq), obtenidos con hexano, cloroformo y metanol mostraron actividad antimicrobial contra las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas y cinco cepas fúngicas: las cepas de *Sarcina lutea* y *Vibrio* fueron más sensibles al efecto de aceite esencial (MIC = 6 g/mL) y *Vibrio*

cholerae para el extracto con hexano y *Rhizoctonia solani* fue más sensible al efecto de aceite esencial ($IC_{50} = 180$ g/ml) (Hernández *et al.*, 2007).

**ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DE PLANTAS DEL DESIERTO
CHIHUAHUENSE MEXICANO CONTRA HONGOS DE FRUTOS EN
POSTCOSECHA**

**ANTIFUNGAL ACTIVITY *IN VITRO* OF MEXICAN CHIHUAHUAN DESERT
PLANTS AGAINST POSTHARVEST FRUIT FUNGI**

L. E. Moreno Zuccolotto ^a, D. Jasso de Rodríguez ^a, D. Hernández Castillo ^a, R. Rodríguez García ^a, C.N. Aguilar González ^b, J. H. Rancaño Arrijoja ^a

^a Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923, Colonia Buenavista, 25315, Saltillo, Coahuila, México

^b Universidad Autónoma de Coahuila, Blvd. V. Carranza e Ing. José Cárdenas s/n, 25280, Saltillo, Coahuila, México

Abstract

Chemical fungicides have been intensively used in the control of postharvest fruit diseases. However, these actions also have been caused resistance in phytopathogens, environment pollution and have affected the human health by toxic residuals in food consumption. For these reasons, the objective of this study was to evaluate the biological activity of hexanic and ethanolic extracts of *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana* and *Agave lechuguilla*, against *Rhizopus* sp. *Colletotrichum* sp. and

Penicillium sp., fungi that cause postharvest fruit decay. Evaluated variables were: mycelia growth and spore number. A completely randomized experimental design with eight treatments and eight replications was used. Was found that *Lippia graveolens* extracts showed a 100% fungicidal effect ($P \leq 0.01$) against *Rhizopus* sp. *Colletotrichum* sp. and *Penicillium* sp. *Agave lechuguilla* extracts showed also a 100% fungicidal effect against *Rhizopus* sp. and *Colletotrichum* sp ($P \leq 0.01$). *Yucca carnerosana* and *Yucca filifera* extracts showed an inhibitory effect (100 %), against *Rhizopus* sp. ($P \leq 0.01$). Was conclude that: all plant extracts showed inhibitory activity against the studied fungi; the ethanolic extracts showed higer antifungal activity that hexanic extracts; both, ethanolic and hexanic extracts of *Lippia graveolens* at 500 ppm, showed the best antifungal activity against *Rhizopus* sp. *Colletotrichum* sp. and *Penicillium* sp.; also that the ethanolic extract of *Yucca carnerosana* in all tested doses, increased the *Colletotrichum* sp. sporulation.

Key words: Plant extracts, mycelia growth inhibition, spore inhibition, postharvest fruit decay.

Resumen

Los fungicidas químicos se han utilizado intensamente durante muchos años para el control de enfermedades de frutos en postcosecha. Sin embargo, también se ha ocasionado resistencia en estos patógenos, contaminación del medio ambiente y complicaciones en la salud humana por el consumo de alimentos con residuos tóxicos. Por lo anterior, en este estudio se evaluó la actividad biológica de extractos hexánicos y etanólicos de *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana* y *Agave lechuguilla*,

contra *Rhizopus* sp. *Colletotrichum* sp. y *Penicillium* sp., hongos causantes de enfermedades de frutos en postcosecha. Las variables evaluadas fueron: crecimiento micelial y número de esporas. Se utilizó un diseño completamente al azar con ocho repeticiones. Los resultados mostraron que el extracto de *Lippia graveolens* presentó el 100 % de inhibición micelial, ($P \leq 0.01$) contra *Rhizopus* sp. *Colletotrichum* sp. y *Penicillium* sp. El extracto de *Agave lechuguilla* también mostró efecto fungicida del 100 % contra *Rhizopus* sp. y *Colletotrichum* sp ($P \leq 0.01$). Los extractos de *Yucca carnerosana* y *Yucca filifera* mostraron inhibición micelial del 100 % contra *Rhizopus* sp. ($P \leq 0.01$). Se concluye que: todos los extractos mostraron actividad inhibitoria contra los hongos en estudio; los extractos etanólicos mostraron mayor actividad antifúngica que los extractos hexánicos; los extractos etanólicos y hexánicos de *Lippia graveolens* presentaron la mejor actividad antifúngica a 500 ppm contra *Rhizopus* sp. *Colletotrichum* sp. y *Penicillium* sp. y que el extracto etanólico de *Yucca carnerosana* en todas las dosis incrementó la esporulación de *Colletotrichum* sp.

Palabras clave: Extractos vegetales, inhibición del crecimiento micelial, inhibición de esporas, enfermedades de frutos en postcosecha.

INTRODUCCIÓN

En la búsqueda de nuevos compuestos naturales bio-activos en beneficio del hombre, se han explorado y colectado plantas en diferentes tipos de ecosistemas (Magallanes *et al.*, 2003; Rojas-Fernández *et al.*, 2008; Wilps *et al.*, 1993) estas plantas han sido analizadas en sus componentes químicos y sus reacciones biológicas, para la elaboración de medicamentos (Ghosh y Chatterjee, 2008; Kuskoski *et al.*, 2005),

antioxidantes (Lim y Murtijaya, 2007), conservadores de alimentos, y plaguicidas naturales (Pérez *et al.*, 2004).

Durante muchos años los fungicidas químicos se han utilizado intensamente para el control de enfermedades de frutos en postcosecha. Sin embargo, también se ha ocasionado resistencia en estos patógenos, contaminación del medio ambiente (Torres y Capote, 2004; Rivas *et al.*, 2005) y complicaciones en la salud humana por el consumo de alimentos con residuos tóxicos (Palacios y Moreno, 2004). Por lo que es necesario buscar alternativas al uso de plaguicidas sintéticos.

En la actualidad el número de investigaciones sobre plantas que muestran actividad biológica en hongos ha incrementado (Alcalá *et al.*, 2005; Amzad *et al.*, 2008; Macarena y San, 2008). En Mexico el estudio del germoplasma de plantas con actividad biológica sigue en aumento (González *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2007; Hernández *et al.*, 2007).

En plantas del Desierto Chihuahuense como *Lippia graveolens*, se han encontrado fenoles tales como: flavonoides, ácido Rosmarínico y Naringenina (Martínez *et al.*, 2008) y aceites esenciales como: monoterpenos, carvacrol, timol, *p*-cimeno, 1, 8 cineol (Compadre *et al.*, 1987).

En *Yucca filifera* los principales compuestos encontrados en las hojas son las sapogeninas: sarsapogenina (Quintero *et al.*, 1980), willagenina (Monroe, 1980). En *Yucca carnerosana* se han encontrado las sapogeninas: sarsapogenina, samogenina (Monroe, 1980), kammogenina y gitogenina (Domínguez, 1980). En *Agave lechuguilla*, el componente principal de las hojas es la sapogenina: esmilagenina (Monroe, 1980).

Continuando con nuestro trabajo de equipo en la búsqueda de compuestos naturales que posean actividad microbicida y que sean amigables con el medioambiente

el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad biológica *in vitro* de extractos hexánicos y etanólicos de *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana* y *Agave lechuguilla*, contra *Rhizopus* sp. *Colletotrichum* sp. y *Penicillium* sp., hongos causantes de enfermedades de frutos de interés comercial en postcosecha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de plantas

L. graveolens se colectó durante septiembre a noviembre de 2007, en El Barrial de Guadalupe, Municipio de Torreón, Coahuila, localizado en las coordenadas 25° 00' 00.11" N y 103° 14' 33.54" O, a 1320 m de altitud. *Yucca filifera* fue colectada en enero de 2008, cerca de la carretera 54, Zacatecas - Saltillo, Km 293, en el ejido Gómez Farías, coordenadas 24° 57' 00.11" N, 101° 04' 33.54" O, a 1895 m de altitud. *Yucca carnerosana* y *Agave lechuguilla* se colectaron en enero 2008 en Carneros, Coahuila, en la carretera 54, Saltillo - Zacatecas, Km 316, las coordenadas de 25° 03' 51.23" N, 101° 05' 04.32" O, y 2104 m de altitud.

Las ramas de *L. graveolens* así como las hojas de *Y. carnerosana*, *Y. filifera* y *A. lechuguilla*, se colocaron en condiciones adecuadas para ser transportadas al laboratorio de fitoquímica de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) en donde se colocaron en un cuarto frío y se prepararon para la obtención de extractos.

Obtención de extractos

Para el proceso de preparación de extractos, de las ramas de *L. gavyreolens* fueron manualmente separadas las hojas, las cuales fueron cortadas para obtener una muestra con tejido de menor tamaño de partículas. Las hojas de *Y. carnerosana*, *A. lechuguilla* y de *Y. filifera* fueron manualmente cortadas en trozos pequeños. De cada una de las especies se pesaron 230 g de muestra, los cuales se colocaron en un frasco color ámbar y se agregaron 2.5 L de solvente (etanol ó hexano). La mezcla se agitó en un baño de agitación mecánica, modelo Brickman (Precisión Scientific Co., Chicago, IL, USA), por 22 h a 150 rpm a temperatura ambiente. El extracto obtenido se filtró sobre papel Wathman No. 1, y el solvente se separó en un rotavapor Buchi (Laboratoriums-Tecnik, Scheweiz). Una vez separado el solvente de la resina, se eliminó el solvente residual colocando el matraz en una estufa de secado durante 24 h y la resina se conservó en un desecador.

Obtención de los hongos

Rhizopus sp., *Colletotrichum* sp. y *Penicillium* sp. fueron colectados de frutos de manzana, mango y naranja, que presentaban síntomas característicos causados por hongos de postcosecha, tales como: necrosamiento, antracnosis y pudriciones. Se realizaron cortes pequeños en el área de avance de la enfermedad de los frutos. Los cortes se desinfectaron en solución de cloro al 3 % por 3 min, se enjuagaron tres veces con agua esterilizada y se secaron en papel estéril y después se sembraron en medio Papa-Dextrosa-Agar (PDA). Una vez que se observó crecimiento de algún hongo, éste fue inoculado en una nueva caja Petri con medio PDA, para ser identificados (Barnett y Hunter, 1972; Agrios, 2004).

Bioensayos

Con las especies, los solventes y las dosis se generaron los tratamientos que se muestran en el Cuadro 1, para lo cual, se prepararon los extractos a diferentes dosis, se mezclaron en el medio PDA y se vaciaron en cajas Petri. Posteriormente se colocaron inóculos con cepas de los hongos en el centro de las cajas Petri con el medio envenenado.

Las variables evaluadas fueron: a) crecimiento del micelio en centímetros y b) el número de esporas transformadas con la fórmula $(\log(x+5))$ (Ostle, 1963). Las mediciones del radio de crecimiento se realizaron con vernier digital cada 24 h. durante 3 días para *Rhizopus* sp. y 8 días para *Penicillium* sp. y *Colletotrichum* sp. ó hasta que el testigo cubrió toda la superficie del medio PDA y las esporas fueron contadas con la ayuda de una cámara de Neubauer.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar con ocho repeticiones en arreglo factorial AXBXC, en donde A = especie, B = solvente y C = dosis. Para el análisis de los datos se utilizó el paquete SAS, 9.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza (ANVA) presentó diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para la variable crecimiento micelial (Cuadro 2), para las especies, solvente,

dosis e interacciones. Por lo anterior podemos considerar que es posible hacer una amplia selección, para aplicación de estos resultados. Por lo que respecta a los resultados del ANVA para la variable esporulación (Cuadro 3), se presentaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para especie, solvente, dosis e interacciones, de lo cual deducimos que tenemos una excelente gama de información para efectuar una selección y continuar con nuestros estudios

Crecimiento micelial de *Rhizopus* sp.

Los extractos etanólicos sobre el género *Rhizopus* (Fig. 1A) presentaron por *L. graveolens* una inhibición del 100 % desde 500 ppm. *Y. filifera* también inhibió al 100 % al patógeno a partir de 4000 ppm, presentando a 2000 ppm una inhibición superior al 60 %. *Y. carnerosana* y *A. lechuguilla* reportaron inhibición micelial de 40 % a 1000 ppm y 5000 ppm respectivamente. Por lo que respecta al efecto de los extractos hexánicos sobre el mismo patógeno (Fig. 1B) podemos observar una actividad antifúngica superior al de los extractos etanólicos ya que *L. graveolens*, presentó un 100 % de inhibición a partir de 500 ppm, *A. lechuguilla* y *Y. carnerosana* inhibieron al 100 % a 3000 ppm y *Y. filifera* alcanzó la máxima inhibición (100 %) a 4000 ppm.

Inhibición de la esporulación de *Rhizopus* sp.

La inhibición de la esporulación de *Rhizopus* sp. por los extractos etanólicos de las plantas estudiadas (Fig. 2A) reportó un 100 % por *L. graveolens* a partir de 500 ppm. *Y. filifera* incrementó su potencial de inhibición desde 500 ppm (> 60 %), hasta 4000 ppm (100 %). *A. lechuguilla* reportó inhibición de 40 % a 1000 ppm hasta

aproximadamente 80 % a 500 ppm. El extracto que presentó menor inhibición fue el de *Y. carnerosana*, de 20 % a 2000 ppm hasta 30 % a 5000 ppm.

Los extractos etanólicos y hexánicos de todas las especies estudiadas presentaron una inhibición de la esporulación que fluctuó desde el 1.7 % hasta el 100 % en todas las dosis evaluadas (Fig. 2). Los extractos etanólico y hexánico de *L. graveolens* causaron una inhibición del 100 % con todas las dosis, *Y. filifera* mostró una inhibición del 40 al 82.2 % en las dosis de 500 a 3000 ppm, y una inhibición del 100 % en las dosis de 4000 y 5000 ppm. *A. lechuguilla* causó inhibición del 9.4 al 77.1 % con extracto etanólico y el 100 % en todas las dosis con extracto hexánico, *Y. carnerosana* causó inhibición del 1.7 al 83 % con extracto etanólico en las dosis de 500 a 5000 ppm y con extracto hexánico de 4.8 al 83 % en las dosis de 500 a 2000 ppm y del 100% en las dosis de 3000 a 5000 ppm (Fig. 2A).

Crecimiento micelial de *Colletotrichum* sp.

El efecto de los extractos de plantas en etanol sobre *Colletotrichum* sp. (Fig. 3A) dio como resultado que *L. graveolens* y *A. lechuguilla* inhibieran el desarrollo micelial del patógeno al 100 % a partir de 500 ppm. Por otra parte, los extractos de *Y. carnerosana* y de *Y. filifera* inhibieron en un 50 % y en un 30 % en las dosis de 2000 y 5000 ppm respectivamente. En cuanto a los resultados de los extractos obtenidos en hexáno sobre el mismo patógeno, *L. graveolens* inhibió el 100 % a 2000 ppm, *A. lechuguilla* inhibió aproximadamente el 80 % a partir de 2000 ppm y la *Y. filifera* inhibió el desarrollo micelial en más del 50 % a 3000 ppm. La *Y. carnerosana* inhibió un 30 % a 4000 ppm. Los resultados mostraron que los extractos de etanol de *L. graveolens* y *A. lechuguilla*,

lograron concentrar un mayor número de compuestos bioactivos, por lo que son mas recomendables para la inhibición de este patógeno.

Inhibición de la esporulación de *Colletotrichum* sp.

