



Universidad Autónoma de Sinaloa  
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas  
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Inhibición de moho gris en tomate por efecto de una emulsión de  
cera de carnauba-*Aloe vera* adicionada con aceites esenciales como  
alternativa natural

## **TESIS**

### **Que presenta**

LBG. José Ernesto Félix Beltrán

Para obtener el grado de

**MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

### Directores

Dr. Misael Odín Vega García

Dra. Lidia Elena Ayón Reyna

Culiacán, Sinaloa, México. Agosto de 2024



Dirección General de Bibliotecas  
Ciudad Universitaria  
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios  
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.  
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57  
dgbuas@uas.edu.mx

## UAS-Dirección General de Bibliotecas

### Repositorio Institucional Buelna

#### Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial  
Compartir Igual, 4.0 Internacional



## **PRESENTACIÓN**

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Tecnología Poscosecha del programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, bajo la dirección del Dr. Misael Odín Vega García y la Dra. Lidia Elena Ayón Reyna y contó con la asesoría de la Dra. Martha Edith López López y el Dr. Jordi Gerardo López Velázquez. El LBG. José Ernesto Félix Beltrán recibió una Beca Nacional para Estudios de Posgrado por parte del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT) durante la realización de estudios de maestría.

## AGRADECIMENTOS

A la **Universidad Autónoma de Sinaloa**, en especial al **Posgrado en Ciencia y Tecnología en alimentos**.

Al **Consejo Nacional de Ciencia, Humanidades y Tecnología**, por la **beca otorgada**.

A mis directores de tesis **Dr. Misael Odín Vega García** y **Dra. Lidia Elena Ayón Reyna** gracias por todas sus enseñanzas y por haber depositado su confianza, paciencia y disponibilidad en mí para formar parte de su equipo de trabajo. Gracias por ser grandes personas y maestros.

A mis asesores **Dra. Martha Edith López López** y **Dr. Jordi Gerardo López Velázquez** por haberme apoyado en todo el transcurso de este proyecto ayudándome con consejos, compartiéndome sus conocimientos y sobre todo su amistad.

A mis compañeros de laboratorio **LBG. Diana López, LN. Yaritza Cepeda, MC. Francisco Barraza, MC. Karen Ureña, LBG. Nancy Rojo, LBG. Cristina Valenzuela, LBG. Mizuko Millán, IBQ. Carolina Chaidez, IBQ. Vanessa Hernández, Itzel Hernández, Lizeth Rodríguez, Heidi Cebreros** por su apoyo durante este proyecto, por esos momentos de risas y convivencia que hicieron más fuerte la amistad dentro y fuera del laboratorio.

Por último, a mi **familia** que han sido el motor para llegar a ser lo que hoy soy y siempre han dado todo por mí para verme realizado en cada meta que me propongo. Gracias por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida; A ustedes debo este logro y con ustedes lo comparto.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS .....	v
ÍNDICE DE CUADROS .....	viii
I. RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	3
II. INTRODUCCIÓN.....	5
III. REVISIÓN DE LITERATURA .....	7
A. TOMATE .....	7
1. Origen y distribución .....	7
2. Aspectos botánicos y clasificación taxonómica .....	7
3. Composición química y nutrimental .....	9
4. Producción e importancia económica .....	9
5. Manejo poscosecha.....	11
B. PROBLEMAS FITOPATOLÓGICOS EN TOMATE .....	17
1. <i>Botrytis cinerea</i> .....	17
a. Ciclo de infección .....	18
b. Morfología micro y macroscópica.....	18
c. Fitotoxicidad .....	22
2. Medidas de control.....	23
a. Alternativas naturales.....	24

C.	RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES.....	26
1.	Cera de carnauba .....	28
2.	<i>Aloe vera</i> .....	29
3.	Aceites esenciales como aditivos en recubrimientos comestibles .....	31
a.	Combinación sinérgica de aceites esenciales.....	34
IV.	JUSTIFICACIÓN .....	37
V.	HIPÓTESIS .....	39
VI.	OBJETIVOS .....	40
A.	OBJETIVO GENERAL.....	40
B.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	40
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	41
A.	MATERIALES.....	41
B.	MÉTODOS .....	41
1.	<i>In vitro</i> .....	41
a.	Preparación del inóculo.....	41
b.	Obtención de la concentración mínima inhibitoria de AEC y AELM .	42
c.	Índice de concentración inhibitoria fraccional (ICIF).....	42
d.	Formulación de las emulsiones.....	44
e.	Inhibición de crecimiento radial micelial .....	45
f.	Inhibición de germinación de conidios .....	45

g.	Efecto fungicida/fungistático.....	46
h.	Microscopía de fluorescencia.....	47
2.	<i>In vivo</i> .....	47
a.	Selección de frutos y aplicación de tratamientos.....	47
b.	Ensayo antifúngico <i>in vivo</i> .....	48
c.	Parámetros de calidad .....	48
VIII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	51
A.	<i>IN VITRO</i> .....	51
1.	Obtención de concentración mínima inhibitoria (CMI) de AEC y AELM51	
a.	Crecimiento radial micelial.....	51
2.	Evaluación del índice de concentración inhibitoria fraccional .....	57
3.	Inhibición de crecimiento radial micelial.....	59
4.	Inhibición de germinación de conidios .....	62
5.	Efecto fungicida/fungistático .....	64
6.	Microscopia de fluorescencia.....	66
B.	<i>IN VIVO</i> .....	69
1.	Incidencia.....	69
2.	Severidad.....	73
3.	Porcentaje de pérdida de peso .....	77
4.	Color .....	80

5.	Firmeza.....	86
6.	Sólidos solubles totales .....	89
IX.	CONCLUSIONES.....	93
X.	BIBLIOGRAFÍA.....	94

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
1	Etapas de maduración del fruto de tomate	15
2	Fruto de tomate con síntomas de moho gris	19
3	Ciclo de infección de <i>B. cinerea</i>	20
4	Síntomas de la pudrición poscosecha en tomate por <i>B. cinerea</i>	21
5	Método de tablero de ajedrez para ensayo de sinergismo antifúngico	42
6	Obtención de la CMI de aceite esencial de limón mexicano contra <i>Botrytis cinerea</i> a 6 días de incubación a 20 °C.	51
7	Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>Botrytis cinerea</i> tratado con distintas concentraciones de AELM por 6 días de incubación a 20 °C.	52
8	Obtención de la CMI de aceite esencial de cassia contra <i>Botrytis cinerea</i> a 6 días de incubación a 20 °C.	53
9	Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>Botrytis cinerea</i> tratado con distintas concentraciones de AEC por 6 días de incubación a 20 °C.	54

10	Inhibición del crecimiento radial micelial de <i>Botrytis cinerea</i> por aplicación de mezclas fraccionales de aceite esencial de cassia y limón mexicano a 6 días de incubación a 20 °C.	57
11	Porcentaje de inhibición de germinación de esporas de <i>Botrytis cinera</i> por efecto de los tratamientos TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAECCL por 6 días de incubación a 20 °C.	62
12	Representación gráfica del daño en micelio y espora de <i>Botrytis cinera</i> por efecto de los tratamientos CONTROL, TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAECCL mediante microscopia de fluorescencia confocal.	66
13	Efecto de los tratamientos control, TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAECCL sobre la incidencia de moho gris en tomate almacenado a 12 °C por 25 días	70
14	Fotografías de severidad de moho gris causada por <i>Botrytis cinerea</i> en frutos de tomate tratados con TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAECCL durante un periodo de almacenamiento de 25 días a 12 °C.	71
15	Efecto de los tratamientos control, TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAECCL sobre la severidad de moho gris en tomate almacenado a 12 °C por 25 días.	75

16	Efecto de los tratamientos control, TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAECL sobre la pérdida de peso de tomate inoculado con B. cinerea almacenado a 12 °C por 25 días.	78
17	Efecto Los tratamientos control, TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAECL sobre el color (parámetro a) de tomate inoculado con B. cinerea almacenado a 12 °C por 20 días.	81
18	Efecto de los tratamientos control, TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAECL sobre la luminosidad de tomate inoculado con B. cinerea almacenado a 12 °C por 20 días.	83
19	Efecto de los diferentes tratamientos sobre la luminosidad (L*) y el enrojecimiento (a*) en tomate inoculado con B. cinerea almacenado a 12 °C por 20 días.	84
20	Efecto de los tratamientos control, TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAECL sobre la firmeza de tomate inoculado con B. cinerea almacenado a 12 °C por 20 días.	87
21	Efecto de los tratamientos control, TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAECL sobre SST de tomate inoculado con B. cinerea almacenado a 12 °C por 20 días.	90

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
1	Clasificación taxonómica	8
2	Aporte nutrimental de 100 g de tomate crudo con cáscara	10
3	Producción de tomate a nivel mundial	12
4	Principales productores de tomate en México	13
5	Alternativas naturales para combatir fitopatógenos en frutos y su mecanismo de acción	25
6	Inhibición de crecimiento radial micelial y efecto fungicida / fungistático CONTROL, TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAELCL sobre <i>Botrytis cinerea</i> .	59