El efecto de los extractos etanólicos sobre la inhibición de la esporulación (Fig. 4A) fue aproximadamente del 100 % para *L. graveolens*, *A. lechuguilla* y *Y. filifera*, a excepción de *Y. carnerosana* que promovió la esporulación en un 378 %. Lo anterior sugiere que esta planta podría funcionar como un promotor (sustrato) para el crecimiento del patógeno.

Crecimiento micelial de *Penicillium* sp.

Los extractos etanólicos de las especies vegetales en estudio dieron como resultado sobre *Penicillium* sp (Fig. 5A) la siguiente información: *L. graveolens* a las 500 ppm inhibió en un 50 % el patógeno y a partir de 2000 ppm, la inhibición fue del 100 %. *Y. filifera* a 500 ppm inhibió en un 70 % y en 80 % a 1000 ppm. *A. lechuguilla* a 3000 ppm inhibió en un 60 % para alcanzar aproximadamente 80 % a 4000 ppm. *Y. carnerosana* obtuvo más de un 60 % de inhibición a 5000 ppm. Al respecto de los extractos obtenidos con hexano, *L. graveolens* inhibió más de un 60 % del patógeno a 1000 ppm y alcanzó aproximadamente un 100 % a 2000 ppm. *A. lechuguilla* logró inhibir el 80 % a 3000 ppm. Finalmente *Y. filifera* inhibió un 40 % del micelio a 2000 ppm y *Y. carnerosana* presentó el mismo porcentaje de inhibición a 3000 ppm. Nuevamente el efecto sinérgico de los compuestos extraídos por etanol logró una mayor inhibición del patógeno, que los resultados de los extractos hexánicos.

Inhibición de la esporulación de *Penicillium* sp.

Para la inhibición de esporulación de *Penicillium* sp. mediante los extractos de las plantas con etanol (Fig. 6A) se obtuvieron excelentes resultados a partir de 500 ppm en donde *L. graveolens* inhibió aproximadamente el 100 %. A 1000 ppm, *Y. filifera* inhibió el 90 % y *A. lechuguilla* logró inhibir en un 50 % la esporulación a 5000 ppm. *Y. carnerosana* inhibió aproximadamente 20 % del patógeno a 1000 ppm, pero a continuación disminuyó su actividad. En relación al efecto de los extractos de las plantas obtenidos con hexano el resultado fue diferente de la anterior ya que *L. graveolens* requirió de 1000 ppm para inhibir 90 % del patógeno. *A. lechuguilla* inhibió 80 % a 4000 ppm; *Y. carnerosana* presentó su mayor inhibición superior al 60 % a 3000 ppm y *Y. filifera* inhibió aproximadamente el 50 % a 5000 ppm.

Los resultados obtenidos de *L. graveolens* muestran el potencial antifúngico de esta especie, atribuidos al contenido de timol y carvacrol que son compuestos naturales de esta planta con actividad antimicrobial (Salgueiro *et al.*, 2003). Por otra parte, Obledo (2002), encontró actividad antifúngica contra *Fusarium oxysporum*, y Hernández (2008), reportó inhibición micelial contra *Aspergillus niger*, *Fusarium moniliforme*, *F. sporotrichum* y *Rhizoctonia solani*, confirmando estos resultados. *Agave lechuguilla*, *Yucca carnerosana* y *Yucca filifera* son plantas que pertenecen a la familia de las agaváceas, las cuales son ricas en saponinas (Hernández *et al.*, 2005) estos compuestos han sido reportados como antifúngicos (Chong-Ren *et al.*, 2006; Mert, 2005) y posiblemente sean el principal componente químico que causó la inhibición parcial y total en los hongos estudiados.

Estos resultados coinciden con lo reportado por Galván *et al.* (2007), sobre la capacidad antifúngica de *A. lechuguilla*, contra *C. gloesporoides* (100 %), *A. alternata* (66.4 %) y *Rhizopus sp.* (78.9 %) con extractos a 4000 ppm.

Existen especies del género *Yucca* que han sido reportadas con actividad antifúngica, tales como: *Y. gloriosa* (Favel *et al.*, 2005); *Y. smalliana* que mostró actividad antifúngica contra *Fusarium oxysporum* y *Rizoctonia solani* (Yu *et al.*, 2006); *Y. schidigera* contra levaduras (Miyakoshi *et al.*, 2000) y contra *Pythium ultimum*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Colletotrichum coccodes* y *Verticillium dahliae* (Chapagain *et al.*, 2007). En todos estos reportes, la actividad biológica de *Yucca* spp. es atribuida a las saponinas esteroidales. Este tipo de saponinas están reportadas como antifungales (Zamilpa *et al.*, 2002). *Yucca filifera* y *Y. carnerosana* también contienen saponinas esteroidales (Kenney y Wall, 1957; Monroe *et al.*, 1953) por lo que se puede sugerir que estos compuestos causaron la inhibición de los hongos estudiados.

CONCLUSIONES

Todos los extractos de las especies vegetales mostraron actividad inhibitoria en diferente porcentaje, contra el desarrollo de los hongos en estudio. Los extractos etanólicos exhibieron mayor actividad antifúngica que los extractos hexánicos. Los extractos etanólicos y hexánicos de *Lippia graveolens* evidenciaron la mejor actividad antifúngica a 500 ppm contra *Rhizopus sp.*, *Colletotrichum sp.* y *Penicillium sp.* El extracto etanólico de *Yucca carnerosana* en todas las dosis incrementó la esporulación de *Colletotrichum sp.*

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a José Antonio Moreno Zuccolotto, estudiante de licenciatura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por la elaboración de los extractos, a Ana Azucena Salas Correa de la Universidad Autónoma de Coahuila, por la ayuda en la captura de datos y a Edith E. Chaires Colunga y María Guadalupe Pérez Ovalle de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por su valiosa colaboración en el laboratorio.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N., 2004. Fitopatología. Departamento de Fitopatología, Universidad de Massachusetts. Limusa, segunda edición. México, D.F. 756 p.
- Alcalá de Marcano, D., Vargas, N., Pire, A., 2005. Efecto de extractos vegetales y fungicidas sintéticos sobre el crecimiento micelial *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* y *Thielaviopsis basicola*. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Revista de la Facultad de Agronomía 22: 4-7.
- Amzad-Hossain, M., Zhari, I., Atiqur, R., Kang-Sun, C., 2008. Chemical composition and anti-fungal properties of the essential oils and crude extracts of *Orthosiphon stamineus* Benth. Industrial Crops and Products 27: 328-334.
- Barnett, H., Hunter, B., 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Burgess Pub. Third Edition. Minneapolis, Minn. USA. 271 p.

- Chapagain, B., Wiesman, Z., Tsrer, L., 2007. In vitro study of the antifungal activity of saponin-rich extracts against prevalent phytopathogenic fungi. *Industrial Crops and Products* 26: 109-115.
- Chong-Ren, Y., Zhang, Y., Jacob, M., Khan, S. I., Ying-Jun, Z., Xing-Cong, L., 2006. Antifungal activity of C-27 steroidal saponins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50: 1710-1714.
- Compadre, C., Hussain, R., León, I., Enríquez, R., 1987. Volatile constituents of *Montanoa tomentosa* and *Lippia graveolens*. *Planta Medic.* 53:495-496.
- Domínguez, X., 1980. Quimiotaxonomía del Genero *Yucca*. Centro de Investigación en Química Aplicada. Saltillo, Coahuila, México. Vol. 3. 330 p.
- Durán, A., Mora, D., Chavarría, E., 1999. Determinación de la edad susceptible del fruto de la papaya *Carica papaya* L. a la antracnosis *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. *Agronomía Mesoamericana* 10: 01-06.
- Favel, A., Kemertelidze, E., Benidze, M., Fallague, K., Regli, P. 2005. Antifungal activity of steroidal glycosides from *Yucca gloriosa* L. *PTR. Phytotherapy research* 19: 158-161.
- Galván, C.A., Jasso, D., Guerrero, R., Hernández, C.D., Ventura, L.O. 2007. Extracto de plantas del semidesierto contra hongos de postcosecha. Congreso Latinoamericano y del Caribe de Fitopatología. Resumen 135.
- Ghosh-Hazra A., Chatterjee P. 2008. A nontoxic antitumour compound from the leaves of *Bauhinia scandens* characterized as 1-O-alkyl glycerol by gas-liquid chromatography and evaluation of its antitumour property by Brine Shrimp bioassay. *Industrial Crops and Products* 27: 39-43.

- González-Acosta, A., del Pozo-Núñez, E., Galván-Piña, B., González-Castro, González-Cárdenas J., 2006. Extractos vegetales y aceites minerales como alternativa de control de mosca blanca *Bemisia* spp. en berenjena *Solanum melongena* L. en el Valle de Culiacán, Sinaloa, México. *Revista Científica UDO Agrícola* 6: 84-91.
- Hernández-Albíter, R., Barrera-Necha, L., Bautista-Baños, S., Bravo-Luna, L. 2007. Antifungal potential of crude plant extracts on conidial germination of two isolates of *Colletotrichum gloesporioides* (Penz.) Penz. And Sacc. *Revista de Fitopatología Mexicana A. C.* 25:180-185.
- Hernández-Lauzardo, A. N., Bautista-Baños, S., Velázquez-del Valle, M., 2007. Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30: 119-123.
- Hernández, S., Lugo, E., Diaz, L., Villanueva, S. 2005. Extracción y cuantificación indirecta de las saponinas de *Agave lechuguilla* (Torrey). *E-Gnosis* 3: Art. 11.
- Hernández, T., Canales, M., Duran, Á., Meráz, S., Dávila, P., Ávila, J. G., García, A., 2008. Actividad antifúngica del aceite esencial de dos Verbenaceae: *Lantana achyranthifolia* and *Lippia graveolens* de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México; *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 7: 202-206.
- Kenney, H., Wall, M., 1957. Notes Steroidal Sapogenins. XLI. Willagenin, a New 12-Keto Sapogenin. *Journal of Organic Chemistry* 22: 468-469.
- Kuskoski, E., Roseane, F., García, A., Troncoso, G., 2005. Propiedades químicas y farmacológicas del fruto guaraná (*Paullinia cupana*). *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica* 12: 45-52.

- Lim, Y., Murtijaya, J., 2007. Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *Swiss Society of Food Science and Technology* 40: 1664-1669.
- Macarena-Stuardo, R., San, M., 2008. Antifungal properties of quinoa *Chenopodium quinoa* Willd alkali treated saponins against *Botrytis cinerea*. *Industrial Crops and Products* 27: 296-302.
- Magallanes, C., Córdova, C., Orozco, R., 2003. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de macroalgas marinas de la costa central del Perú. *Revista Peruana Biologica*. 10: 125-132.
- Martínez-Rocha, A., Puga, R., Hernández-Sandoval, A., Loarca-Piña, F., Mendoza, S., 2008. Antioxidant and antimutagenic activities of Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth) *Plant Foods for Human Nutrition* 63: 1-5.
- Mert-T.rk., F., 2006. Saponins versus plant fungal pathogens. *Journal of Cell and Molecular Biology* 5: 13-17.
- Miyakoshi, M., Tamura, Y., Masuda, H., Mizutani, K., Tanaka, O., Ikeda, T., Ohtani, K., Kasai, R., Yamasaki, K., 2000. Antiyeast Steroidal Saponins from *Yucca schidigera* (Mohave Yucca), a New Anti-Food-Deteriorating Agent. *Journal Natural Products* 63:332–338.
- Monroe, E., 1980. *Yucca and Agave, Renewable Biomaterials for Production of Steroid Hormones*. Centro de Investigación en Química Aplicada. Saltillo, Coahuila, México. Vol. 3. 330 p.
- Monroe, E., Krider, M., Krewson, C., Roland-Eddy, C., Willaman, J., Correll, D., Gentry, H., 1953. Steroidal saponins VII. Survey of plants for steroidal

- sapogenins and other constituents. *Journal of the American Pharmaceutical Association* 43: 1-7.
- Obledo, E., Javiel-Robles, E., García-Fajardo, J., Ramirez-Cordova, J., 2002. Antimicrobial activity of the essential oil of Mexican oregano (*Lippia graveolens* H.B.K.) against pathogens of *Agave tequilana* Weber var. Azul. *Phyton* 29: 249-254.
- Ostle, B., 1963. *Estadística Aplicada*. Ed. Limusa. México, D.F. 629 p.
- Palacios-Nava, M., Moreno-Tetlacuilo, L., 2004. Diferencias en la salud de jornaleras y jornaleros agrícolas migrantes en Sinaloa, México. *Salud Publica Mex.*, 46: 286-293.
- Pérez-Pacheco, R., Rodríguez-Hernández, C., Lara-Reyna, J., Montes-Belmont, R., Ramírez-Valverde, G., 2004. Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex Quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) *Acta Zoológica Mexicana* (N.S.) 20: 141-152.
- Quintero, A., Rosas, V., Baca, M., Romo de Vivar, A., 1980. Estudio de Las condiciones de cultivo de células de *Yucca filifera* y su cuantificación de Sarsasapogenina. *Centro de Investigación en Química Aplicada*. Saltillo, Coahuila, México. Vol. 3. 330 p.
- Rivas, Z., Márquez, R., Troncone, F., Sánchez, J., Colina, M., Hernández, P. 2005. Contribución de principales ríos tributarios a la contaminación y eutrofización del Lago de Maracaibo. *Ciencia* 13: 68-77.
- Rojas-Fernández, J. A., Balza-Quintero, A., Marcano, V., Rojas, P. A., Dávila-Vera, D., Peña-Contreras, Z., Mendoza-Briceño, R. V., Palacios-Prü E., 2008. Metabolitos secundarios de líquenes de la zona nival de la Sierra Nevada de Mérida-

- Venezuela y su papel en la absorción de la radiación ultravioleta. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 65: 59-72
- Salgueiro, L., Cavaleiro, G., Cunha, M., Da-Cunha A., 2003. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. *Planta Médica* 69: 80-83.
- Torres, D., Capote, T., 2004. Agroquímicos un problema ambiental global: uso del análisis químico como herramienta para el monitoreo ambiental. *Ecosistemas* 13: 2-6.
- Wilps, H., Nasseh, O., Rembold H., Krall, S., 1993. The effect of *Melia volkensii* extracts on mortality and fitness of adult *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (Orth., Cyrtacanthacrinae): investigations conducted under natural conditions in *S. gregaria* recession areas in the southern Tamesna Desert (Republic of Niger). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 6: 12-19.
- Yu-Lan, J., Woo-Jin, J., Ju-Hee, K., Jung-Bong, K., Kil-Yong, K., Ro-Dong, P., 2006. Antifungal and antioxidative activities of *Yucca smalliana*. *Archives of Pharmacal Research* 30: 543-546.
- Zamilpa, A., Tortoriello, J., Navarro, V., Delgado, G., Alvarez, L., 2002. Five new steroidal saponins from *Solanum chrysotrichum* leaves and their antimycotic activity. *Journal Natural Products* 65: 1815-1819.

Cuadro 1. Tratamientos evaluados *in vitro* para determinar la actividad biológica de extractos etanólicos y hexánicos de cuatro especies del Desierto Chihuahuense, contra tres hongos causantes de enfermedades de frutos en postcosecha.