## I. RESUMEN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es un fruto climatérico que se cosecha antes de alcanzar su madurez comercial para conseguir una mayor vida poscosecha; sin embargo, esta hortaliza es altamente susceptible al ataque de hongos fitopatógenos como *Botrytis cinerea* (*B. cinerea*) que causa la enfermedad del moho gris, provocando una disminución en la vida útil y con ello grandes pérdidas económicas. Dentro de los tratamientos que se han reportado para contrarrestar dichas problemáticas se encuentran los recubrimientos comestibles, los cuales mantienen la calidad de los frutos debido a las propiedades de barrera y algunos además presentan actividad antimicrobiana. La cera de carnauba es uno de los recubrimientos comerciales más utilizados para proteger al fruto de la pérdida de humedad mientras que el mucilago de *Aloe vera* puede funcionar como un aditivo debido a que mantiene la firmeza de los frutos. Así mismo, se ha reportado que los aceites esenciales presentan actividad antifúngica y al combinar dos de estos sus efectos pueden ser potenciados de manera sinérgica. En este trabajo se evaluó el efecto de un recubrimiento basado en una emulsión de cera de carnauba y *Aloe vera* adicionado con la mezcla de aceite esencial de cassia y limón mexicano sobre el desarrollo de moho gris y la calidad fisicoquímica en frutos de tomate. Se evaluaron parámetros *in vitro* (crecimiento radial micelial, germinación de conidios, efecto fungicida, índice de concentración inhibitoria fraccional y microscopía de fluorescencia) e *in vivo* (incidencia, severidad, color, pérdida de peso, firmeza y sólidos solubles totales [SST]) analizando los resultados por ANOVA unifactorial y bifactorial, respectivamente. Las comparaciones de medias se realizaron mediante la prueba de Fisher ( $\alpha \leq 0.05$ ). Los aceites esenciales de cassia y limón

mexicano fueron efectivos para inhibir el desarrollo *in vitro* de *B. cinerea*. Al combinar los aceites se logró una reducción fraccional de hasta 1/8 presentando un efecto sinérgico; así mismo, las emulsiones adicionadas con los aceites lograron inhibir el desarrollo de micelio y la germinación de esporas presentando un efecto fungicida *in vitro*. Además, las emulsiones lograron disminuir la incidencia y los síntomas de moho gris en tomate de manera más efectiva que un fungicida químico y un recubrimiento comercial, así como también lograron reducir la pérdida de peso, de firmeza, SST y color ( $L^*$  y  $a^*$ ). Emulsiones elaboradas con cera de carnauba y *Aloe vera* y adicionadas con una mezcla de aceites esenciales de cassia y limón mexicano representan una nueva alternativa natural a los fungicidas químicos sintéticos debido a que sus componentes son inocuos y mostraron efectividad para retrasar el desarrollo de moho gris y mantener la calidad de frutos de tomate almacenados a 12 °C por 25 días.

**(Palabras clave:** tomate, *Botrytis cinerea*, emulsión, cera de carnauba, *Aloe vera*, aceite esencial).

## ABSTRACT

The tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is a climacteric fruit harvested before reaching commercial maturity to achieve a longer postharvest life; however, this vegetable is highly susceptible to attack by phytopathogenic fungi such as *Botrytis cinerea* (*B. cinerea*), which causes gray mold disease, leading to a decrease in shelf life and significant economic losses. Among the reported treatments to counter these problems are edible coatings, which maintain the quality of the fruits due to their barrier properties, and some also have antimicrobial activity. Carnauba wax is one of the most used commercial coatings to protect the fruit from moisture loss, while *Aloe vera* mucilage can function as an additive because it maintains the firmness of the fruits. Additionally, essential oils have been reported to have antifungal activity, and when two of these are combined, their effects can be synergistically enhanced. In this work, the effect of a coating based on an emulsion of carnauba wax and *Aloe vera* added with a mixture of cassia and Mexican lime essential oils on the development of gray mold and the physicochemical quality of tomato fruits was evaluated. In vitro parameters (mycelial radial growth, conidia germination, fungicidal effect, fractional inhibitory concentration index, and fluorescence microscopy) and in vivo parameters (incidence, severity, color, weight loss, firmness, and total soluble solids [TSS]) were evaluated, analyzing the results by unifactorial and bifactorial ANOVA, respectively. Means comparisons were made using Fisher's test ( $\alpha \leq 0.05$ ). Cassia and Mexican lime essential oils were effective in inhibiting the in vitro development of *B. cinerea*. Combining the oils achieved a fractional reduction of up to 1/8, showing a synergistic effect; likewise, the emulsions added with the oils inhibited mycelium development and

spore germination, showing an in vitro fungicidal effect. Moreover, the emulsions effectively reduced the incidence and symptoms of gray mold in tomatoes more than a chemical fungicide and a commercial coating, as well as reducing weight loss, firmness loss, TSS, and color (L\* and a\*). Emulsions made with carnauba wax and *Aloe vera* added with a mixture of cassia and Mexican lime essential oils represent a new natural alternative to synthetic chemical fungicides because their components are harmless and showed effectiveness in delaying the development of gray mold and maintaining the quality of tomato fruits stored at 12 °C for 25 days.

(**Keywords:** tomato, gray mold, *Botrytis cinerea*, emulsion, carnauba wax, *Aloe vera*, essential oil).

## II. INTRODUCCIÓN

El tomate es un cultivo económicamente importante a nivel mundial, siendo China, India y Turquía los mayores productores, mientras que México se posiciona en el octavo lugar (FAOSTAT 2023). Este fruto es una fuente rica de vitaminas A, B1, B2, B6, C y E, y minerales como P, K, Mg, Mn, Zn, Na, Fe y Ca (Palomo y col 2010). Además, contiene nutrientes bioactivos como licopeno,  $\beta$ -caroteno, flavonoides y derivados del ácido hidroxicinámico que le confieren actividad antioxidante y anticancerígena (Wu y col 2011; Raiola y col 2014). El tomate es un fruto climatérico muy perecedero debido a su tasa de respiración alta (Ashenfi 2017). Debido a esto, es importante mantener un manejo adecuado, ya que su producción puede verse afectada por una rápida maduración, daño mecánico y el ataque de fitopatógenos como *Botrytis cinerea*, este último es el principal problema poscosecha debido a que en condiciones favorables de humedad y temperatura puede causar pérdidas de hasta 80% (Ruma y col 2023).

Dentro de los tratamientos que se han reportado para contrarrestar dicha problemática se encuentran los recubrimientos comestibles que ayudan a mantener la calidad de los frutos y reducir la contaminación causada por fitopatógenos (Zambrano y col 2017). La cera de carnauba es la cera vegetal más importante en términos económicos y actualmente es aplicada en tomate y pepino como recubrimiento, agente de carga, regulador de acidez e intensificador de brillo; no obstante, se han realizado muchas investigaciones en un intento por ampliar las posibilidades de aplicaciones de esta materia prima (De Freitas y col 2019). Por otro lado, diferentes estudios han demostrado las propiedades emulsionantes del gel *Aloe vera* como matriz polimérica,

lo convierte en una buena opción para la encapsulación de compuestos bioactivos, además de presentar propiedades antiinflamatorias y antibiótico al ser ingerido (Basha y col 2020; Amani y col 2022). Así mismo, existen diversos reportes de las propiedades antisépticas, medicinales, antimicrobianas y antioxidantes de los aceites esenciales como aditivos naturales en los alimentos (Nazzaro y col 2017). Sin embargo, no existen estudios sobre el efecto de la aplicación de una emulsión a base de cera de carnauba, *Aloe vera* adicionada con la combinación de dos aceites esenciales y su potencial sinérgico sobre la inhibición de moho gris causado por *B. cinerea* y la retención de la calidad en frutos de tomate.

### III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### A. TOMATE

##### 1. Origen y distribución

El tomate es un fruto originario de los Andes en su forma silvestre y fue exportado a Europa en el siglo XVI. Existen diferentes teorías de la domesticación de este fruto para su cultivo, las cuales sugieren diversos orígenes; sin embargo, hasta la fecha, el origen de la domesticación del tomate no está resuelto, se ha informado que los tomates de Europa y América del norte comparten isoenzimas y marcadores moleculares similares a los de México y América Central, lo que sugiere que el tomate se introdujo en Europa y América del Norte de la región andina (Bauchet y Causse 2012). Ninguna de las hipótesis sobre el origen de la domesticación del tomate es totalmente concluyente. Podría ser que la domesticación se produjera de forma independiente en diferentes regiones.

El ancestro más probable de los tomates cultivados es el tomate cherry silvestre, generalmente identificado como *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* por su amplia representación en Centroamérica. En la actualidad, esta planta es común en todo el mundo y se ha convertido en un cultivo económicamente importante (Bergougnoux 2014; Gerszberg y col 2015).

##### 2. Aspectos botánicos y clasificación taxonómica

El tomate pertenece a la familia de las solanáceas (**Cuadro 1**), que contiene más de 3000 especies. *Solanum* es el género más grande de la familia Solanaceae, que abarca de 1250 a 1700 especies. Las especies del género *Solanum* están presentes

**Cuadro 1.** Clasificación taxonómica

<i>Reino</i>	<i>Plantae</i>
<i>División</i>	Magnoliophyta
<i>Clase</i>	Magnoliopsida
<i>Subclase</i>	Asteridae
<i>Orden</i>	Solanales
<i>Familia</i>	Solanaceae
<i>Género</i>	<i>Solanum</i>
<i>Subgénero</i>	<i>Potatoe</i>
<i>Sección</i>	<i>Petota</i>
<i>Especie</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>

Fuente: NCBI (2023).

en todos los continentes templados y tropicales y se destacan por su diversidad morfológica y ecológica (Gerszberg y col 2015).

Desde el punto de vista botánico, el tomate, perteneciente a la especie *Solanum lycopersicum* L., es una baya de fruta. La morfología puede variar según la especie, pudiendo presentar formas redondeados, alargados, periformes, etc. El tamaño varía de los 3 hasta más de 10 cm y el peso entre 80 y 300 gramos. La coloración de los tomates cambia de verde a rojo conforme avanza el estado de maduración. Generalmente, su sabor es ligeramente ácido con un particular toque dulce (Monge y Loria 2019; Constantino y col 2022).