Especie	Solvente	Dosis (ppm)	Tratamientos Evaluados	No. Trat.
<i>Lippia graveolens</i> (L.g)	Etanol (Et)	0, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000	L.g Et 0, L.g Et 500, L.g Et 1000, L.g Et 2000, L.g Et 3000, L.g Et 4000, L.g Et 5000	7
<i>Yucca filifera</i> (Y.f)	✓	✓	Y.f Et 0, Y.f Et 500, Y.f Et 1000, Y.f Et 2000, Y.f Et 3000, Y.f Et 4000, Y.f Et 5000	7
<i>Yucca carnerosana</i> (Y.c)	✓	✓	Y.c Et 0, Y.c Et 500, Y.c Et 1000, Y.c Et 2000, Y.c Et 3000, Y.c Et 4000, Y.c Et 5000	7
<i>Agave lechuguilla</i> (A. l)	✓	✓	A.l Et 0, A.l Et 500, A.l Et 1000, A.l Et 2000, A.l Et 3000, A.l Et 4000, A.l Et 5000	7
<i>Lippia graveolens</i> (L.g)	Hexáno (Hx)	0, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000	L.g Hx 0, L.g Hx 500, L.g Hx 1000, L.g Hx 2000, L.g Hx 3000, L.g Hx 4000, L.g Hx 5000	7
<i>Yucca filifera</i> (Y.f)	✓	✓	Y.f Hx 0, Y.f Hx 500, Y.f Hx 1000, Y.f Hx 2000, Y.f Hx 3000, Y.f Hx 4000, Y.f Hx 5000	7
<i>Yucca carnerosana</i> (Y.c)	✓	✓	Y.c Hx 0, Y.c Hx 500, Y.c Hx 1000, Y.c Hx 2000, Y.c Hx 3000, Y.c Hx 4000, Y.c Hx 5000	7
<i>Agave lechuguilla</i> (A. l)	✓	✓	A.l Hx 0, A.l Hx 500, A.l Hx 1000, A.l Hx 2000, A.l Hx 3000, A.l Hx 4000, A.l Et 5000	7
Total				56

Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza del efecto de los extractos etanólicos y hexánicos de *Lippia graveolens*, *Agave lechuguilla*, *Yucca carnerosana*, *Yucca filifera* en el crecimiento micelial de los tres patógenos estudiados

Fuente	GL	Cuadrados Medios		
		Crecimiento Micelial		
		<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.
Especie	3	144.5 **	20.1 **	68.1 **
Solvente	1	54.7 **	7.6 **	113.5 **
Dosis	6	74.4 **	28.9 **	87.41 **
Especie x solvente	3	21.56 **	7.7 **	28.7 **
Especie x dosis	18	4.35 **	1.2 **	7.1 **
Solvente x dosis	6	6.88**	0.33 **	4.1 **
Especie x solvente x dosis	18	0.93 **	0.39 **	1.3 **
Error	392	0.01	0.01	0.008
Total	447			
C. V.		7	9.4	5.52

C. V.= Coeficiente de variación. GL= Grados de libertad. ** Diferencia altamente significativa al 0.01% nivel de probabilidad

Cuadro 3. Cuadrados Medios del análisis de varianza del efecto de los extractos etanólicos y hexánicos de *Lippia graveolens*, *Agave lechuguilla*, *Yucca carnerosana*, *Yucca filifera* en la esporulación de los tres patógenos estudiados

Fuente	GL	Cuadrados Medios		
		No. de Esporas		
		<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.
Especie	3	378.9 **	267.22 **	171.7 **
Solvente	1	69.7 **	11.12 **	272.5 **
Dosis	6	50.7 **	39.8 **	104.7 **
Especie x solvente	3	15.7 **	11.24 **	79.9 **
Especie x dosis	18	12 **	25 **	18 **
Solvente x dosis	6	6.4 **	4.26 **	17 **
Especie x solvente x dosis	18	3.96 **	3.3 **	8.3 **
Error	392	0.22	0.06	0.01
Total	447			
C. V.		13.7	4.54	3.49

C. V.= Coeficiente de variación. GL= Grados de libertad. ** Diferencia altamente significativa al 0.01% nivel de probabilidad

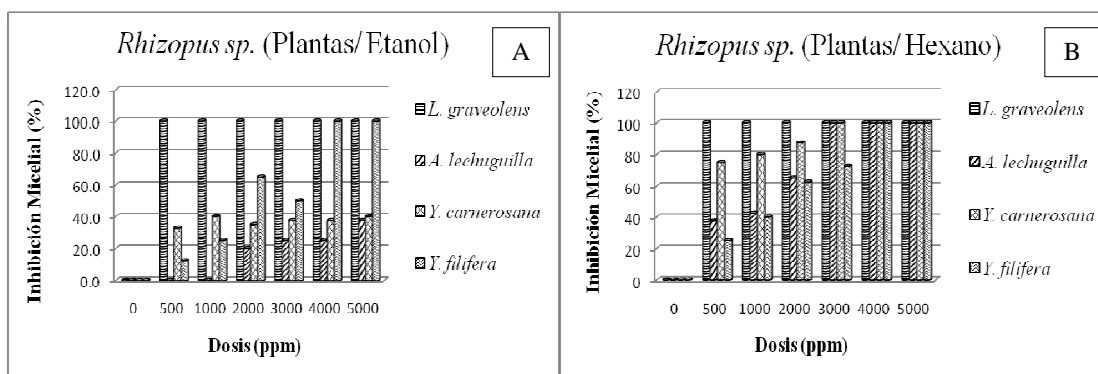


Figura 1. Inhibición micelial *in vitro* de *Rhizopus sp.* por efecto de los extractos etanólico (A) y hexánico (B) de *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana*, y *Agave lechuguilla* a diferentes dosis.

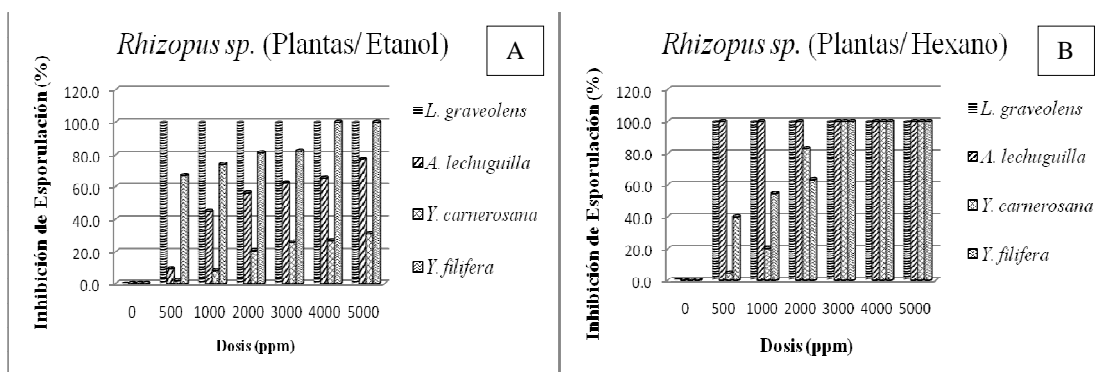


Figura 2. Inhibición de esporulación *in vitro* de *Rhizopus sp.* por efecto de los extractos etanólico (A) y hexánico (B) de *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana*, y *Agave lechuguilla* a diferentes dosis.

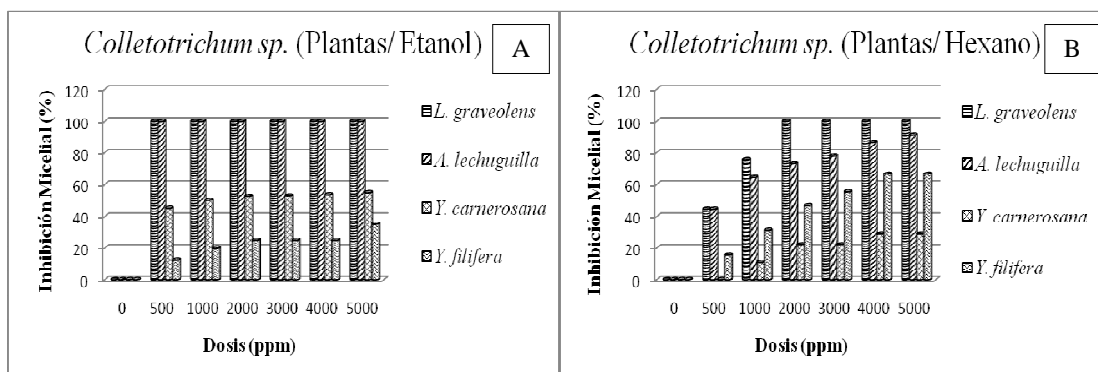


Figura 3. Inhibición micelial *in vitro* de *Colletotrichum* sp. por efecto de los extractos etanólico (A) y hexánico (B) de *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana*, y *Agave lechuguilla* a diferentes dosis.

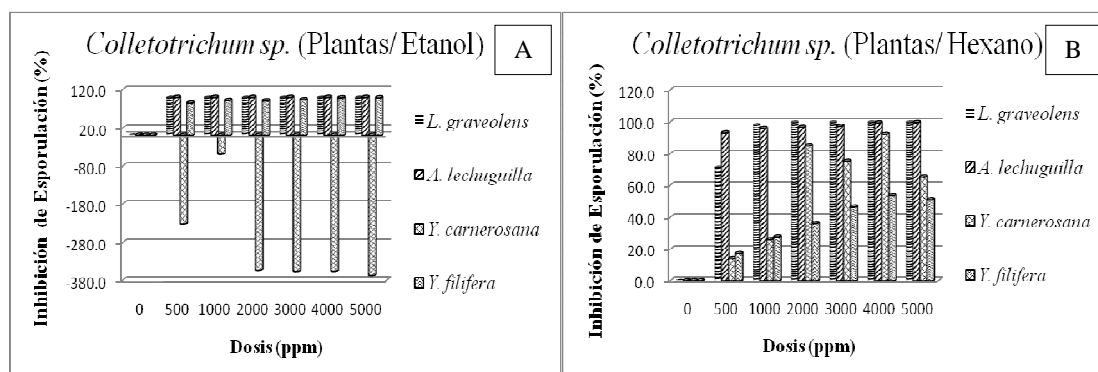


Figura 4. Inhibición de esporulación de *Colletotrichum* sp. por efecto de los extractos etanólico (A, B) y hexánico (C, D) de *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana*, y *Agave lechuguilla* a diferentes dosis.

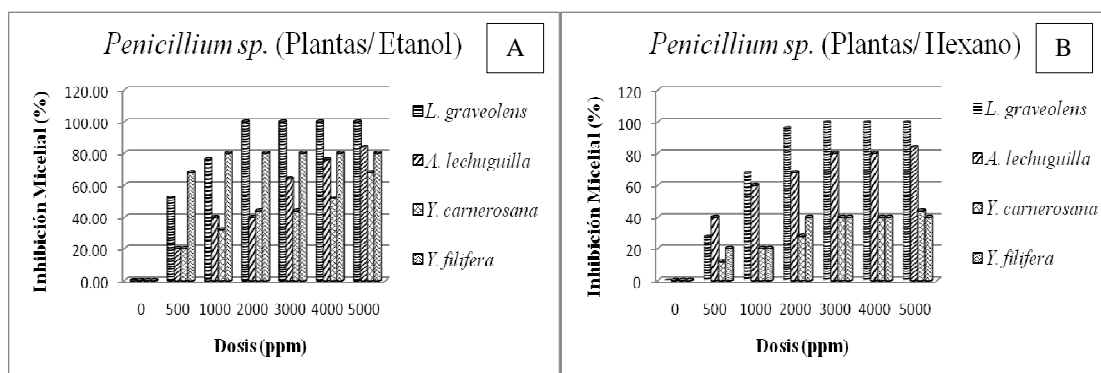


Figura 5. Inhibición micelial de *Penicillium sp.* por efecto de los extractos etanólico (A) y hexánico (B) de *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana*, y *Agave lechuguilla* a diferentes dosis.

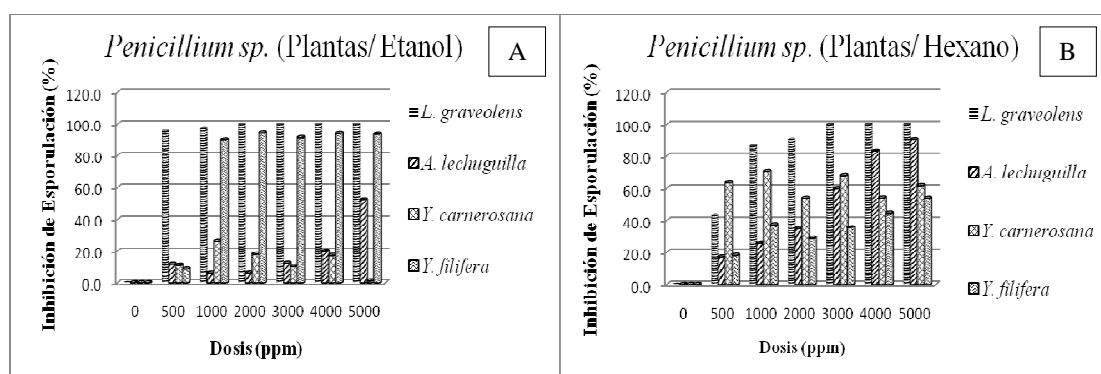


Figura 6. Inhibición de esporulación de *Penicillium sp.* por efecto de los extractos etanólico (A) y hexánico (B) de *Lippia graveolens*, *Yucca filifera*, *Yucca carnerosana*, y *Agave lechuguilla* a diferentes dosis.

**EFFECTO DE LA CUBIERTA DE CERA DE CANDELILLA CON EXTRACTOS
DE *Lippia graveolens* EN FRUTOS DE IMPORTANCIA COMERCIAL**

**COATING EFFECT OF CANDELILLA WAX WITH *Lippia graveolens*
EXTRACTS ON FRUITS OF COMMERCIAL IMPORTANCE**

L. E. Moreno Zuccolotto^a, D. Jasso de Rodríguez^a, F. D. Hernández Castillo^a, R. Rodríguez García^a, C. N. Aguilar González^b, J. H. Rancaño Arrijoja^a

^aUniversidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923. Col. Buenavista, Saltillo, Coahuila, CP 25315, México.

^bFacultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo, Coahuila, 25280, México.

Abstract

Antifungal tests were made of the hexanic and ethanolic extracts of *Lippia graveolens*, where *Rhizopus* sp., was inhibited at 500 ppm ($P \leq 0.01$) with hexanic and ethanolic extracts; *Colletotrichum* sp., at 500 ppm ($P \leq 0.01$), with ethanolic extract and 2000 ppm ($P \leq 0.01$), with hexanic extract; *Penicillium* sp. at 2000 ppm ($P \leq 0.01$) with ethanolic extract and at 3000 ppm ($P \leq 0.01$) with hexanic extract; these inhibitory concentrations of the development of the fungi were studied in emulsion with candelilla wax and water solution like covering protectors of fruits to evaluate the protector effect against the studied pathogens and the shelf life. Weight loss was greater for witness in apple

compared with treatments of coated. In tomato the weight loss was statistically similar in all treatments. In the treatments of coatings both fruits kept the color throughout the experiment. In the pH changes, significant changes were not observed; in total sugars and °Brix degrees similar increases and decreases in the production of sugars were observed up to week 4. The production of sugar increased in the control treatment of tomato in week 5 and 6. In °Brix the control treatment of apple in production of sugar in week 6.