### **3. Composición química y nutrimental**

El tomate posee un valor nutritivo alto debido a que es una fuente rica en vitaminas y minerales, también contiene macronutrientes como proteínas, carbohidratos, grasas y fibra, y cuenta con un contenido de agua alto (94.7%) y contenido de energía bajo (22 kcal) (**Cuadro 2**) (Palomo y col 2010). Además, posee importantes nutrientes bioactivos como licopeno,  $\beta$ -caroteno, flavonoides y derivados del ácido hidroxicinámico.

El tomate ha alcanzado gran popularidad, especialmente en los últimos años con el descubrimiento de las actividades antioxidantes y anticancerígenas del licopeno (Wu y col 2011; Raiola y col 2014), por lo que la producción y el consumo de este cultivo aumenta constantemente.

### **4. Producción e importancia económica**

El tomate actualmente es cultivado en todo el mundo, principalmente en zonas

**Cuadro 2.** Aporte nutrimental de 100 g de tomate crudo con cáscara

Tomate con cáscara		
Agua	94.7	g
Energía	22	Kcal
Proteína	0.7	g
Lípidos	0.42	g
Carbohidrato	3.84	g
Fibra	1	g
Calcio	10	mg
Hierro	0.1	mg
Magnesio	8.1	mg
Fósforo	19	mg
Potasio	193	mg
Sodio	<2.5	mg
Zinc	0.08	mg
Manganeso	0.087	mg
Vitamina C	17.8	mg
Vitamina B1	0.056	mg
Vitamina B2	<0.1	mg
Vitamina B6	0.079	mg
Ácido fólico	10	µg
Vitamina A	24	µg
β-Caroteno	276	µg
Licopeno	2860	µg
Luteína	56	µg

Fuente: USDA (2023).

tropicales. A nivel mundial, China, India y Turquía son los mayores productores con 68,341,799 ton, 20,694,000 ton y 13,000,000 ton de producción, respectivamente, mientras que México ocupa el octavo lugar con 4,207,889 ton (**Cuadro 3**) (FAOSTAT 2023).

Debido a que la producción nacional es alta, su exportación también es significativa, y se destina una gran parte de la producción a países como Estados Unidos, Canadá y Japón, siendo Sinaloa el principal productor nacional, seguido por San Luis Potosí, Michoacán y Jalisco (**Cuadro 4**) (SIAP 2023).

## **5. Manejo poscosecha**

La cosecha de tomate se puede hacer en forma manual o mecanizada. La cosecha mecanizada se utiliza principalmente para cosechar tomates destinados al procesamiento industrial. Se puede hacer la recolección manual desprendiendo el fruto del resto del racimo, fracturando el pedúnculo a nivel de la unión con el cáliz, o mediante torsión o giro, de forma que el fruto quede libre del pedúnculo si el propósito es comercializarlo como fruto fresco (Ruíz y col 2012).

La causa más importante de deterioro en las frutas es la elevada tasa de respiración, la cual está inversamente relacionada con la vida de anaquel de los productos frescos (Barragán y col 2019). El tomate posee un patrón de respiración climatérico lo que lo hace más perecedero, normalmente dura de 2 a 3 semanas en anaquel (Ashenfi 2017). Otros factores que determinan el tiempo de vida de los frutos incluyen la madurez de cosecha, temperatura y tiempo de transportación, temperatura y tiempo de almacenamiento en bodega y venta al detalle, así como también si va a

**Cuadro 3.** Producción de tomate a nivel mundial

País	Producción (ton)
China	68,341,799
India	20,694,000
Turquía	13,000,000
Estados Unidos de América	10,199,753
Egipto	6,275,443
Italia	6,136,380
México	4,207,889
Brasil	3,809,986
Nigeria	3,684,566
España	3,651,940
Total:	186,207,961

Fuente: FAOSTAT (2023).

**Cuadro 4.** Principales productores de tomate en México

<b>Estado</b>	<b>Producción (ton)</b>
Sinaloa	712,013
San Luis Potosí	436,097
Michoacán	356,775
Jalisco	211,715
Morelos	201,721
Baja California Sur	171,838
Sonora	153,121
Puebla	150,141
Zacatecas	148,309
México	144,123
Total, nacional	4,207,889

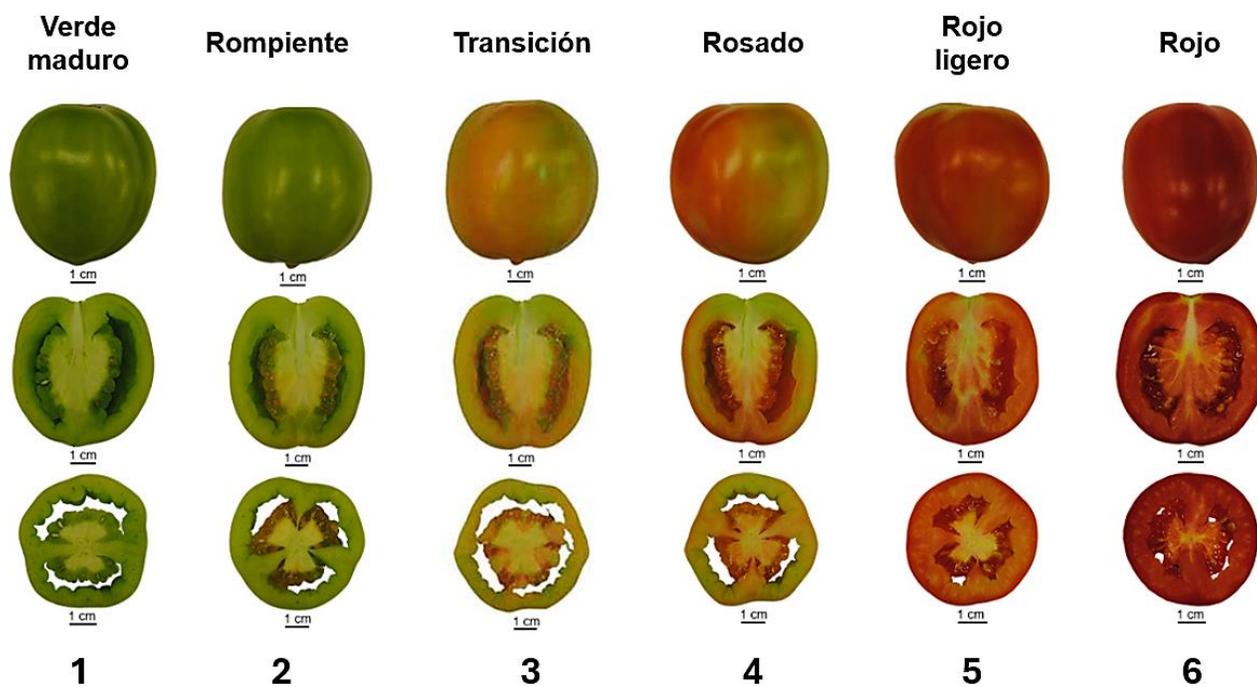
Fuente: SIAP (2023).

requerir o no la aplicación de un tratamiento cuarentenario al momento de ser destinado a exportación (Pereira-kechinski y col 2012).

Uno de los factores que se deben de controlar para mantener la calidad en los frutos de tomate es el índice de madurez (fisiológico y comercial). La madurez fisiológica se refiere al momento en el cual el fruto ha alcanzado el máximo crecimiento en la planta y la madurez comercial es aquella que cumple con las condiciones que requiere el mercado (Martínez y col 2017b).

El tomate ha sido clasificado en seis estados de madurez según la carta de color desarrollada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) (**Figura 1**). La cosecha debe ser realizada cuando el tomate se encuentra en el estado 2. Las semillas ya se encuentran desarrolladas y no se cortan al rebanar el fruto. Hay material gelatinoso en al menos un lóculo y se está formando en otros. Si se cosechan verdes, no pueden madurar correctamente y presentan una serie de características indeseables, mientras que los cosechados en estado verde-maduro maduran normalmente sin presentar diferencias con los que maduran en planta (Martines y col 2017a). Una vez cosechado el tomate se debe retirar el calor de campo mediante un preenfriamiento en cuartos fríos, utilizando aire forzado o por hidrogenfriamiento, ayudando a retrasar la maduración (Coronel-León 2009).

Seguido del preenfriamiento se debe lavar, desinfectar y secar el fruto para después realizar un proceso de descarte de aquellos que presenten alteraciones, algún grado de descomposición o daño mecánico, se debe eliminar en forma adecuada los frutos que no sean óptimos para el consumo, evitando que se genere un inóculo de plagas y enfermedades en el futuro. Los procesos de selección y clasificación se



**Figura 1.** Etapas de maduración del fruto de tomate (Fernandez-Pozo y col 2017).

deben efectuar en instalaciones o áreas que posean condiciones de higiene y seguridad controladas. El personal que labore en esta área debe cumplir con las normativas básicas de higiene y seguridad alimentaria (García y col 2008).

Posterior a la selección y clasificación al fruto se le aplica cera como recubrimiento para reducir la pérdida de peso y agregar brillo, una vez que el recubrimiento se seca se deben empacar los frutos de forma cuidadosa para no dañarlos. El embalaje debe ser realizado por personal capacitado en los aspectos de inocuidad e higiene. Los materiales de embalaje deben ser, en lo posible, nuevos, o en caso de ser reutilizados deben estar bien lavados. El proceso de embalaje debe efectuarse en un sitio protegido, de forma que se evite la contaminación del producto. El personal que participa en las áreas de embalaje debe disponer de las instalaciones necesarias para su higiene y hacer uso de ellas (García y col 2008; Carvajal 2012).

Para almacenar los frutos de tomate se deben considerar tecnologías poscosecha apropiadas que proporcionen condiciones de temperatura óptima (10 °C a 15 °C) y humedad relativa alta (HR, 85–95%). En caso de no cumplirse las condiciones antes mencionadas el fruto tenderá a deteriorarse de manera más acelerada sobre todo después de su pico climatérico, lo que limita gravemente su vida de anaquel y valor comercial (Babaremu y col 2018).