Resumen

Se realizaron pruebas antifúngicas de extractos hexánico y etanólico de *Lippia graveolens* donde *Rhizopus* sp. fue inhibido 500 ppm ($P \leq 0.01$) con extractos de hexano y etanol; *Colletotrichum* sp. en 500 ppm ($P \leq 0.01$), con extracto etanólico y 2000 ppm ($P \leq 0.01$), con extracto hexánico; *Penicillium* sp. en 2000 ppm ($P \leq 0.01$) con extracto de etanol 3000 ppm ($P \leq 0.01$) con extracto hexánico; estas concentraciones inhibitorias del desarrollo de los hongos fueron estudiadas en emulsión con cera de candelilla y en agua como cubiertas protectoras de frutos para evaluar el efecto protector contra los patógenos estudiados y la vida de anaquel. La pérdida de peso fue mayor para el testigo en manzana en comparación con los tratamientos de cubiertas. En tomate la pérdida de peso fue estadísticamente igual en todos los tratamientos. En todos los tratamientos de cubierta de ambos frutos mantuvieron el color durante todo el experimento. En los cambios de pH no se observaron cambios importantes, en azúcares totales y grados Brix se observaron aumentos y disminuciones en la producción de azúcares muy similares hasta la semana 4, se observó una mayor producción de azúcares en el tratamiento

testigo en tomate en la semana 5 y 6. En °Brix el tratamiento testigo en manzana fue de mayor producción de azúcares en la semana 6.

INTRODUCCIÓN

La pérdida de frutos en postcosecha se origina en las prácticas de manejo, tanto en la producción, como en comercialización, la cual influye para que sean atacados los frutos a enfermedades causadas por bacterias y hongos que producen pudriciones durante la vida de anaquel. *Rhizopus* sp. es un hongo de amplio espectro que afecta a frutos que llegan a tener lesión (Shukla *et al.*, 2006); *Penicillium* sp. y *Colletotrichum* sp. también causan pudriciones en frutos (Lim y Rohrbach, 1980; Labuda *et al.*, 2004).

Al investigar la conservación de frutos en postcosecha, se han utilizado técnicas como atmósferas modificadas (Kader *et al.*, 1989; Leteinturier-Laprise, 2000; Artés, 2006), cubiertas de plástico (Chaves *et al.*, 1998) y cubiertas comestibles como: quitosano (Bautista-Baños y Bravo-Luna, 2004), proteínas (Galiotta *et al.*, 2005) y ceras para mejorar la calidad de vida de anaquel de los frutos.

La aplicación de cera de candelilla *Euphorbia anthisyphilitica* se ha evaluado como cubierta protectora (Dominguez *et al.*, 2003; Hagenmaier, 2000). Al analizar extractos de *L. graveolens* se ha encontrado fenoles, flavonoides, ácido rosmarínico y naringenina (Martínez *et al.*, 2008), en los aceites esenciales se encontraron monoterpenos, carvacrol, timol, *p*-cymene (Salgueiro *et al.*, 2003) y dos isómeros inusuales, 2-isopropil-4-metilfenol y 4-isopropil-2-metilfenol, (Vernin *et al.*, 2001). El

extracto de *L. graveolens* también ha sido probado como antimicrobial (Hernández *et al.*, 2008) y como antioxidante (Pruneda *et al.*, 2008).

La candelilla es un arbusto nativo de las zonas áridas y semiáridas del norte de México y cuyo producto principal es la cera, la cual tiene características físico-químicas similares a la cera de carnauba, y su recolección, extracción y venta ha sido un medio de vida para los habitantes de las zonas marginadas del país, por lo que la utilización de la cera como un medio preventivo para la conservación de frutos le daría un valor agregado a este producto. Por otra parte la literatura científica no presenta reportes de la utilización de emulsiones de cera de candelilla con extractos de *L. graveolens* para cubierta de los frutos.

Por lo anterior en este estudio se evaluarán las cubiertas de las mezclas de cera de candelilla con extractos de *L. graveolens*, ya que de obtener resultados positivos, representaría un nicho de mercado para los productores sociales.

El objetivo del presente estudio fue: a) evaluar el efecto de cubiertas de una emulsión de cera de candelilla con extractos antifúngicos de *L. graveolens* en la vida de anaquel de frutos de tomate y manzana y b) determinar el efecto de las cubiertas en el control de hongos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de plantas y obtención de cera de candelilla

La colecta de plantas de *L. graveolens* se realizó de septiembre a noviembre de 2007, en El Barrial de Guadalupe, Municipio de Torreón, Coahuila, coordenadas 25° 00' 00.11" N, 103° 14' 33.54" O y una altitud de 1320 m. La cera de candelilla fue

proporcionada por investigadores de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila.

Obtención del extracto

Las hojas de *L. graveolens* separadas de los tallos, se cortaron manualmente en pedazos pequeños y se colocaron 230 g de muestra en un frasco color ámbar agregando 2.5 L de solvente (etanol ó hexano). La mezcla se agitó en un baño de agitación mecánica marca Brickman (Precisión Scientific Co., Chicago, IL, USA), durante 22 h a 150 rpm a temperatura ambiente. El extracto obtenido se filtró y el solvente se separó de la resina en un rotavapor marca Buchi (Laboratoriums-Tecnik, Scheweiz).

Bioensayos *in vitro*

Se colocaron extractos hexánico y etanólico de *L. graveolens* en dosis de 0, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 ppm, en medio Papa-Dextrosa-Agar (PDA) en cajas Petri. Posteriormente se inocularon con cepas de *Rhizopus* sp. *Colletotrichum* sp. y *Penicillium* sp. Se utilizó un diseño completamente al azar con 8 repeticiones en arreglo factorial AXBXC, donde A = solvente, B = dosis y C = patógenos. Los datos se analizaron con el paquete SAS 9.0.

Bioensayos *in vivo*

Origen de la fruta

Se utilizaron frutos de manzana *Malus domestica* Borkh var. “Golden Delicious” y frutos de tomate *Lycopersicon esculentum* var. “Floradade”, adquiridos en el

supermercado en Saltillo, Coahuila, México. Los frutos se seleccionaron tomando en cuenta su tamaño, madurez, ausencia de microorganismos y de daños en la piel. Los frutos fueron desinfectados con solución de hipoclorito de sodio (0.2 g/L) por 5 min y secados a temperatura ambiente (González-Aguilar *et al.*, 2005).

Preparación de la solución de esporas

Los patógenos fueron aislados de manzana y tomate, conservados a 26° C en medio de papa dextrosa agar (PDA) durante 8 días. Discos de PDA con esporas de fueron agregados en un matraz Erlen Meyer con agua destilada esteril hasta ajustar una concentración de 5×10^4 de *Rhizopus* sp. (Qing y Shiping, 2000) y 3.8×10^6 de *Penicillium* sp. (Visintin *et al.*, 2007) UFC/L⁻¹, la concentración fue determinada con un hematocimetro.

Preparación de las cubiertas

Las formulaciones de las cubiertas fueron preparadas a partir de cera de candelilla y agua, añadiendo el extracto etanólico a 3000 ppm y el extracto hexánico a 4000 ppm. La mezcla se efectuó a 80 °C, mediante agitación media en el nivel 5 de una parilla eléctrica marca Corning, modelo PC-420, durante 5 min. Los tratamientos evaluados en el experimento en frutos de manzana y tomate fueron: 1) testigo (frutos sin cubrir); 2) cera de candelilla; 3) emulsión de cera de candelilla con extracto etanólico de *L. graveolens*; 4) emulsión de cera de candelilla con extracto hexánico de *L. graveolens*; 5) extracto etanólico de *L. graveolens* en agua; y 6) extracto hexánico de *L. graveolens* en agua.

Para la aplicación de las cubiertas, cada fruto fue inmerso por 1 s en la formulación correspondiente, dejándose secar durante 1 h, para volver a sumergirse durante 1 s en la formulación. El estudio se realizó a temperatura ambiente en un cuarto de laboratorio sin corriente de aire.

Evaluación antifúngica

Se utilizaron cajas de plástico transparente de 30 x 30 cm, selladas como cámaras húmedas. Los frutos fueron lesionados en dos ocasiones con heridas de 4 mm de longitud y 4 mm de profundidad. Las heridas se realizaron en el eje ecuatorial y en lados opuestos de cada fruto, con un alfiler desinfectado. Las manzanas se inocularon por aspersión con una suspensión de esporas de *Penicillium* sp. y *Rhizopus* sp. Los tomates solo fueron inoculados con *Rhizopus* sp. La evaluación se realizó mediante la observación directa de la presencia de la enfermedad, considerando como positivo (+) a los frutos que enfermaron, y negativos (-) a los frutos que no enfermaron, comparativamente con el testigo.

Los tratamientos se aplicaron sobre los frutos que se agruparon según la condición que presentaron en una preparación previa: a) de frutos de manzana y tomate (3 grupos de frutas sanas y 3 de frutos enfermos. La distribución de los 6 tratamientos en los frutos lesionados y no lesionados fue de la siguiente manera: 1) Frutos sin lesión e inoculados después de la aplicación de la cubierta; 2) Frutos lesionados e inoculados antes de la aplicación de la cubierta; 3) Frutos lesionados e inoculados después de la aplicación de la cubierta.

Ensayo de vida de anaquel

Para la evaluación del efecto de los tratamientos en la vida de anaquel, el ensayo se realizó bajo un diseño completamente al azar con seis tratamientos y 30 repeticiones (cada fruto fue considerado como una unidad experimental) Las variables evaluadas fueron: Pérdida de peso, cambio de color, firmeza, pH, azúcares totales y sólidos solubles totales (°Brix).

La pérdida de peso se determinó mediante la diferencia del peso de los frutos en la octava semana y el peso inicial de los mismos. Se utilizó una balanza granataría digital, MFD BY CO; LTD. Los datos fueron transformados en porcentajes y se analizaron con el paquete SAS 9.0. Los análisis estadísticos fueron efectuados con los datos obtenidos en la octava semana.

El cambio de color se midió durante 6 semanas con un Fotocolorímetro marca Minolta con un estándar de calibración $X=0.3133$ y $Y=0.319$. Se calculó el índice de Yeatman modificado, para expresar el color (López *et al.*, 1996), $ICm. = (2000*a)/L*(a^2+b^2)^{0.5}$. Los datos se transformaron con la raíz cuadrada más cinco y se analizaron con el paquete SAS 9.0. También se tomaron fotografías de tres frutos de cada tratamiento durante 7 semanas, para observar el cambio de color.

Para medir la firmeza se utilizaron penetrometros marca Fruit Pressure Tester FT 327 con capacidad de 13 kg. Los datos se registraron de la cuarta a la séptima semana de establecido el experimento. La diferencia de peso para penetrar la manzana es diferente a al peso utilizado en tomates, debido a la diferencia en la dureza de la pulpa de cada una de las frutas, el penetrometro utilizado en tomates mide el peso gramos y el utilizado en manzanas el peso es medido en kilogramos.

Para la determinación de azúcares totales, grados Brix y pH, se utilizó una mezcla del jugo de 3 frutos una vez por semana durante seis semanas. El análisis se realizó con la resta de la desviación estándar del promedio de los datos obtenidos en la sexta semana.

Los azúcares totales hidrosolubles se determinaron con el método de fenolsulfúrico, utilizando un espectrofotómetro marca Thermospectronic, modelo Helio Epsilon.

Los sólidos solubles totales (°Brix) se midieron con un refractómetro manual marca Atago, modelo ATC-1E, con escala de 0 a 32 °Brix.

El potencial de Hidrogeno se midió con un peachímetro marca Thermo Orion, modelo 420.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pruebas in vitro

Los extractos etanólicos inhibieron al 100 % a *Colletotrichum* sp. y *Rhizopus* sp. en la dosis de 500 ppm, y a *Penicillium* sp. con 2000 ppm. Por otra parte los extractos hexánicos inhibieron a *Rhizopus* sp. al 100 % con 500 ppm, *Colletotrichum* sp. fue inhibido con 2000 ppm y *Penicillium* sp. con 3000 ppm, ambos también al 100 % de inhibición.

Investigadores como Hernández en 2003 evaluó la actividad antimicrobiana de *L. graveolens* contra diferentes cepas de bacterias, Obledo en 2002 evaluó la actividad antifúngica de *L. graveolens* contra los patógenos del *Agave tequilana*

Bioensayos *in vivo*

Pruebas antifúngicas en los frutos

Los resultados de la presente investigación mostraron que los frutos (manzana y tomate) sin lesión de todos los tratamientos no presentaron síntomas de enfermedad causada por los patógenos inoculados (Cuadro 1); las manzanas con lesión e inoculadas con *Rhizopus* sp. antes de la aplicación de los tratamientos fueron negativos con los tratamientos de cera con extracto etanólico y de cera con extracto hexánico, además también el resultado fue negativo con el tratamiento de extracto hexánico en agua aplicado después de la lesión e inoculación, estos resultados demuestran que la cubierta de cera y *L. graveolen* puede ser posible utilizando dosis adecuadas como las utilizadas por Assis y Pessoa (2004), quienes utilizaron cubiertas a base de quitosán que proporcionaron protección antifúngica en manzanas, partidas en dos partes, exponiendo la pulpa de la fruta.

En tomate los resultados fueron positivos en los frutos lesionados e inoculados con *Rhizopus* sp. antes y después de la aplicación de los tratamientos, estos resultados fueron obtenidos 3 días después de haber inoculado el patógeno; las manzanas lesionadas e inoculadas con *Penicillium* sp. antes y después de la aplicación de los tratamientos dieron resultados positivos, estos resultados fueron obtenidos 8 días después de la aplicación del patógeno. (Cuadro 1).

Variables evaluadas

1. Pérdida de peso

La pérdida de peso en manzana mostró diferencia altamente significativa ($P \leq 0.01$) entre los tratamientos (Cuadro 2), presentando los mejores resultados los tratamientos de la cubierta de candelilla con el extracto hexánico de *L. graveolens*, y el de la cubierta de *L. graveolens* con el extracto de hexano en agua; por otra parte entre los tratamientos de tomate el extracto hexánico en agua fue el tratamiento que evitó la mayor pérdida de peso en ambos frutos (Fig. 1). Estos resultados son diferentes a los obtenidos por Pérez-Gago *et al.*, (2003), quien utilizó cubiertas elaboradas con suero de leche y cera de abejas, las cuales no pudieron detener la pérdida de peso en los frutos.

Por otra parte, estos resultados confirman la capacidad de la cera de candelilla por si sola para evitar la pérdida de peso (Saucedo-Pompa *et al.*, 2009; Paredes-López *et al.*, 2006) o también mezclada con extractos vegetales para potencializar su efecto (Tomas *et al.*, 2005). La reducción de la pérdida de peso en los tratamientos con cubiertas, posiblemente se deba a la disminución de la pérdida de vapor de agua en los frutos, así como al efecto de la cubierta de quitosano que disminuyó la pérdida de peso en frutos (Ghaouth y Ponnampalam, 1991).

2.- Cambio de color

El cambio de color en manzanas (Fig. 2A) fue similar en todos los tratamientos hasta la cuarta semana, en la cual el testigo inició la pérdida de color y brillo, causado por el envejecimiento natural del fruto y la contaminación de patógenos del medio ambiente, incrementándose hasta la sexta semana, en donde se observó un valor superior

a 4 ICm. El ANVA mostró una diferencia altamente significativa ($P \leq 0.01$) (Cuadro 2), entre el color del testigo con los tratamientos como se muestra en el cuadro 3.

En la Fig. 3 podemos observar las fotografías de los frutos y constatamos que desde la quinta semana se muestra pérdida de color marchitamiento de la piel y pudrición en un fruto. En la sexta semana se muestra el avance en el envejecimiento y pudrición de los frutos en el testigo y en la séptima semana la muestra en general presenta pudrición.

Por lo anterior podemos considerar que las cubiertas evitan el cambio de color aún a los 64 días de almacenamiento, lo cual es de gran beneficio para los productores debido a que pueden almacenar sus frutos a temperatura ambiente considerando aplicar alguno de los tratamientos que aquí se han estudiado. Esto es muy importante si consideramos que muchos productores no cuentan con sistemas de refrigeración para sus frutos, los cuales comienzan a perder viabilidad para su comercialización en contraste con el resto de los tratamientos (Fig. 2).