Los eventos asociados a la maduración como ablandamiento, acumulación de azúcares simples y disminución de la acidez contribuyen a una mayor susceptibilidad a daños físicos y problemas fitopatológicos. Se estima que anualmente los problemas fitopatológicos producen mermas superiores al 60% en cultivos de tomate (Kader

2007), por lo que el estudio de dicha problemática se vuelve indispensable en el área poscosecha.

## **B. PROBLEMAS FITOPATOLÓGICOS EN TOMATE**

Dentro de los agentes bióticos causantes de las enfermedades en el cultivo de tomate se encuentran las bacterias, virus, fitoplasmas, nemátodos, insectos, plantas parásitas y hongos. Se reporta que en fruto entero los microorganismos que presentan mayor incidencia en las infecciones son los hongos, debido a su gran especialización para degradar la superficie de hojas y frutos, además de poseer estructuras de latencia muy exitosas denominadas esporas (Dean y col 2012).

Entre los hongos de mayor prevalencia en los cultivos de tomate se encuentran *Botrytis cinerea*, *Fusarium solana*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus stolonifer*, *Laveillula taurina*, *Phytophthora infestans*, *Pythium aphanidermantum*, *Rizoctonia solani*, *Alternaria dauci* y *Alternaria alternata* (Rabea y col 2009; Martínez-Ruiz y col 2016).

### **1. *Botrytis cinerea***

*Botrytis cinerea* es un hongo saprófito necrótrofo y la principal causa biológica de los problemas poscosecha, ya que es responsable de la formación de moho gris en más de 200 especies de plantas, incluida la mayoría de los cultivos de hortalizas y frutas, árboles y flores (Nakajima y Akutsu 2014). De hecho, este hongo ocupa el segundo lugar entre los “10 principales patógenos fúngicos del mundo en patología vegetal molecular” en términos de relevancia económica y científica, precedido sólo por *Magnaporthe oryzae* (Williamson y col 2007; Dean y col 2012).

Generalmente, las esporas de hongos están presentes en la superficie de los frutos y durante el manejo poscosecha, los frutos pueden proporcionar un ambiente adecuado para la germinación de las esporas principalmente los frutos dañados, además este hongo sobrevive a temperaturas bajas y cualquier variación de temperatura puede promover la condensación del agua, favoreciendo así el crecimiento y la esporulación (De Simeone y col 2020) (**Figura 2**).

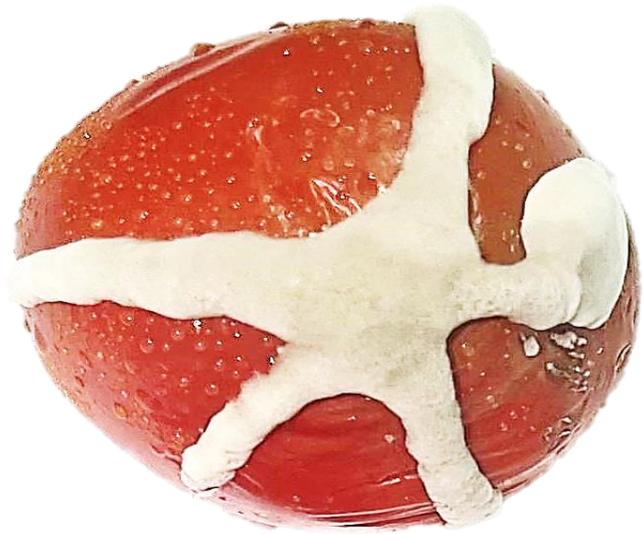
#### **a. Ciclo de infección**

La infección puede ocurrir durante el almacenamiento, la comercialización e incluso después de la compra del cliente (De Simeone y col 2020). Los conidios producidos en plantas infectadas, en restos de plantas y/o frutos infectados y en esclerocios en germinación se dispersan por corrientes de aire hacia nuevas plantas. El ciclo de la enfermedad comienza cuando los conidios hacen contacto con la superficie del fruto y una vez adheridos estos producen un tubo germinativo que facilita la penetración superficial en tejido dañado (**Figura 3**).

Generalmente, en tejido sano no se observa daño físico o penetración mecánica de la cutícula, lo que indica que la actividad enzimática está implicada en la penetración de superficies intactas del huésped, muestra de esto es la secreción de numerosas enzimas degradadoras de pared celular como endo y exopoligalacturonasas para utilizar los productos de degradación como fuente de nutrientes (Verhoeff y Warren 1972; van den Heuvel y Waterreus, 1985; Nakajima y Akutsu 2014).

#### **b. Morfología micro y macroscópica**

*B. cinerea* (**Figura 4A**). desarrolla colonias de color blanco a gris en agar papa dextrosa y otros medios de cultivo, produciendo micelios filamentosos, hialinos,



**Figura 2.** Fruto de tomate con síntomas de moho gris.

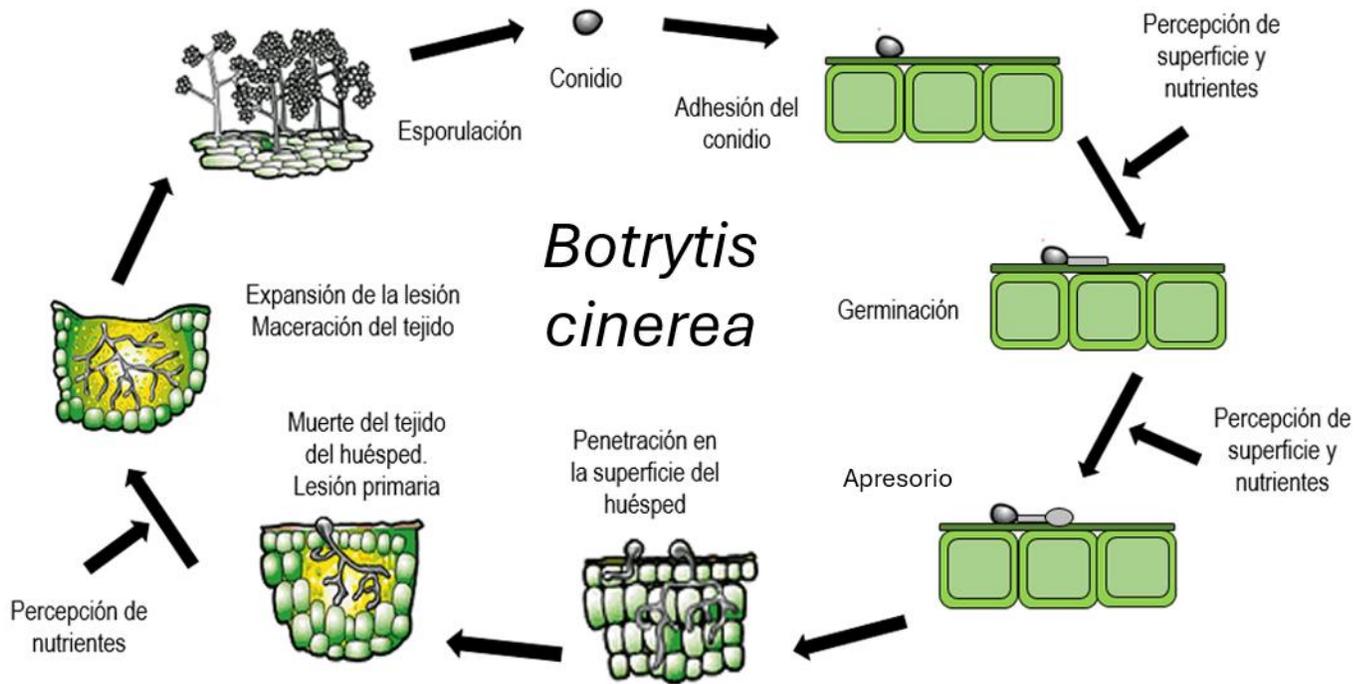
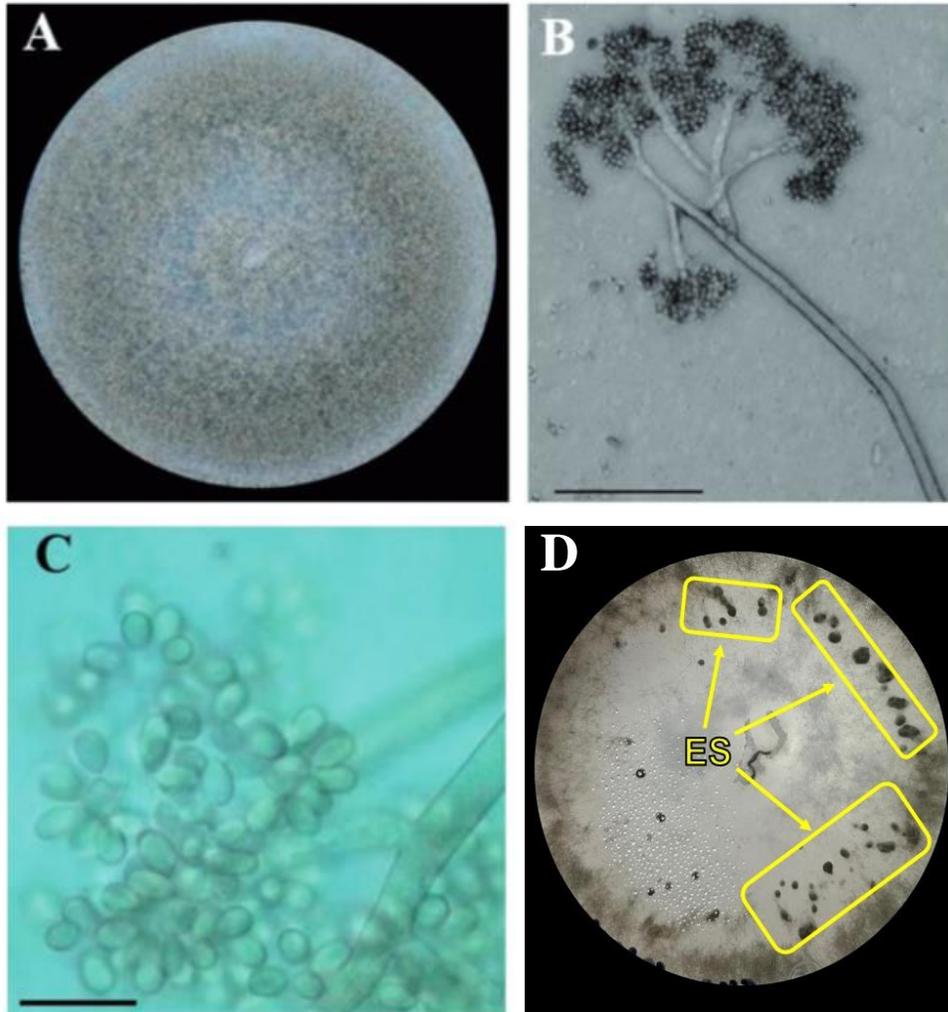


Figura 3. Ciclo de infección de *B.cinerea* (Gago 2015).



**Figura 4.** Morfología micro y macroscópica de *B. cinerea*, A. Morfología de la colonia en Agar papa dextrosa, B. Conidióforo, barra = 100 µm, C. Conidios, barra = 10 µm. ES: esclerocio (Latorre y col 2015).

ramificados y septados con paredes celulares prominentes. A diferencia de otros hongos, contiene una proporción baja de quitina y una proporción alta de proteínas y azúcares neutros. La mayoría de los aislados producen abundantes conidios multinucleados (3-6 núcleos) que son unicelulares, de traslucidos a ligeramente coloreados, lisos, de ovoides a elipsoides y miden de 10-12 x 8-10  $\mu\text{m}$ . Los conidios se producen en esterigmas cortos en las puntas hinchadas de conidióforos aéreos, libres y ramificados (**Figuras 4B y 4C**) (Latorre y col 2015).

Los esclerocios son estructuras de resistencia que se forman cuando el hongo se encuentra en condiciones inadecuadas para su desarrollo, son negros, melanizados, alargados o esféricos y miden de 3 a 5 mm de longitud (**Figura 4D**). Los esclerocios juegan un papel importante en la supervivencia, dispersión y multiplicación de patógenos. Se encuentran comúnmente en tejidos lignificados que son colonizados por *B. cinerea* después de someterse a temperaturas diferentes al rango óptimo (Cantu y col 2009).

### **c. Fitotoxicidad**

Se han identificado varios metabolitos secundarios que muestran actividad fitotóxica en filtrados de cultivo de *B. cinerea* como botcinolida, una lactona altamente sustituida; botrydial, un sesquiterpeno bicíclico; y varios compuestos con menor toxicidad que están relacionados con la botcinolida y el botrydial. El botrydial se produce en el tejido infectado e induce clorosis y colapso celular (Nakajima y col 2014). Además del botrydial y sus derivados, las cepas virulentas de *B. cinerea* también producen otros metabolitos fitotóxicos como el ácido botcínico, botcininas, ácido oxálico y especies reactivas de oxígeno (ERO's) (Kai y col 2022).

Las funciones fisiológicas del ácido oxálico en la patogénesis son numerosas. Este compuesto mejora la actividad de las poligalacturonasas, inhibe las enzimas protectoras de las plantas, suprime el estallido oxidativo de las plantas, media la señalización del pH e induce muerte celular programada (Rollins 2003; Favaron y col 2004; Kim y col 2008).

La generación del estrés oxidativo está asociada con respuestas de defensa en las interacciones planta-hongo. La rápida producción de ERO's por parte de la planta se identificó originalmente como necesaria para la expresión de genes de defensa y la respuesta hipersensible, un tipo de muerte celular programada que se cree que limita el acceso del patógeno al agua y los nutrientes. En el caso de un necrótrofo como *B. cinerea*, la muerte de las células vegetales es beneficiosa para el patógeno y conduce a susceptibilidad (Govrin y Levine 2000; Nakajima y col 2014).

## **2. Medidas de control**

Desde el siglo pasado se ha optado por emplear fungicidas sintéticos para controlar la incidencia de hongos en frutos y hortalizas. La implementación de estas sustancias en un inicio fue la solución a esta problemática que nació debido a la alta demanda y producción de alimentos de origen vegetal después de la revolución industrial (Kader 2007).

Los fungicidas sintéticos, como tiabendazol (TBZ), son efectivos para controlar *B. cinerea* al inhibir la síntesis de  $\beta$ -tubulina, elemento fundamental de los microtúbulos, que participan en la multiplicación y el movimiento de las células (Zhao y col 2010; Jurick y col 2017). Sin embargo, después de décadas de uso y abuso de estas sustancias se ha observado la aparición de aislados cada vez más resistentes a este

tipo de fungicidas, inclusive existen reportes donde se ha estudiado la resistencia hacia estos componentes aplicando diferentes combinaciones de fungicidas sintéticos y compuestos bioactivos, sin embargo, esto no ha resultado efectivo al mostrarse la supervivencia de cepas resistentes (Amiri y col 2014; Xu y col 2018).

En otros cultivos ya se han subrayado los altos riesgos de desarrollo de resistencia sin un manejo adecuado, aunado a esto, los fungicidas representan un riesgo al medio ambiente debido a su alta toxicidad y baja biodegradabilidad. Es por ello que es necesario el desarrollo e implementación de métodos alternativos naturales, que sean eficaces y amigables con el medio ambiente para reducir el deterioro de frutos de tomate *por B. cinerea* (De Simeone y col 2020).

#### **a. Alternativas naturales**

En la actualidad existe un gran número de alternativas naturales para combatir enfermedades poscosecha causada por fitopatógenos (**Cuadro 5**). Entre estas alternativas se puede mencionar a las encargadas de inducir una resistencia sistémica en el fruto como el quitosano, látex, propóleo y ácido  $\beta$ -aminobutírico (Karunanayake y col 2011).

Por otro lado, tenemos a metabolitos secundarios presentes en plantas en forma de extractos naturales o aceites esenciales que se encargan directamente de inhibir la germinación de esporas y/o crecimiento micelial (Mashigo y col 2015). De igual manera, se pueden emplear microorganismos antagonistas, los cuales compiten directamente con los fitopatógenos por el espacio y nutrientes, además de producir enzimas que inhiben el crecimiento del micelio del hongo (Bautista y col 2014).

<b>Género/especie o sustancia</b>	<b>Mecanismo</b>	<b>Referencia</b>
Látex	Inducción de la resistencia sistémica	Karunanayake y col (2011)
Ácido $\beta$ -aminobutírico		Zhang y col (2013)
Quitosano		López-Zazueta y col (2023)
<i>Helichrysum splendidum</i>	Efectos de compuestos activos sobre el crecimiento micelial	Mashigo y col (2015)
<i>Datura metel</i>		Karim y col (2017)
<i>Vitex mollis</i>		López-Velázquez y col (2022)
<i>Cryptococcus laurentii</i>	Competencia por espacio y nutrientes o producción de enzimas hidrolíticas	Bautista y col (2014)
<i>Bacillus atrophaeus</i>		Rajaofera y col (2018)
Cera de abejas y ácido propiónico	Sinergismo entre componentes	Thinh y Kunasakdakul (2013)
Quitosano y <i>Thymus vulgaris</i>		Correa-Pacheco y col (2018)
Quitosano y <i>Mentha piperita</i>		Ayón-Reyna y col (2022)

**Cuadro 5.** Alternativas naturales para combatir fitopatógenos en frutos y su mecanismo de acción.

una forma de aplicar esos tratamientos es como recubrimientos y que incluso algunos antimicrobianos necesitan de una matriz para ser acarreados y poder ser aplicados como recubrimientos (aquí se incluye la cera que no es antimicrobiano, pero sirve de acarreador), incluso menciona que actualmente se utilizan combinaciones de antimicrobianos y que algunos de ellos no son miscibles por sus propiedades por los que tienen que elaborar emulsiones. Por último, una alternativa que ha probado ser muy efectiva en frutos, son los recubrimientos comestibles como cera de carnauba, cera de abeja, *Aloe vera* o quitosano; sin embargo, algunos de estos carecen de actividad antimicrobiana es por ello que requieren ser adicionados con compuestos que tengan esta característica como los aceites esenciales y además de funcionar como acarreadores o matrices mitigarían la desventaja de volatilidad que presentan los aceites esenciales; no obstante, algunas matrices son de polaridad opuesta a los componentes bioactivos que podrían encapsular haciéndolos inmiscibles entre sí, una estrategia para resolver esto es forzar la mezcla mediante emulsificantes formando una emulsión ya que en ocasiones se ha observado una potencialización de efectos antifúngicos, además de proveer al fruto características sensoriales positivas (Thin y Kunasakdakul 2013).

### **C. RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES**

Los recubrimientos comestibles pueden ser comprendidos como una envoltura que cubre la superficie de un alimento y que se pueden consumir de manera directa debido a que están formulados a partir de diversas matrices en combinación con otros compuestos que son considerados como seguros (Restrepo y Aristizábal 2010).

Los recubrimientos son ampliamente utilizados sobre frutas y hortalizas con el fin de mantener sus características de calidad por mayor tiempo. Está demostrado que los recubrimientos controlan la degradación del color, la pérdida de firmeza, pérdida de peso, la respiración, la permeabilidad de gases, e inclusive se pueden utilizar para añadir otros ingredientes alimentarios con la finalidad de mejorar la calidad nutricional y/o disminuir o retardar el ataque de patógenos (Zambrano y col 2017).