En tomate (Fig. 2B) los rangos observados en el cambio de color fueron desde los 28.95 a los 39.94 ICm y el análisis estadístico no mostró diferencia significativa (Cuadro 2 y 3), probablemente debido al contenido natural de licopeno (Candelas-Cadillo *et al.*, 2006). También se observa que el tratamiento testigo en la segunda, cuarta y sexta semana presentó valores superiores a 39 ICm, valores superiores a los que reportan los tratamientos con cubiertas. El testigo perdió brillo y se puede apreciar en las fotografías (Fig. 4) un mayor marchitamiento en comparación con el resto de los tratamientos en la quinta, sexta y séptima semana.

3. Firmeza

Como se puede observar en la Figura 5, la pérdida de firmeza fue irregular en todas las semanas en todos los tratamientos considerando que la tendencia es hacia la pérdida de firmeza durante el tiempo de almacenamiento y que el testigo fue el que perdió mayor firmeza en comparación con los tratamientos de cubiertas.

En la evaluación estadística de la séptima semana (Cuadro 2), los tratamientos mostraron diferencia significativa ($P \leq 0.01$) como se muestra en el cuadro 3, para manzana y tomate ($P \leq 0.01$), donde el tratamiento hexánico en agua mantuvo la firmeza de los frutos en comparación con el resto de los tratamientos (Fig. 5).

4. Azúcares totales

Los valores de los tratamientos de azúcares totales en manzanas (Fig. 6A) se incrementaron de manera similar con el transcurso del tiempo. En la quinta semana de almacenamiento se presentó un fuerte incremento en los valores medios de los tratamientos, el mayor valor para la cubierta de cera de candelilla con extracto etanólico de *L. graveolens*, seguida del tratamiento de la cubierta de extracto etanólico de *L. graveolens* y agua, la cubierta de extracto hexánico de *L. graveolens* y agua seguido del tratamiento testigo, y por último los tratamientos cera de candelilla (Cub) y la cubierta de extracto hexánico de *L. graveolens*.

Para la sexta semana todos los valores medios de los tratamientos disminuyeron, presentando el valor más alto el tratamiento de la cubierta comestible de cera de candelilla, y el extracto etanólico en agua como el más bajo.

En tomate se observó (Fig. 6B) que los valores medios de los tratamientos se comportaron de manera similar (entre 0.02 y 0.05 g), hasta la cuarta semana de

almacenamiento. A continuación se observó un marcado asenso de los valores medios de los tratamientos (semana 5) en particular el del tratamiento testigo, seguido de la cubierta de candelilla y de la cubierta del extracto hexánico de *L. graveolens* y agua así como de los extractos hexánico y etanólico de *L. graveolens* y agua. En la sexta semana todos los valores de los tratamientos disminuyeron.

Los resultados del tratamiento testigo se explican debido a que al presentar un acelerado proceso de maduración de la quinta a la séptima semana, se acumula una mayor concentración de azúcares mediante los procesos fisiológicos activos en los frutos en almacenamiento (Ramos-Ramírez *et al.*, 2009).

Los valores de azúcares totales en tomate son más bajos que en manzana lo cual se explica por la naturaleza de los frutos, en cuanto al metabolismo de los mismos, y esto hace que en la quinta y sexta semana los valores se presenten mas diferenciados con respecto al tratamiento testigo, que los valores de los tratamientos presentados en el experimento de manzana (Pérez *et al.*, 1997; Robinson *et al.*, 1998).

5. Sólidos solubles totales (°Brix)

El contenido de sólidos a través del tiempo en el proceso de almacenamiento de la manzana, presentó una tendencia irregular en los tratamientos (Fig. 7), hasta la quinta semana en que el tratamiento de la cubierta del extracto etanólico de *L. graveolens* y agua obtuvo el valor más alto (15 °Brix), seguido del tratamiento de la cubierta de cera con extracto hexánico de *L. graveolens*, el testigo obtuvo el menor contenido de sólidos (12 °Brix), pero incremento por arriba de los demás tratamientos en la semana seis, esto puede atribuirse a la rápida maduración de los frutos del testigo y a la pérdida de peso.

El contenido de °Brix en los frutos tiende a incrementarse en temperatura ambiente a través del tiempo de almacenaje (Ramírez *et al.*, 2004), se explica además por la liberación de los compuestos volátiles y solubles en agua, mediante la deshidratación de las muestras. La transferencia de masa en la superficie de los frutos es el factor predominante de la respiración (Rogers, 1985).

En el almacenamiento del tomate en la quinta semana, los tratamientos mostraron resultados similares que en el experimento de manzana, en la variable de sólidos solubles, aunque los valores del contenido fueron menores. El tratamiento de la cubierta de cera de candelilla con extracto etanólico y hexánico de *L. graveolens*, presentaron el mayor contenido de sólidos y el tratamiento testigo el menor contenido de sólidos, por lo que es posible analizar estos resultados de manera similar a lo que se hizo en el experimento de manzana.

6. Cambios en pH

Los valores de pH se incrementaron a partir de la segunda semana hasta la quinta semana, para todos los tratamientos en manzana (Fig. 8), presentando el más alto valor la cubierta del extracto hexánico de *L. graveolens* y agua con un pH de 4.4. Para la sexta semana los tratamientos de extracto hexánico en agua y cubierta de cera de candelilla con extracto etanólico de *L. graveolens* disminuyeron el valor de su pH, mientras el resto de los tratamientos presentó valores medios todavía en incremento.

En tomate no se presentaron diferencias entre tratamientos pero en la quinta semana de almacenamiento la media de los valores del tratamiento mas alto fue de 4.7, valor inferior al del tratamiento testigo, seguido del tratamiento de la cubierta de

extracto etanólico de *L. graveolens* y agua con pH de 4.6. En la sexta semana todos los tratamientos disminuyeron sus valores oscilando entre 4.5 y 4.6. Estos resultados son comparables con los obtenidos por González-Aguilar *et al.*, (2005) que encontraron incrementos y decrementos en el pH de papaya cubierta con quitosano pero sin tener diferencias significativas entre los tratamientos y el control.

El uso de cubiertas comestibles como las ceras pueden disminuir la velocidad de maduración en los frutos (Pérez *et al.*, 2005) y en los resultados anteriormente expuestos se puede observar que el uso de las cubiertas pudieron reducir la producción de azúcares en algunos tratamientos, en comparación con el testigo. Pero ninguno de los tratamientos estudiados pudo detener de forma considerable los procesos fisiológicos de producción de azúcares totales, °Brix y pH, por debajo del promedio y la desviación estándar de los resultados. Resultados similares fueron obtenidos por Galietta *et al.* (2005) que utilizando una cubierta de proteína del suero de la leche aplicada en tomates retrasó el cambio de color de verde a rojo, disminuyó la pérdida de peso pero no afectó los cambios de pH y °Brix.

Sin embargo, se pudo observar que todos los tratamientos con extractos de *L. graveolens* lograron mantener la coloración y la firmeza, en comparación con el tratamiento testigo. Tentativamente causada por el uso de la cera de candelilla (Saucedo-Pompa *et al.*, 2007), que se ha reportado como antioxidante y el contenido de fenoles de *Lippia graveolens*. Los fenoles de plantas tienen propiedades antioxidantes (Kahkonen, 1999).

CONCLUSIONES

- En los experimentos de manzana sin lesión todos los tratamientos mostraron efecto antifúngico contra *Rhizopus* sp. en los frutos de manzana lesionados e inoculados con *Rhizopus* sp. antes de la aplicación de los tratamientos, solamente las cubiertas de cera con extracto etanólico y hexánico de *L. graveolens*, presentaron efecto antifúngico contra este patógeno; los tratamientos aplicados a las manzanas que después fueron lesionadas e inoculadas con *Rhizopus* sp, solamente las cubiertas de cera con extractos de *L. graveolens* etanólicos y hexánicos, así como la cubierta etanólica de *L. graveolens* y agua presentaron efecto antifúngico contra el patógeno mencionado anteriormente.
- En los experimentos de manzana sin lesión todos los tratamientos mostraron efecto antifúngico contra *Penicilium* sp.
- En los experimentos de tomate sin lesión todos los tratamientos mostraron efecto antifúngico contra *Rhizopus* sp.
- Los tratamientos de las cubiertas y extractos presentaron una mayor actividad antifúngica contra *Rhizopus* sp. que contra *Penicilium* sp.
- Las cubiertas de cera de candelilla con extractos etanólicos, hexánicos y con agua de *L. graveolens*, disminuyen la pérdida de peso, cambio de color y firmeza en manzanas almacenadas durante seis semanas. En tomate evitan la pérdida de la firmeza del fruto durante el período antes mencionado, manteniendo la calidad de los frutos.

- La producción de azúcares en manzana almacenada durante cinco semanas es disminuida por la cubierta del extracto etanólico de *L. graveolens* y agua y en tomate se obtiene una disminución de azúcares con el extracto hexánico de *L. graveolens* y agua, así como con la cubierta de cera de candelilla.
- La pérdida del contenido de sólidos en manzana y tomate almacenados durante cinco semanas fue disminuida por las cubiertas de cera y extractos de *L. graveolens*.
- El efecto de cubiertas con extractos de *L. graveolens* en el pH de manzana y tomate almacenados durante cinco semanas, fue de un incremento mayor al tratamiento testigo pero no de forma significativa, disminuyendo los valores en la sexta semana en general. Por lo que se puede concluir que los tratamientos no afectan el pH de las frutas estudiadas
- Las cubiertas de cera de candelilla y extractos de *L. graveolens* etanólicos y hexánicos y en agua, incrementaron la vida de anaquel de los frutos hasta por seis semanas.
- Este es el primer estudio científico que se reporta combinando la emulsión de cera de candelilla con extractos de *L. graveolens*.

LITERATURA CITADA

- Artés-Calero, F., 2006. El envasado en atmósfera modificada mejora la calidad de consumo de los productos hortofrutícolas intactos y mínimamente procesados en fresco. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 7: 61-85.
- Assis, O, Pessoa, J., 2004. Preparation of thin films of chitosan for use as edible coatings o inhibit fungal growth on sliced fruits. *Journal of Food Technology* 7: 17-22.
- Bautista-Baños, S., Bravo-Luna, L., 2004. Evaluación del quitosano en el desarrollo de la pudrición blanda del tomate durante el almacenamiento. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 6: 63-67.
- Candelas-Cadillo, G., Alanís-Guzmán, M., del Rio-Olague, F., 2006. Cuantificación de licopeno y otros carotinoides en tomate y polvo de tomate. *Revista Mexicana de Agronegocios* 10: 01-11.
- Chaves, A., Mugridge, A., Fernández-Lozano, J., Limongelli J., 1998. Empleo de películas biodegradables y biodesintegrables en la conservación refrigerada de tomate tipo larga vida. *Investigación Agraria: Producción y Protección vegetales* 13: 1-2
- Dominguez, E., Cortes, V., Avila, L., Vernon-Oliverera J., Bosquez, E., Domínguez, J., 2003. Aumento de la vida de postcosecha del limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) producido en Apatzitgán, Mich., mediante el uso de recubrimientos naturales a diferentes temperaturas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 5: 128-133.

- Galiotta, G., Harte, F., Molinari, D., Capdevielle, R., Diano, W. 2005. Aumento de la vida útil en poscosecha de tomate usando una película de proteínas de suero de leche. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 6: 117–123.
- Ghaouth, E, Arul, J., Ponnampalam, R., 1991. Use of chitosan coating to reduce water loss and maintain quality of cucumber and bell pepper fruits. *Journal of Food Processing and Preservation* 15: 359-368.
- Gonzales-Aguilar, G., Monroy-Garcinia, I., Goycoolea-Valencia, F., Diaz-Cinco, M., Ayala-Zavala, J., 2005. Cubiertas comestibles de quitosano. Una alternativa para prevenir el deterioro microbiano y conservar la calidad de papaya fresca cortada. pp 121-133. *In: Proceedings of the Symposium “Nuevas tecnologías de conservación y envasado de frutas y hortalizas. Vegetales frescos cortados”* La Habana, Cuba.
- Guerra, M., Casquero, P., 2005. Evolución de la madurez de variedades de manzana y pera en almacenamiento frigorífico conjunto con absorbedor de etileno. *Información Tecnológica* 16: 11-16.
- Hagenmaier, R., 2000. Evaluation of a polyethylene-candelilla coating for 'Valencia' oranges. *Postharvest biology and technology* 19: 147-154.
- Hernández, T., Canales, M., Avila, J., Duran, A., Caballero, J., Romo-de Vivar, A., Lira, R., 2003. Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. *Ethnopharmacology* 88: 181-188.

- Hernández, T., Canales, M., García, A., Duran, A., Meraz, S., Dávila, P., Ávila, J., 2008. Antifungal activity of the essential oils of two verbenaceae *Latana Achyranthifolia* and *Lippia graveolens* of Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. *Boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas* 7: 202-206.
- Kader, A., Zagory, D., Kerbel, E., 1989. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Critical reviews in food science and nutrition* 28: 1-30.
- Kähkönen, M., Hopia, A., Vuorela, H., Rauha, J., Pihlaja, K., Kujala, T., and Heinonen, M., 1999. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds . *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 3954-3962.
- Labuda, R., Hudec, K., Piecková, E., Mezey, J., Bohovič, R., M'at'ev'á, S., Luk'áč S., 2004. *Penicillium implicatum* causes a destructive rot of pomegranate fruits. *Mycopathologia* 157: 217-223.
- Leteinturier-Laprise, J., 2000. Preservación de frutas, verduras y productos derivados utilizando la refrigeración. *Frío-calor y aire acondicionado* 320:55-63.
- Lim, T., Rohrbach, K., 1980. Role of *Penicillium funiculosum* strains in the development of pineapple fruit diseases. *Phytopathology* 70: 663-665.
- López-Camelo, A., Gómez, P.A., Cacace, J., 1996. Modelo para describir los cambios de color del tomate (cv. Tommy) durante la postcosecha. p 212. *In: XVIII Congreso Argentino de Horticultura, Termas de Río Hondo, Actas. Termas de Río Hondo.*

- Martínez-Rocha, A., Puga R., Hernández-Sandoval, L., Loarca-Piña, G., Mendoza, S., 2008. Antioxidant and antimutagenic activities of Mexican oregano *Lippia graveolens* Kunth. *Plant Foods for Human Nutrition* 63:1-5.
- Obledo, E., Javiel-Robles, E., García-Fajardo, J., Ramirez-Cordova, J. 2002. Antimicrobial activity of the essential oil of Mexican oregano (*Lippia graveolens* H.B.K.) against pathogens of *Agave tequilana* Weber var. Azul. *Phyton* 29: 249-254.
- Paredes-López, O., Camargo-Rubio, E., Gallardo-Navarro, Y., 2006. Use of coatings of candelilla wax for the preservation of limes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 25: 1207-1210.
- Pérez, A., Olías, R., Espada, J., Olías, J., Sanz C., 1997. Rapid determination of sugars, nonvolatile acids, and ascorbic acid in strawberry and other fruits *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 3545-3549.
- Pérez, B., Bringas, E., Cruz, L., Báez-Sañudo, R., 2005. Evaluación de cera comestible en mango “Tommy Atkins”destinado a la comercialización para el turismo parte 1: efecto en las características físico químicas. *Revista Iberoamericana de Tecnología de Postcosecha* 7: 24-32.
- Pérez-Gago, M., Serra, M., Alonso, M., Mateos, M., del Rio M., 2003. Effect of solid content and lipid content of whey protein isolate-beeswax edible coatings on color change of fresh-cut apples. *Journal of Food Science* 68: 2186-2191.
- Pruneda, E., Peralta-Hernandez, M., Esquivel, K., Lee-Godínez, L., 2008. Water vapor permeability, mechanical properties and antioxidant effect of Mexican oregano-Soy based edible films. *Journal of Food Science* 73: 488-493.