Los recubrimientos comestibles presentan una gran variabilidad en la actualidad, y va en aumento año con año. En general, podemos clasificar a los recubrimientos comestibles de acuerdo con su naturaleza química, teniendo aquellos a base de carbohidratos, proteínas y lípidos. Cada tipo de recubrimiento presenta sus desafíos y beneficios; como ejemplo de un lípido que se emplea como recubrimiento es la cera de carnauba, y un carbohidrato es el del de *Aloe vera* estos presentan diferentes características derivado de su composición químico-estructural, una de las diferencias más grandes es su polaridad, sin embargo, el mezclarlos pudiera dar una matriz con mejores propiedades, no obstante estos componentes no poseen fuertes propiedades antifúngicas por lo que es necesaria la adición de un aditivo con propiedades antimicrobianas para formar un recubrimiento más completo/eficiente; no obstante al ser de polaridades diferentes otro desafío es la solubilidad, por lo cual es muy común optar por emulsiones para estabilizar tanto a la matriz como a posibles aditivos (Dhall 2013).

La mayoría de las emulsiones alimentarias son un sistema mixto de dos líquidos inmiscibles (normalmente agua y aceite) unidos por emulsionantes. Dependiendo de si el aceite se usa como una fase dispersa o una fase continua en la emulsión, se

puede dividirse en dos tipos: aceite en agua (O/W) y agua en aceite (W/O). Además, también existen otros tipos de emulsiones mixtas de agua en aceite en agua (W/O/W) y aceite en agua en aceite (O/W/O) (Goodarzi y Zendehboudi 2019; Zhou y col 2021).

## **1. Cera de carnauba**

La cera de carnauba (CC) es una de las ceras vegetales más utilizadas en la industria agrícola, es extraída de las hojas de la palma carnauba (*Copernicia prunifera*). Entre las ceras comerciales, la CC es la que presenta la mayor dureza y el punto de fusión más alto, además, tiene solubilidad baja y está compuesta principalmente por ésteres y diésteres alifáticos del ácido cinámico. Sus componentes son relativamente estables e inertes. Gracias a estas y otras características, la CC es ampliamente utilizada en alimentos, además de estar aprobada por la Administración de alimentos y medicamentos (FDA) de Estados Unidos, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Unión Europea (Carvalho y Gomes 2008).

En alimentos se utiliza como recubrimiento lipídico, agente de carga, regulador de acidez, entre otros (De Freitas y col 2019). Entre las ventajas de usar CC como recubrimiento en alimentos es que genera una atmósfera modificada, lo que ocasiona una acumulación de dióxido de carbono en las intermediaciones del fruto y la capa de cera, esta acumulación inhibe la ruta metabólica encargada de producir etileno, por lo que se puede observar un retraso en la maduración, especialmente en aquellos frutos que presentan un comportamiento climatérico, otra ventaja es la retención de agua debido a su hidrofobicidad. Por último, la CC realza el brillo de los frutos haciéndolos

lucir más llamativos y de mejor calidad. La CC es comúnmente aplicada en frutos de tomate tanto para venta nacional como para exportación (Kader 2007).

Aun cuando las ceras se utilizan por sus propiedades hidrófobas que las hacen buenas barreras a la pérdida de humedad, su carácter no polimérico limita su habilidad para formar recubrimientos con buena integridad mecánica (Dhall 2013); por lo que, para mitigar esta desventaja es necesario formular combinaciones que complementen las limitaciones de los componentes utilizados.

## **2. *Aloe vera***

El *Aloe vera* (AV), conocido como sávil, es una planta suculenta de tallo corto de la familia Asphodelaceae. Los tallos tienen una capacidad alta de retener la humedad, especialmente en climas secos muy cálidos, por lo tanto, pueden sobrevivir a circunstancias muy duras donde otra vegetación no podría (Mendy y col 2019). Por mucho tiempo, el AV se ha utilizado por sus propiedades medicinales y terapéuticas (Sogvar y col 2016). Las dos principales fuentes líquidas del AV son un látex amarillo (exudado) y un gel transparente (mucílago), que proceden de las células de parénquima de las hojas (Ni y col 2004). La ingestión oral del jugo de gel de AV ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de diversas enfermedades, además de acciones antiinflamatorias y antibióticas (Hassanpour 2015). En los últimos años se ha presentado un creciente interés por el uso del gel de *Aloe* en la industria alimentaria como ingrediente funcional (Valverde y col 2005).

El gel de *Aloe vera* es un polímero de carbohidrato aniónico con alto contenido de agua (~99%) que se utiliza principalmente en medicina y cosmética. La composición química del gel incluye acemanano (una polimánosa acetilada), glucosa y manosa.

Diferentes estudios han demostrado las propiedades emulsionantes del gel AV, lo que lo convierte en una buena opción para la encapsulación de compuestos bioactivos (Basha y col 2020). El AV tiene actividad antibacteriana y antiviral para usar en las industrias farmacéutica y alimentaria y también tiene el potencial para ser utilizado en envases de alimentos activos (Kanatt y Makwana 2020).

Según estudios previos, se utilizó mucílago de AV para encapsular curcumina donde se obtuvieron diferentes perfiles de liberación bajo diversas condiciones de procesamiento, lo que permite la posibilidad de preparar sistemas encapsulados a la medida según el período de liberación preferido y las dosis adecuadas para aplicaciones específicas, como sistemas antioxidantes, pigmentos orgánicos, farmacéuticos funcionales o recubrimientos para alimentos (Medina-Torres y col 2018).

Con respecto a su aplicación en frutos enteros, se ha encontrado que el AV implementado como recubrimiento retiene de manera importante los parámetros de calidad del fruto como pérdida de peso, firmeza, acidez titulable y color. Así mismo, se ha observado que se disminuye la degradación de vitamina C y la incidencia de mohos y levaduras. El AV modifica la atmósfera del fruto provocando una disminución en la respiración, lo cual ocurre debido al nivel de compactación que genera su mucilago, además, posee características que no atentan contra la calidad de los alimentos, al ser comestible, incoloro, inodoro e insípido (Misir y col 2014). Por otro lado, los polisacáridos presentes en AV contribuyen al volumen, el cuerpo, la viscosidad, la estabilidad de las emulsiones y espumas, la capacidad de retención de agua y la estabilidad de congelación y descongelación (Nicolau-Lapeña y col 2021).

### **3. Aceites esenciales como aditivos en recubrimientos comestibles**

El término “Aceite Esencial” (AE) fue acuñado en el siglo XVI por el reformador suizo de la medicina, Paracelsus von Hohenheim. Los AE´s vegetales suelen ser mezclas complejas de compuestos naturales, tanto polares como no polares, conocidas por sus propiedades antisépticas y medicinales (analgésicas, sedantes, antiinflamatorias, espasmolíticas, anestésicas locales y anticancerígenas). También se utilizan en embalsamamiento y, por su actividad antimicrobiana y antioxidante, como aditivos naturales en los alimentos y productos alimenticios (Nazzaro y col 2017).

La Organización Internacional de Normalización (ISO) (ISO/D1S9235.2) define un aceite esencial como un producto elaborado por destilación con agua o vapor de agua por procesamiento mecánico o por destilación seca de materiales naturales. Se presentan como mezclas líquidas, volátiles, límpidas y coloreadas de varios compuestos aromáticos. Los aceites esenciales se obtienen de todas las partes de la planta, principalmente de hierbas y especias (Ravindran y col 2016; Fengfeng y col 2017).

Se conocen alrededor de 3000 AE´s, 300 de los cuales son comercialmente importantes, utilizados principalmente en el mercado de sabores y fragancias (Nazzaro y col 2017). En la naturaleza, los AE´s juegan un papel importante en la protección de las plantas contra enemigos indeseables. En cuanto a otros metabolitos vegetales, el papel de los AE´s es la protección del organismo vegetal frente a algunos microorganismos patógenos, la acción repelente hacia los insectos que actúan como vectores de plagas y la reducción del apetito de algunos herbívoros (al inducir sabor desagradable a la planta). Por otro lado, también pueden atraer algunos insectos para

promover la dispersión de polen y semillas. En síntesis, los aceites esenciales pueden desempeñar un papel en la mediación de las interacciones de las plantas con el medio ambiente (Bakkali y col 2008).

Debido a sus extensas propiedades antimicrobianas, muchos AE's podrían usarse para el control del deterioro microbiano, la preservación de la calidad y seguridad de los alimentos y la prolongación de su vida útil. Los AE's están clasificados como "Generalmente Reconocidos como Seguros" (GRAS) por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de Estados Unidos, por lo que no son dañinos y, debido a su origen natural, son más aceptados por los consumidores que los agentes "sintéticos" (Tian y col 2011).

Los aceites esenciales pueden representar uno de los productos naturales más prometedores para la inhibición de hongos. De hecho, muchos tipos de aceites esenciales obtenidos de diferentes plantas o hierbas han exhibido intensas propiedades antifúngicas (Lang y col 2012; Prakash y col 2012; Ghalem 2016). Entre los AE's más estudiados para inhibir hongos fitopatógenos se encuentran: el clavo (*Eugenia caryophyllus*), romero (*Rosmarinus officinalis* L.), canela (*Cinnamomum verum* Presl.), pino silvestre (*Pinus sylvestris* L.), menta (*Mentha piperita* L.), anís (*Pimpinella anisum* L.) y lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill.) (Ćosić y col 2010; Sharifzadeh y col 2018). La actividad antimicrobiana de los AE's podría deberse a las propiedades de los terpenos/terpenoides (cital, geraniol, mirceno, limoneno, pineno, etc.) que debido a su naturaleza altamente lipofílica y bajo peso molecular, son capaces de romper la membrana celular, causar la muerte celular o inhibir la esporulación y germinación de hongos que deterioran los alimentos. Es importante

mencionar que, varias pruebas *in vitro* indican que los terpenos/terpenoides presentes en los AE's muestran una menor actividad antimicrobiana cuando se evalúan de manera individual (Bajpa y col 2011).