- Qing, F., and Shiping, T., 2000. Postharvest biological control of *Rhizopus* rot of nectarine fruits by *Pichia membranefaciens*. *Plant Disease* 84:1212-1216
- Ramírez, H., Encina-Rodríguez, L., Benavides-Mendoza, A., Robledo-Torres, V., Hernández-Dávila, J., Alonso-Corona S., 2004. Influencia de la temperatura sobre procesos fisiológicos en postcosecha de tomate *Lycopersicon esculentum* Mill. *Revista Agraria Nueva Época* 1: 31-37
- Ramos-Ramirez, F., Alia-Tejacal, I., Lopez-Martinez, V., Colinas-León, M., Acosta-Duran, C., Tapia-Delgado, A., Villegas-Torres, O., 2009. Almacenamiento de frutos de zapote mamey *Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn en atmosfera modificada. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 15: 17-23.
- Robinson, N., John, D., Bennett, H., Bennett, A., 1998. Developmental changes in carbohydrate metabolizing enzymes. *Plant Physiology* 87:727-730.
- Rogers, C., 1985. Polymer permeability. *In: J. Comyn (Ed) Elsevier, New York, 11-73.*
- Salgueiro, L., Cavaleiro, C., Gonçalves, M., Cunchada, A., 2003. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. *Planta Médica* 69: 80-83.
- Saucedo-Pompa, S., Rojas-Molinab, R., Aguilera-Carbó A., Saenz-Galindoa, A., de La Garza H., Jasso-Cantú, D., Aguilar, C., 2009. Edible film based on candelilla wax to improve the shelf life and quality of avocado. *Food Research International* 42: 511-515.
- Saucedo-Pompa, S., D. Jasso-Cantu, J. Ventura-Sobrevilla, A. Sáenz-Galindo, R. Rodríguez-Herrera y C. N. Aguilar. 2007. Effect of candelilla wax with natural antioxidants on the shelf life quality of fresh-cut fruit. *Journal of Food Quality* 30: 823-836.

- Shukla, R., Alam, M., Sattar, A., Singh, H., 2006. First report of *Rhizopus stolonifer* causing inflorescence and fruit rot of *Rauwolfia serpentina* in India. EPPO Bulletin 36: 11-13.
- Tomás, S., Bosquez-Molina, E., Stolik, S., Sánchez, F., 2005. Effects of mesquite gum-candelilla wax based edible coatings on the quality of guava fruit *Psidium guajava* L. Journal of Physique. IV France 125: 889-892.
- Vernin, G., Lageot, C., Gaydou, E., Parkanyi, C., 2001. Analysis of the essential oil of *Lippia graveolens* HBK from El Salvador. Flavour and Fragrance 16: 219-226.
- Visintin, G., Giéco, I., García, B., Fállico, L., 2007. Bioactividad de microorganismos nativos sobre infecciones en narajas de *Penicillium digitatum* resistente y sensible a fúngidas concentración de carotenoides. Ciencia, Docencia y Tecnologia 18:229-242.

Cuadro 1. Efecto antifúngico de tratamientos de extractos de *Lippia graveolens* con y sin cera de candelilla en frutos de manzana y tomate, resultados observados 3 días después de la inoculación con *Rhizopus* sp. y 8 días después de la inoculación con *Penicillium* sp.

Patógeno	Condición del fruto	Tratamientos					
		Testigo	Cub	CuLiet	CuLihe	Lietag	Liheag
Manzana							
<i>Rhizopus</i> sp.	Sin lesión	-	-	-	-	-	-
	Lesión antes	+	+	-	-	+	+
	Lesión después	NA	+	-	-	+	-
<i>Penicillium</i> sp.	Sin lesión	-	-	-	-	-	-
	Lesión antes	+	+	+	+	+	+
	Lesión después	NA	+	+	+	+	+
Tomate							
<i>Rhizopus</i> sp.	Sin lesión	-	-	-	-	-	-
	Lesión antes	+	+	+	+	+	+
	Lesión después	NA	+	+	+	+	+

(-) = Frutos que no enfermaron con la inoculación del patógeno; (+) = Frutos que enfermaron con la inoculación del patógeno; NA = no aplica

Cub = Cera de candelilla; CuLiet = Emulsión de cera de candelilla con extracto etanólico; CuLihe = Emulsión de cera de candelilla con extracto hexánico. Lietag = Extracto etanólico en agua, Liheag = Extracto hexánico en agua.

Cuadro 2. Cuadrados Medios de los análisis de varianza del efecto de las cubiertas de cera de candelilla y agua con extractos etanólicos y hexánicos de *Lippia graveolens*, en la pérdida de peso, cambio de color y firmeza.

Fuente	Cuadrados Medios								
	Pérdida de peso			Cambio de color			Firmeza		
	(g)		(g)	(ICm)		(ICm)	(Kg)		(g)
GL	Manzana	Tomate	GL	Manzana	Tomate	GL	Manzana	Tomate	
Tratamientos	5	39.06**	9.02	5	0.36**	0.11	5	1.91**	1664.83**
Total	89	-	-	23	-	-	29	-	-
Error	84	0.04	16.75	18	0.085	0.052	24	0.12	234.58
C. V.	-	17.81	19.07	-	11.62	3.58	-	10.39	9.23

C. V.= coeficiente de variación; GL= Grados de libertad; * Diferencia Significativa al 5 %; ** Diferencia Altamente significativa al 1 %.

Cuadro 3. Diferencia de los cuadrados medios de los análisis de varianza del efecto de las cubiertas de cera de candelilla y agua con extractos etanólicos y hexánicos de *Lippia graveolens*, cambio de color y firmeza. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Firmeza en manzana			Firmeza en tomate		
Tratamiento	Media (Kg)	Tukey	Tratamiento	Media (g)	Tukey
Liheag	4.12	a	Liheag	190	a
CuLihe	4	a	CuLiet	178	ab
Lietag	3.6	ab	CuLihe	177	abc
Cub	3.02	bc	Cub	156	bdc
CuLiet	2.82	c	tes	148	dc
tes	2.68	c	Lietag	146	d

Cambio de color en manzana			Cambio de color en tomate		
Tratamiento	Media (Icm)	Tukey	Tratamiento	Media (Icm)	Tukey
tes	3.12	a	tes	6.65	a
Cub	2.42	b	Cub	6.55	a
CuLihe	2.42	b	CuLiet	6.45	a
CuLiet	2.37	b	CuLihe	6.32	a
Liheag	2.35	b	Lietag	6.27	a
Lietag	2.35	b	Liheag	6.22	a

Comparación de medias por la prueba de Tukey 0.05%.

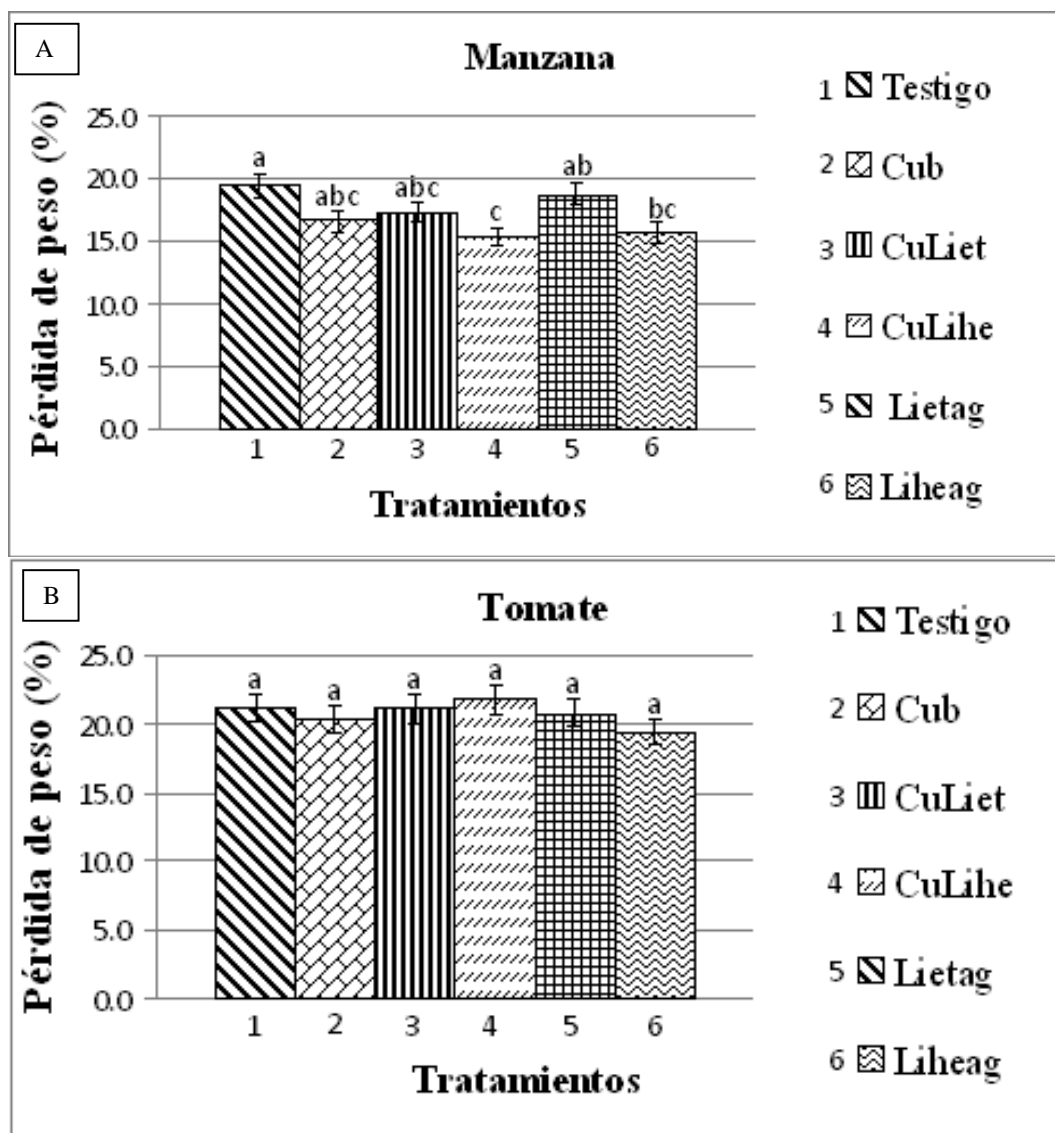


Figura 1. Pérdida de peso en manzana (A) y tomate (B), aplicando cubiertas de extractos de *L. graveolens* con y sin cera de candelilla. Tratamientos: Cub = Cera de candelilla, CuLiet = Emulsión de cera de candelilla con extracto etanólico; CuLihe = Emulsión de cera de candelilla con extracto hexánico, Lietag = Extracto etanólico en agua, Liheag = Extracto hexánico en agua. Prueba de Tukey 0 .05%

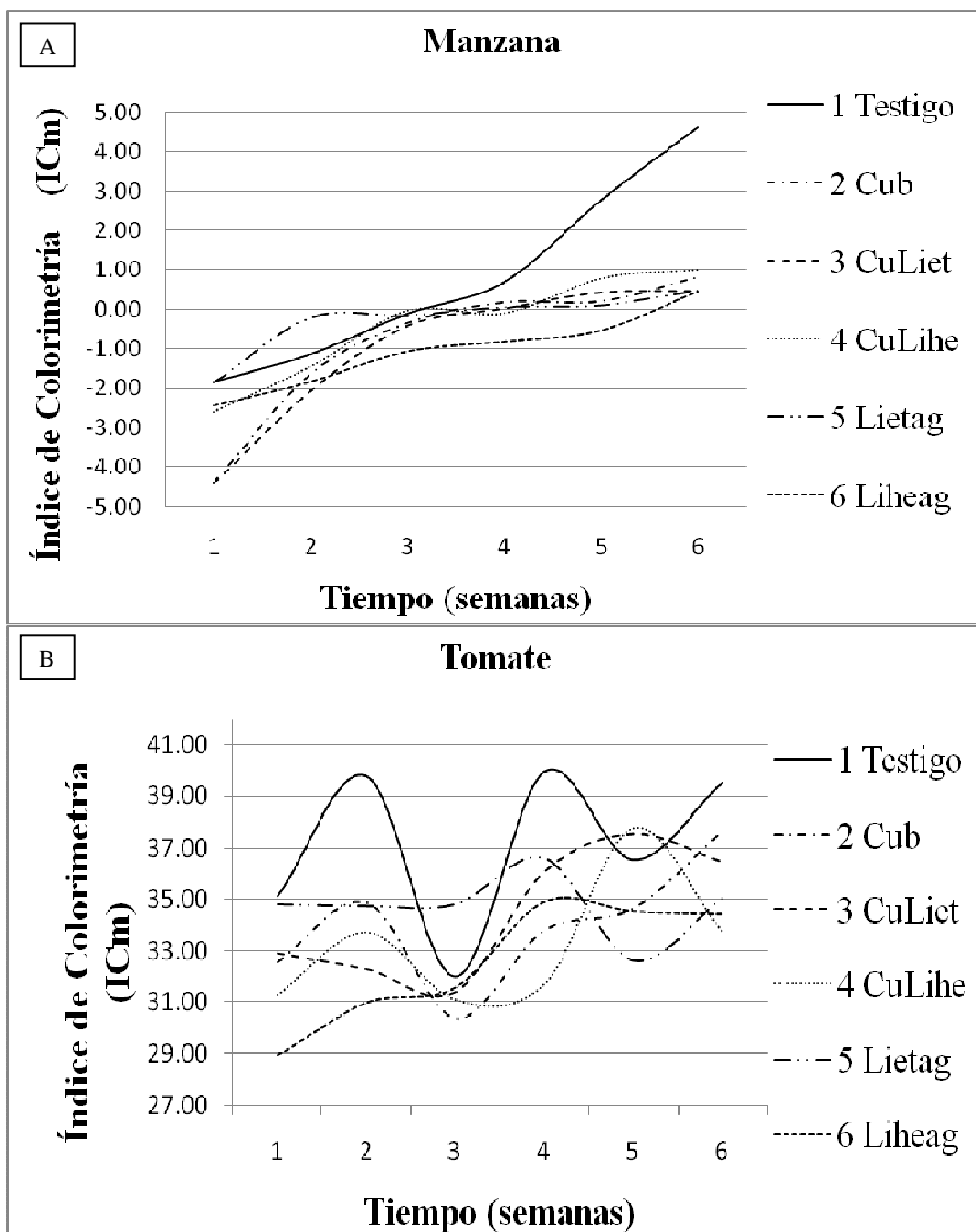


Figura 2. Cambio de color en manzana (A) y tomate (B), aplicando cubiertas de extractos de *L. graveolens* con y sin cera de candelilla. ICm = Índice de Colorimetría, Tratamientos: 1) testigo, 2) cera (Cub), 3) cera más extracto etanólico (CuLiet), 4) cera mas extracto hexánico (CuLihe), 5) extracto etanólico en agua (Lietag), 6) extracto hexánico en agua (Liheag). Tukey 0.05%.

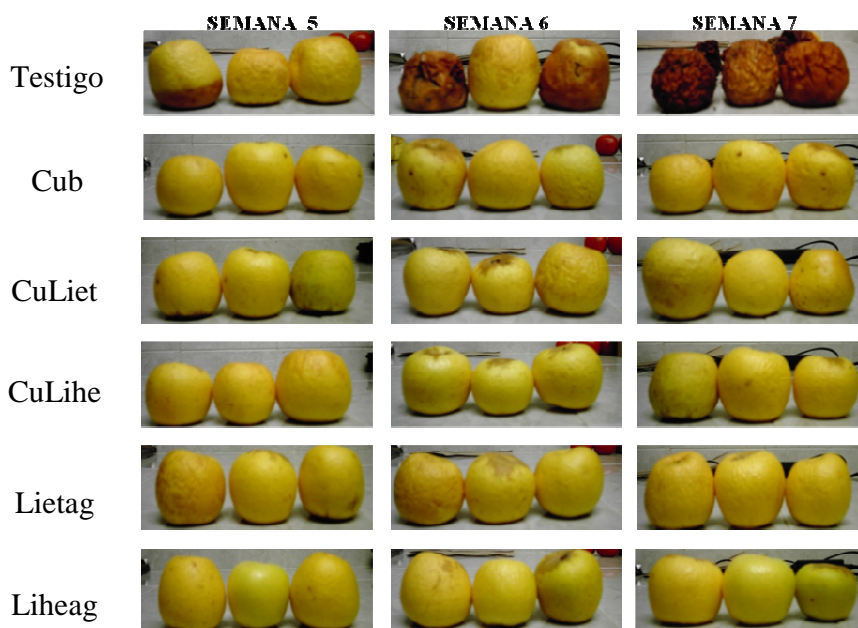


Figura 3. Efecto de los tratamientos en el cambio de color en manzanas a partir de la semana 5 a la 7. Tratamientos: 1) testigo, 2) cera (Cub), 3) cera más extracto etanólico (CuLiet), 4) cera mas extracto hexánico (CuLihe), 5) extracto etanólico en agua (Lietag), 6) extracto hexánico en agua (Liheag).

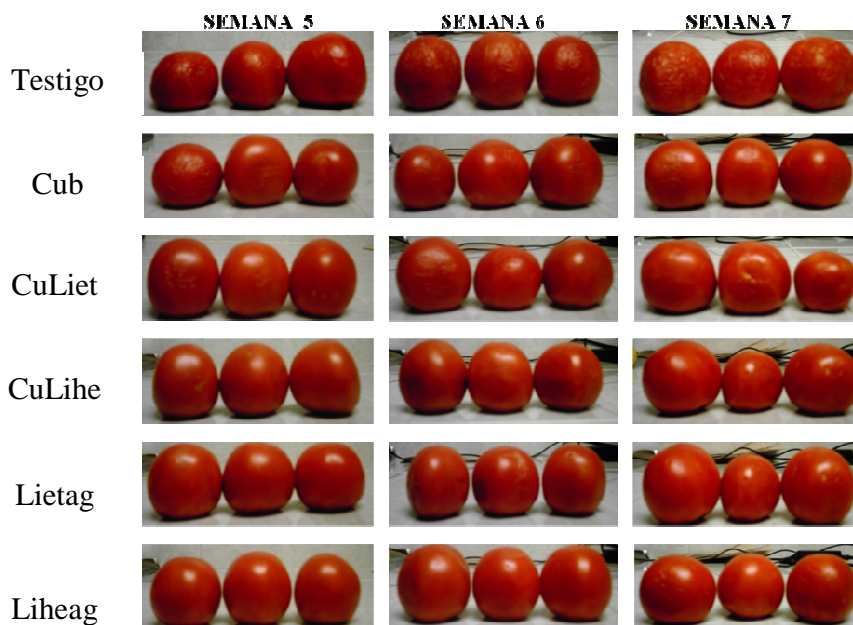


Figura 4. Efecto de los tratamientos en el cambio de color en tomate a partir de la semana 5 a la 7. Tratamientos: 1) testigo, 2) cera (Cub), 3) cera más extracto etanólico (CuLiet), 4) cera mas extracto hexánico (CuLihe), 5) extracto etanólico en agua (Lietag), 6) extracto hexánico en agua (Liheag).

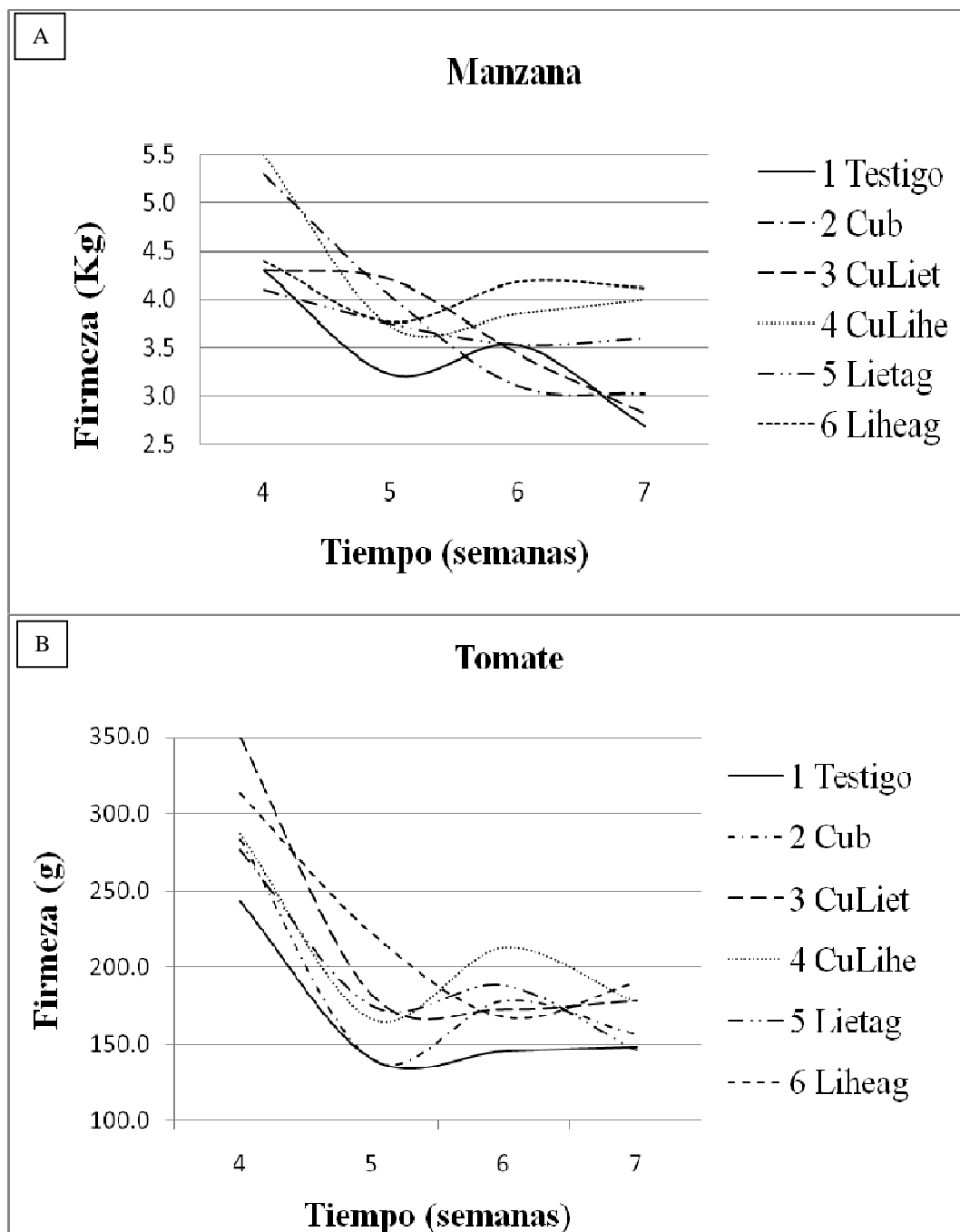


Figura 5. Efecto de cubiertas de extractos de *L. graveolens* en emulsión con cera de candelilla y agua en frutos de manzana (A) y tomate (B) en la firmeza de los frutos. Tratamientos: 1) testigo, 2) cera (Cub), 3) cera más extracto etanólico (CuLiet), 4) cera mas extracto hexánico (CuLihe), 5) extracto etanólico en agua (Lietag), 6) extracto hexánico en agua (Liheag). Firmeza = El peso utilizado para penetrar la pulpa del fruto, expresado en gramos (g) para tomates y kilogramos (Kg) para manzanas. Prueba de Tukey 0.05%.

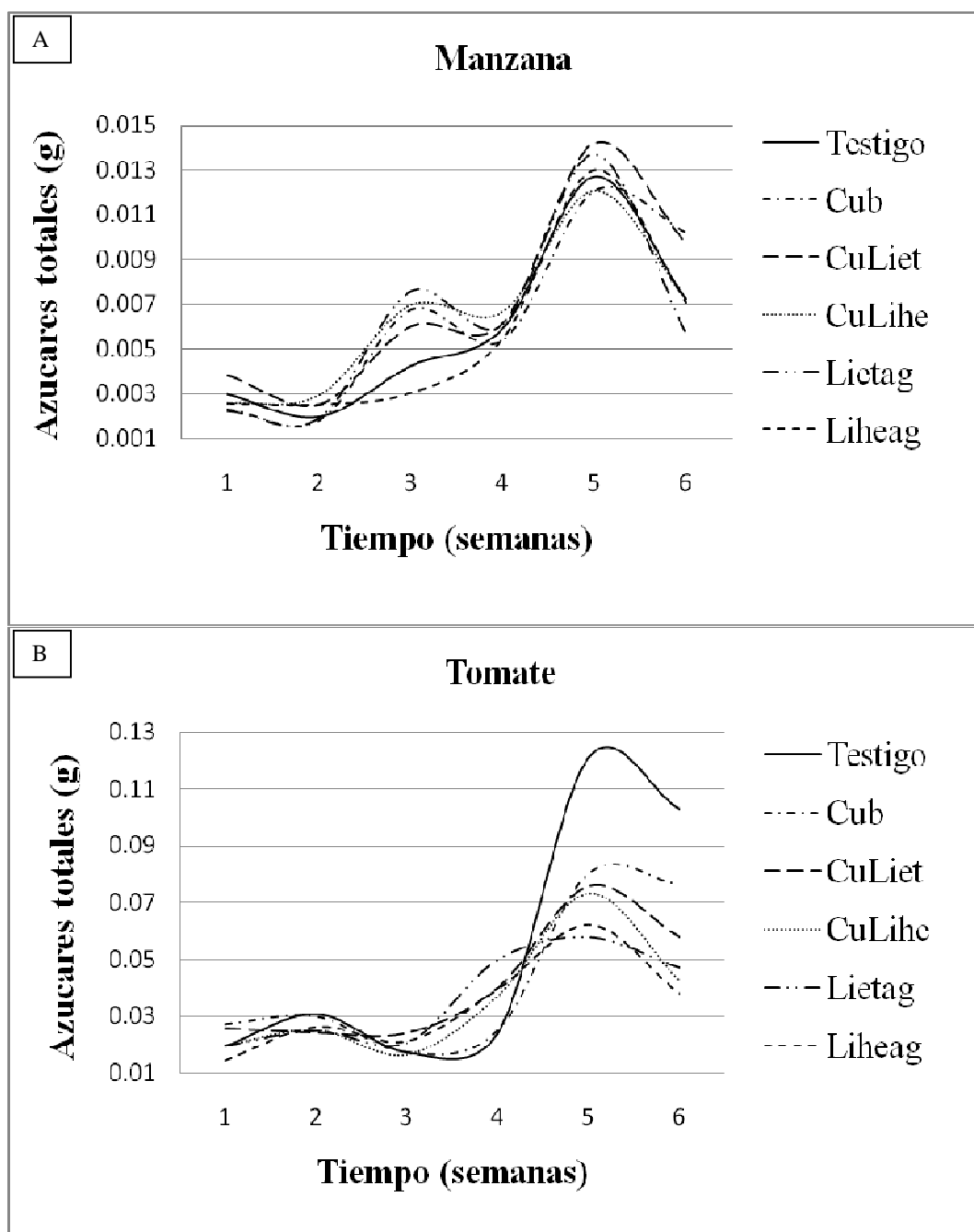


Figura 6. Efecto de cubiertas de extractos de *L. graveolens* en emulsión con cera de candelilla y agua en los fruto de manzana (A) y tomate (B) sobre los azucares totales. Tratamientos: 1) testigo, 2) cera (Cub), 3) cera más extracto etanólico (CuLiet), 4) cera mas extracto hexánico (CuLihe), 5) extracto etanólico en agua (Lietag), 6) extracto hexánico en agua (Liheag).

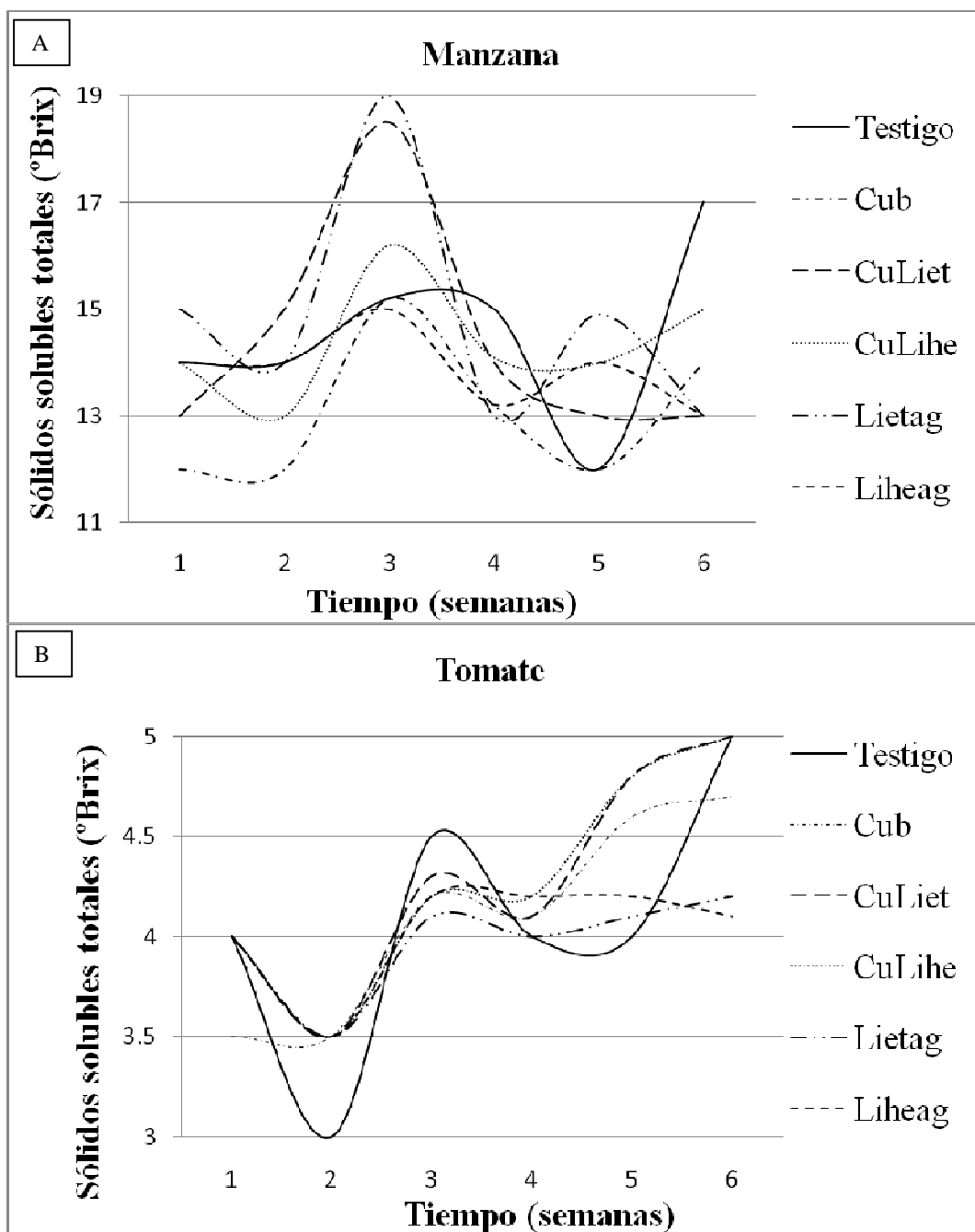


Figura 7. Efecto de cubiertas de extractos de *L. graveolens* en emulsión con cera de candelilla y agua, en los frutos de manzana y tomate sobre los Sólidos solubles totales (°Brix). Tratamientos: 1) testigo, 2) cera (Cub), 3) cera más extracto etanólico (CuLiet), 4) cera mas extracto hexánico (CuLihe), 5) extracto etanólico en agua (Lietag), 6) extracto hexánico en agua (Liheag).