Entre las propiedades más características de los AE's es su alta volatilidad. Esta particularidad dificulta su aplicación individual en productos hortofrutícolas, debido a que su efecto estaría limitado únicamente durante la aplicación y no durante todo el almacenamiento del producto. Es por esto que se opta por añadir a los AE's a matrices estables como los recubrimientos comestibles, de esta manera se retrasaría la volatilización del AE teniendo un efecto sinérgico, ya que se prolonga el tiempo de acción del aceite y a su vez este podría modificar las propiedades de barrera del recubrimiento (Ravindran y col 2016; Fengfeng y col 2017).

Como ejemplo de la aplicación de aceites en emulsiones, Oliveira-Filho y col (2022) estudiaron el potencial de conservación de frutos de papaya tratados con un recubrimiento comestible basado en una asociación entre la nanoemulsión de cera de carnauba y AE de *Cymbopogon martinii*. Se aplicaron recubrimientos formulados con CC y/o AE y dieron como resultado una maduración tardía durante el período de almacenamiento de 12 días, sin afectar negativamente los parámetros de calidad poscosecha. Los recubrimientos redujeron la pérdida de peso y mantuvieron la firmeza, además de retrasar los cambios de color de la fruta durante el almacenamiento. Así mismo, los recubrimientos formulados con CC + AE fueron los más eficientes para reducir la incidencia y la severidad de las pudriciones de la fruta durante el almacenamiento.

Por otro lado, Amani y col (2022) reportaron que la encapsulación de AE de canela en una mezcla de *Aloe vera*-gelatina demostró actividad antibacteriana con mayor eficiencia que al aplicar el AE solo, evidenciando los beneficios de encapsular compuestos bioactivos, como los AE's.

#### **a. Combinación sinérgica de aceites esenciales**

La resistencia emergente de diferentes hongos patógenos a los antifúngicos clásicos es un verdadero problema, por lo que en años recientes las investigaciones se están enfocando en la formulación de tratamientos mediante la combinación de dos o más componentes para obtener un tratamiento complejo que tenga mejores beneficios que los componentes individuales, por ello resulta interesante combinar matrices poliméricas formadoras de recubrimientos, como la CC y el AV, con algunos AE's para lograr sinergismo, es decir, tener un efecto común superior al de las moléculas individuales. Además, un efecto sinérgico entre dos compuestos puede reducir la dosis a utilizar (D'agostino y col 2019).

El índice de concentración inhibitoria fraccional (ICIF) estima la interacción entre dos o más compuestos para determinar el resultado combinado de varias moléculas. Este índice representa la capacidad inhibitoria de la mezcla de dos sustancias al fraccionar sus concentraciones mínimas inhibitorias y combinarlas de forma cruzada con el fin de demostrar que tipo de efecto presentan sobre un microorganismo diana. Un valor igual o inferior a 0.5 denota sinergismo, un valor superior a 4 muestra antagonismo y valores intermedios (0.5 - 4) en la combinación se considera aditiva o sin efecto (Lesjak y col 2016).

El ICIF es variable dependiendo de las moléculas probadas, pero también de las especies objetivo. Varios mecanismos parecen estar involucrados en el efecto sinérgico de los antifúngicos como la inhibición de diferentes etapas en las vías intracelulares fúngicas que son esenciales para la supervivencia celular, la acción de otro agente antifúngico en la membrana celular fúngica, la inhibición de las proteínas transportadoras y la inhibición simultánea de diferentes objetivos celulares, sin embargo, no se ha establecido una vía concluyentemente (Suzuki y Ohashi 2013).

A la hora de escoger los AE's para realizar la mezcla se podría optar por aquellas que posean una composición lo suficientemente diferente para poder ofrecer un posible efecto sinérgico. Para ello, se puede optar por emplear dos familias muy representativas de los AE's, como lo son los derivados del metabolismo fenilpropanoide y monoterpenos. Por el lado de los fenilpropanoide tenemos a la canela (*Cinnamomum verum*) como una de sus fuentes más representativas, ya que su AE presenta un 71% de cinamaldehído; sin embargo, la cassia, el cual es otro miembro de esta familia (*Cinnamomum cassia*) presenta mayor proporción de estos compuestos con un 90% (Cinamaldehído con 69.1% y ácido metoxicinámico con 21.2%), por lo que podría representar una mejor opción. Por otro lado, en el caso de los monoterpenos, podemos tomar como ejemplo al limón mexicano. El AE de la cáscara de esta especie presenta un contenido de 70% en monoterpenos conformados únicamente de carbono e hidrógeno (limoneno con 42.3%,  $\gamma$ -terpineno con 15.4% y  $\beta$ -pineno con 12.5%). La diferencia estructural entre los compuestos mayoritarios de estos AE podría provocar un efecto sinérgico debido a los diferentes roles que podrían

estar desempeñando al inhibir a hongos. (Lin y col 2019; Behbahani y col 2020; Chahbi y col 2020)

#### IV. JUSTIFICACIÓN

El tomate es una hortaliza de gran importancia económica ya que su exportación a otros países es significativa, siendo Sinaloa el principal estado productor. A pesar de ser un producto altamente exportado, su comercialización se ve reducida debido a su acelerada pérdida de calidad, derivado de su susceptibilidad a daños mecánicos, desórdenes fisiológicos y ataques de fitopatógenos; por lo que surge la necesidad de la aplicación de tratamientos que sean capaces de retrasar la incidencia de estas alteraciones. Se han implementado una serie de estrategias en diversos frutos, donde ha sido mencionado el uso de recubrimientos a base de matrices de diferentes naturalezas químico-estructurales o inclusive la combinación de éstas para la formación de emulsiones adicionadas con compuestos antimicrobianos como una alternativa a los fungicidas químicos para combatir la aparición de fitopatologías y mantener la calidad en productos hortofrutícolas. En este sentido, la cera de carnauba ha sido empleada como recubrimiento de frutos para aportarle mejor apariencia, mientras que el *Aloe vera* ha sido reportada como una matriz polimérica capaz de aportar compuestos bioactivos y mantener la calidad de frutos, por su parte, los aceites esenciales han mostrado propiedades antifúngicas al aplicarse como recubrimiento; sin embargo, sus componentes activos se volatilizan fácilmente perdiendo su efectividad como antimicrobiano en un corto periodo de tiempo. En orden de solucionar este problema, se han empleado matrices de emulsiones que encapsulen a los aceites para provocar una liberación prolongada de sus componentes activos y así mantener el efecto antifúngico por más tiempo. Por otro lado, a pesar del conocimiento de los efectos sinérgicos de la combinación de aceites esenciales no se han encontrado reportes sobre su aplicación en una emulsión a base de cera de carnauba y *Aloe vera*

para inhibir la infección por *Botrytis cinerea*, por lo que es de gran interés evaluar el efecto de este tratamiento para inhibir el moho gris y mantener los parámetros de calidad en frutos de tomate.

## **V. HIPÓTESIS**

La aplicación de una emulsión a base de cera de carnauba y *Aloe vera* adicionada con la mezcla de aceite esencial de cassia (AEC) y limón mexicano (AELM) presenta efecto sinérgico y antifúngico contribuyendo a disminuir el desarrollo de moho gris y mantener los parámetros de calidad en tomate.

## VI. OBJETIVOS

### A. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de un recubrimiento a base de cera de carnauba y *Aloe vera* adicionado con la mezcla de AEC y AELM sobre el desarrollo de moho gris y la calidad en frutos de tomate.

### B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la concentración mínima inhibitoria del AEC y AELM contra *B. cinerea*.
2. Evaluar el potencial antifúngico de la mezcla de AEC y AELM.
3. Determinar la actividad antifúngica *in vitro* de los tratamientos (EAELM, EAEC y EAACL) contra *B. cinerea*.
4. Analizar el efecto de la emulsión sobre la integridad celular de *B. cinerea*.
5. Evaluar el efecto antifúngico *in vivo* de una emulsión de CC y AV adicionada con la mezcla de AEC y AELM en tomate inoculado con *B. cinerea*.
6. Evaluar los parámetros de calidad (pérdida de peso, color, firmeza y sólidos solubles totales) en frutos de tomate inoculados con *B. cinerea* y recubiertos con una emulsión de CC y AV enriquecida con la mezcla de AEC y AELM.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. MATERIALES

Los tomates fueron obtenidos del campo agrícola Chaparral S.A. de C.V. ubicado en Culiacán, Sinaloa, en etapa de maduración 3, cerciorándose que fueran uniformes en tamaño y color y que no presentaran daño físico o por microorganismos. El material biológico se obtuvo a partir de un aislado previo de *B. cinerea* del Laboratorio de Fisiología y Tecnología Poscosecha. Los aceites esenciales fueron adquiridos de Bienat Aromaterapia México®, la cera de carnauba y el recubrimiento comercial ALOE COAT fueron donados por la Agrícola Chaparral S.A. de C.V., el fungicida químico tiabendazol (TBZ) fue adquirido a través de distribuido de agroinsumos SYNGENTA® y el *Aloe vera* se obtuvo de la plantación de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas.

### B. MÉTODOS

El desarrollo de este proyecto se realizó en dos etapas. En la primera etapa se llevaron a cabo las pruebas *in vitro* para determinar el efecto de las emulsiones, un recubrimiento comercial y un fungicida químico sobre el control de *B. cinerea*. En la segunda etapa se aplicaron los tratamientos *in vivo*, así como TBZ y ALOE COAT y se determinó su efecto sobre el desarrollo de moho gris y calidad en frutos de tomate.