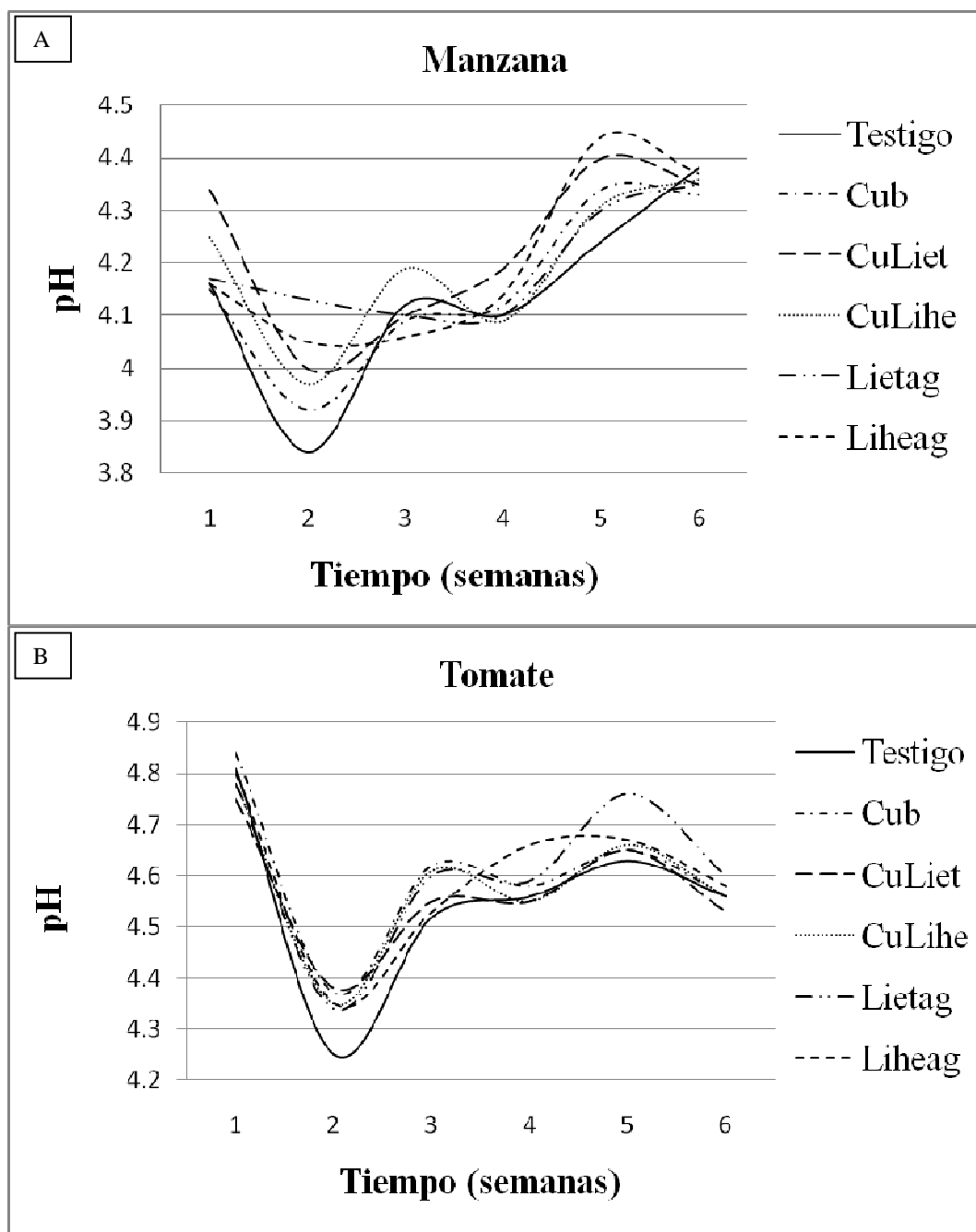


Figura 8. Efecto de cubiertas de extractos de *L. graveolens* en emulsión con cera de candelilla y agua en el pH de manzana (A) y tomate (B). Tratamientos: 1) testigo, 2) cera (Cub), 3) cera más extracto etanólico (CuLiet), 4) cera mas extracto hexánico (CuLihe), 5) extracto etanólico en agua (Lietag), 6) extracto hexánico en agua (Liheag).

CONCLUSIONES GENERALES

Las cuatro plantas estudiadas mostraron actividad biológica *in vitro* en diferentes porcentajes en los tres hongos estudiados. Obteniendo los mejores resultados de inhibición con las dosis bajas los extractos de *L. graveolens* contra *Rhizopus* sp. *Colletotrichum* sp. y *Penicillium* sp. y extracto etanólico *A. lechuguilla* que obtuvo inhibición del 100 % con 500 ppm contra *Colletotrichum* sp.

En el estudio de vida de anaquel efectuado con los extractos de *Lippia graveolens* y cera de candelilla se observaron que los extractos de *Lippia graveolens* en emulsión con cera de candelilla o agua evitaron la pérdida de color de los frutos, disminuyeron la velocidad de pérdida de peso, siendo el extracto hexánico con cera de candelilla el tratamiento que evito la mayor pérdida de peso en manzana y extracto hexánico en agua en tomate.

La producción de azúcares totales se mantuvieron similares en todos los tratamientos en manzana durante el experimento y en tomate hasta la semana 4.

En tomates en la semana 5 y 6 la producción de azúcares en el testigo se incremento considerablemente en comparación con el resto de los tratamientos, dejando ver la efectividad de las cubiertas para disminuir la producción de azúcares totales a partir de la semana 5 después de la aplicación de los tratamientos.

En la producción de sólidos solubles totales (°Brix) el efecto de las cubiertas también fue efectiva a partir de la semana 6 donde el tratamiento que disminuyó en mayor

cantidad la producción de sólidos solubles fue el extracto hexánico en agua, en manzana y tomate.

En los cambios de pH no se observaron cambios importantes por efecto de los tratamientos, durante la duración del experimento, por lo que se puede decir que el efecto de los tratamientos no afectó el pH de los frutos.

Las manzanas cubiertas con extractos etanólico y hexánico con cera y extracto hexánico en agua y después lesionadas e inoculados con *Rhizopus* sp., no enfermaron. Por lo que es una alternativa de control de esta enfermedad causada por este hongo y también para el seguimiento de estudios de investigación, Los tomates cubiertos con tratamientos de cera con extracto etanólico y extracto etanólico en agua e inoculados con *Rhizopus* sp., enfermaron.

Este es el primer trabajo científico en el que se reporta el efecto antifúngico de *Lippia graveolens* en extractos crudos etanólicos y hexánicos contra hongos de postcosecha a dosis tan bajas.

Este es el primer trabajo científico que se presenta utilizando cubiertas de extractos antifúngicos de plantas del semidesierto y de cera de candelilla contra hongos de postcosecha.

LITERATURA CITADA

- Arias, B., Carrizales, L., 2007. Control químico de la antracnosis del mango (*Mangifera indica* L.) en pre y postcosecha en el municipio Cedeño, estado Managua, Venezuela. *Bioagro* 19: 19-25.
- Benkeblia, N., 2004. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*) *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 37: 263-268.
- Blunden, G., Carabot, C., Cripps, A., 1980. Ruizgenin, a new steroidal sapogenin diol from *Agave lechuguilla*. *Steroids* 35: 503-510.
- Bosquez-Molina, E., Guerrero-Legarreta, I., Vernon-Carter, E. J., 2003. Moisture barrier properties and morphology of mesquite gum-candelilla wax based edible emulsion coatings. *Food Research International* 36: 885-893.
- Cáceres, A., 1996. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Ed. Universitaria, Guatemala Guatemala. 402 p.
- Cárdenas-Ortega, N., Pérez-Gutiérrez S., Zavala-Sánchez M., Aguirre-Rivera J., Pérez-González C., 2005. Actividad antifúngica de seis plantas sobre *Aspergillus flavus* Link. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 36: 21-26.
- Cárdenas-Palomo, J., 2007. Extractos de plantas del semidesierto inductores de tolerancia del tomate (*Lycopersicon esculentum*, mill.) a *Fusarium oxysporum* schlechtend. f. sp. lycopersici (sacc.) Snyder & Hansen y su influencia en

- crecimiento. Tesis de maestría en ingeniería en sistemas de producción. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, 66 p.
- Carpinella, M., Giorda, L., Ferrayoli C., Palacios S., 2003. Antifungal effects of different organic extracts from *Melia azedarach* L. on phytopathogenic fungi and their isolated active components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(9):2506-11.
- Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), 1980. *Yucca*. Comisión Nacional de Zonas Áridas. Saltillo, Coahuila, México. 330 p.
- González-Güereca, M., Soto-Hernández, M., Kite G., Martínez-Vázquez, M., 2007. Actividad antioxidante de flavonoides del tallo de orégano mexicano (*Lippia graveolens* HBK var. *berlandieri* Schauer) *Revista Fitotecnia Mexicana* 30: 43-49.
- Guerrero-Rodríguez, E., Solís-Gaona, S., Hernández-Castillo F., Flores-Olivas, A., Sandoval-López, V., Jasso-Cantu D., 2007. Actividad biológica *in vitro* de extractos de *Flourensia cernua* D. C. en patógenos de postcosecha: *Alternaria alternata* (FR.:FR.) Keissl, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Penz. y Sacc. y *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25: 48-53.
- Hernández, M., Heraso, C., Villarreal, M., Vargas-Arispuro, I., Aranda, E., 1999. Biological activities of crude plant extracts from *Vitex trifolia* L. (Verbenaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 67: 37-44.
- Hernández, T., Canales, M., Terán, B., Ávila O., Duran, A., García, A., Hernández, H., Ángeles-López, O., Fernández-Araiza, M., Ávila, G., 2007. Antimicrobial

- activity of the essential oil and extracts of *Cordia curassavica* (Boraginaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 11: 137-141.
- Hernández, T., Canales, M., Duran, Á., Meráz, S., Dávila, P., Ávila, J., García, A., 2008. Actividad antifúngica del aceite esencial de dos Verbenaceae: *Lantana achyranthifolia* and *Lippia graveolens* de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México; boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas 7: 202-206.
- Hernández-Lauzardo, A., Hernandez-Martinez, M., Velazquez del Valle, M., Guerra-Sanchez, M., Melo-Giorgana, G., 2007. Actividad antifúngica del quitosano en el control de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. y *Mucor* spp. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25: 109-113.
- Jules-Roger, K., Bessiere, J., Amvam-Zollo, P., Kuate-Serge, P. 2006. Chemical Composition and Antidermatophytic Properties of volatile fractions of hexanic extract from leaves of *Cupressus lusitanica* Mill. from Cameroon. *Journal of ethnopharmacology* 103:160-165.
- Lira-Saldivar, R., 2003. Estado actual del conocimiento sobre las propiedades biocidas de la gobernadora *Larrea tridentata* (D.C.) Coville. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21: 214-222.
- Long-Ze, L., Mukhopadhyay, S., Robbins, R., Harnly J., 2007. Identification and quantification of flavonoids of Mexican oregano (*Lippia graveolens*) by LC-DAD-ESI/MS analysis. *Journal of Food Composition and Analysis* 20: 361-369.
- Matuda, E., Pina-Lujan, I., 1980. Las plantas mexicanas del genero *Yucca*. Ed. Libros de México SA., AV. Toluca, Estado de México 145 p.

- Pérez, B., Bringas E., Cruz, L., Báez-Sañudo, R. 2003. Aplicación de ceras comestibles en mango. Parte 1: efecto en las características físico-químicas durante el almacenamiento comercial. *Revista iberoamericana de tecnología de postcosecha* 5: 100-102.
- Pino, J., Rosado, A., Baluja, R., Borges, P., 1989. Analysis of the essential oil of Mexican oregano (*Lippia graveolens* HBK). *Nahrung* 33: 289-295.
- Pocoví, M., Gilardón, E., Olsen, A., Gray, L., Hernández, C., Petrinich, C. Collavino, G., 1998. 2-tridecanona y su asociación con la resistencia a la polilla del tomate (*Tuta absoluta* Meyrick) y a la arañuela roja (*Tetranychus urticae* Koch). *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata* 103: 165-171.
- Pruneda, E., Peralta-Hernández, L., Esquivel, K., Lee, S., Godínez, L. A., 2008. Water vapor permeability, mechanical properties and antioxidant effect of mexican oregano-soy based edible films. *Journal of Food Science* 73: 488-493.
- Rastrelli, L., Caceres, A., Morales, F., De Simone, C., Aquino, R., 1998. Iridoids from *Lippia graveolens*. *Phytochemistry* 49: 1829-1832.
- Senatore, F., Rigano, D., 2001. Essential oil of two *Lippia* spp. (Verbenaceae) growing wild in Guatemala. *Flavour and Fragrance Journal* 16: 169-171.
- Somchit, M., Reeza, I., Nur. E., Mutalib R. 2003. *In vitro* antimicrobial activity of ethanol and water extracts of *Cassia alata*. *Journal of Ethnopharmacology* 84:14.
- Uribe-Hernández, C., Hurtado-Ramos, J., Olmedo-Arcega, E., Martínez-Sosa, M., 1992. The essential oil of *Lippia graveolens* H.B.K. from Jalisco, Mexico. *Journal of Essential Oil Research* 4: 647-649.

- Verástegui, M., Sánchez C., Heredia, N., García-Alvarado, J., 1996. Antimicrobial activity of extracts of three major plants from the Chihuahuan desert Journal of Ethnopharmacology 52:175-177.
- Vernin, G., Lageot, C., Gaydou E. M., Parkanyi, C., 2001. Analysis of the essential oil of *Lippia graveolens* HBK from El Salvador. Flavour and Fragrance Journal 16: 219-226.
- Zaccari, F., Sollier, S., Silvera, E., Curbelo, N., Romero, O., 2001. Tratamientos químicos para la conservación poscosecha de zapallos híbridos interespecíficos tipo Kabutiá (*Cucurbita máxima* X *Cucurbita moschata*): avances de resultados SUH; INIA. p 45.
- Zapata, M., Alomía-de Gutiérrez, B., 1986. Evaluación de la intensidad del daño por *Anastrepha fraterculus* Wiedemann (Díptera: Tephritidae) en 53 variedades de mango *Mangifera indica* L. y aspectos biológicos generales del insecto. Acta Agronómica (Colombia) 36: 158-167.
- Zarazúa-Escobar, J., Martínez-Damián, M., Colinas-León, M., Barrientos-Priego, A., Aguilar-Melchor, J., 2005. Frigoconservación y atmósferas modificadas en frutos de aguacate mínimamente procesado. Revista Chapingo Serie Horticultura 11: 143-148.