#### 1. *In vitro*

##### a. Preparación del inóculo

Para preparar la suspensión de esporas del hongo, a placas Petri conteniendo un cultivo de *B. cinerea* de 2 semanas se les añadió solución salina estéril (8%) y se

realizó un raspado con un portaobjetos estéril para liberar las esporas de la superficie de las cajas. La suspensión de esporas se filtró a través de 3 capas de tela de organza estériles y su concentración se ajustó a  $1 \times 10^6$  esporas/mL con ayuda de un hemacitómetro (Neubauer Improved, Optik Labor; Lancing, United Kingdom) (Ayon-Reyna y col 2017).

#### **b. Obtención de la concentración mínima inhibitoria de AEC y AELM**

Para la selección de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de AE de cassia y limón mexicano se realizó un ensayo antifúngico *in vitro* a través de la evaluación del crecimiento radial micelial integrando a medio agar papa dextrosa (PDA) 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5 y 5  $\mu$ L/mL de AELM y 0.04, 0.065, 0.098, 0.148 y 0.248 de AEC y posteriormente inoculando puntualmente en el centro de la caja 1  $\mu$ L de solución de esporas a  $1 \times 10^6$  esporas/mL, por último, se incubaron las cajas a 20 °C durante 7 días. La CMI es la menor concentración a la cual se obtiene el 100% de inhibición del desarrollo micelial del hongo (Xing y col 2010).

#### **c. Índice de concentración inhibitoria fraccional (ICIF)**

Para determinar la CIF se implementó la metodología descrita por Lesjak y col (2016), se prepararon combinaciones de distintas concentraciones (1 CMI, 1/2CMI, 1/4 CMI, 1/8CMI) de AEC y AELM por el método de tablero de ajedrez (**Figura 5**). Se preparó PDA, PDA con AEC y PDA con AELM, estos dos últimos a una concentración 4 veces mayor que la CMI, para posteriormente diluir en cada pocillo para llegar a la concentración fraccional seguido de la inoculación de 1  $\mu$ L de suspensión de esporas a  $1 \times 10^6$  esporas/mL. El control contuvo únicamente PDA no fue inoculado con la solución de esporas.



**Figura 5.** Método de tablero de ajedrez para ensayo de sinergismo antifúngico (Lesjak y col 2016).

La organización de los tratamientos se realizó de la siguiente manera: AEC en el eje X y AELM en el eje Y. La microplaca se mantuvo en incubación a 20 °C hasta que el control presentó crecimiento total de micelio. El cálculo de ICIF se realizó mediante la suma de CIF A y CIF B. El cálculo de los CIF se basa en las siguientes fórmulas:

$$\text{CIF A} = \frac{\text{CMI de AEC en presencia de AELM}}{\text{CMI de A}}$$

$$\text{CIF B} = \frac{\text{CMI de AELM en presencia de AEC}}{\text{CMI de B}}$$

$$\text{ICIF} = \text{CIF A} + \text{CIF B}$$

La interpretación de diferentes combinaciones de AEC y AELM se demostró como efectos sinérgicos ( $\text{ICIF} \leq 0.5$ ); efectos aditivos ( $0.5 < \text{ICIF} \leq 1$ ); sin efectos interactivos ( $1 < \text{ICIF} \leq 4$ ); efectos antagónicos ( $\text{ICIF} > 4$ ).

#### **d. Formulación de las emulsiones**

La proporción de CC-AV para la formación de la emulsión se basó en una investigación precedente del laboratorio de Fisiología y Tecnología Poscosecha del Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos realizada por Sandoval-Sicairos (2015) con algunas modificaciones. Primeramente, al gel de AV (70%) se le adicionó tween 80 (1%) y posteriormente los AE (CMI) y se homogenizó con un Ultra-turrax (IKA T18 basic) a una velocidad de 11,000 rpm formando la primera emulsión, posteriormente se le adicionó gota a gota la primera emulsión a la CC (30%) con SPAN 80 (3%) en agitación constante en una placa de agitación, una vez adicionada la última gota se homogenizó por 1 min con un Ultra-turrax (IKA T18 basic) a una velocidad de 11,000 rpm hasta obtener una emulsión O/W/O homogénea.

#### **e. Inhibición de crecimiento radial micelial**

Para evaluar el crecimiento radial micelial se utilizó la metodología reportada por Araujo y col (2007) con algunas modificaciones. A 9 mL PDA líquido se les añadió 1.0 mL de fungicida, ALOE COAT, emulsión de limón mexicano, cassia o cassia-limón (EAELM, EAEC o EAECCL) concentrando 10 veces la CMI de cada AE y se mezcló para posteriormente ser vertido en las cajas Petri y dejar solidificar, enseguida se inocularon con 1.0 µL de suspensión de esporas ( $1.0 \times 10^6$  conidios/mL) en el centro de cada caja. Las cajas Petri se incubaron a 20 °C durante 7 días. El crecimiento del micelio se midió registrando el diámetro del halo de inhibición pasado el tiempo de incubación.

Se evaluó la fungitoxicidad de los tratamientos en términos del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, calculándolo mediante la siguiente formula:

$$\% \text{Inhibición del crecimiento radial} = \frac{R_c - R}{R_c} \times 100$$

Donde

$R_c$  = Crecimiento radial en el control

$R$  = Crecimiento radial en el tratamiento

Tres réplicas fueron usadas por tratamiento y cada réplica consistió en tres cajas Petri.

#### **f. Inhibición de germinación de conidios**

Para la determinación de la germinación de conidios, en cajas Petri con 10mL de PDA (control), 9 mL PDA líquido más 1.0 mL de fungicida, ALOE COAT, EAELM, EAEC o EAECCL concentrando 10 veces la CMI de cada AE, se pipeteó 1.0 mL de la

suspensión conidial ( $1.0 \times 10^6$  conidios/mL), posteriormente, la suspensión de esporas se esparció con un asa estéril y las cajas se incubaron a  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 7 h. La germinación de conidios fue examinada usando un microscopio óptico a una amplificación de 400X (Microscopio fotoeléctrico Carl Zeiss, Alemania). Se examinaron cien conidios y la germinación se estableció mediante el desarrollo de tubos germinativos. Un conidio se consideró como germinado cuando la longitud del tubo germinativo igualó o excedió la mitad de la longitud del conidio. Los resultados fueron expresados como porcentaje de inhibición de la germinación usando la fórmula descrita por Ong y col (2013).

$$\% \text{Inhibición de germinación} = 1 - \frac{G}{G_c} \times 100$$

Donde:

G = Número de esporas germinadas en el tratamiento.

G<sub>c</sub> = Número de esporas germinadas en el control.

#### **g. Efecto fungicida/fungistático**

El efecto fungistático o fungicida de los tratamientos se determinó de acuerdo con lo reportado por Ayón-Reyna y col (2022). Se realizó un corte cilíndrico de 1.0 cm de diámetro al agar de las cajas Petri que fueron utilizadas en el ensayo de crecimiento radial micelial que no mostraron crecimiento del hongo. Posteriormente, los discos fueron transferidos a cajas con PDA fresco y se incubaron durante 7 días a  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , para observar cualquier recuperación de crecimiento. Se determinó el efecto fungistático al observarse crecimiento después del periodo de incubación y efecto fungicida si no se observó crecimiento.

## **h. Microscopía de fluorescencia**

Para los análisis microscópicos, muestras de esporas y micelio se mezclaron con los tratamientos TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAEL. Las muestras se ajustaron a una concentración final de  $3.0 \times 10^6$  esporas/mL y 5.0 mg de micelio/mL y se incubaron durante 4 h a 20 °C. Media hora antes de culminar este periodo se agregó una solución acuosa del fluoróforo lipofílico FM4-64® (ThermoScientific, Waltham., E.U.A.) (1.0 mg/mL) hasta obtener una concentración final de 5.0 µg/mL. 10 µL de la solución de esporas y pequeñas partículas de micelio que fueron tratadas y mezcladas con el fluoróforo se colocaron sobre un portaobjetos y se les colocó un cubreobjetos y se sellaron por las orillas con esmalte de uñas. Las muestras fueron observadas en un microscopio de fluorescencia confocal Leica TCS SP5X (KEYENCE, Itasca, E.U.A.) con un objetivo de inmersión a 400X. La excitación del fluoróforo se llevó a cabo a 558 nm y la emisión a 734 nm (Trejo-Raya y col 2021).

## **2. *In vivo***

### **a. Selección de frutos y aplicación de tratamientos**

Los frutos fueron llevados al Laboratorio de Fisiología y Tecnología Poscosecha del Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas, donde se lavaron con jabón y se desinfectaron con hipoclorito de sodio (1.0% p/v por 3 min). Se hizo una segunda selección para descartar aquellos frutos que presentaran algún defecto o daño, posteriormente los frutos fueron inoculados mediante aspersion con 1mL de solución de esporas ( $1.0 \times 10^6$  esporas/mL) de *B. cinerea*, una vez secos se aplicó 1 mL de los tratamientos con brocha simulando un cepillado simple que convencionalmente se aplica en las líneas de

empaque de tomate y por último, los frutos se almacenaron a 12 °C con una HR del 90-95%.

## **b. Ensayo antifúngico *in vivo***

### **1) Incidencia**

La incidencia de la enfermedad se evaluó de acuerdo con la técnica reportada por Ayón-Reyna y col (2017) con algunas modificaciones. Se evaluó el efecto de los tratamientos sobre la incidencia de la enfermedad por un periodo de 25 días a 12 °C con retiros cada 5 días. Los resultados se expresaron como porcentaje del número de frutas que mostraron síntomas de moho gris del total de frutos de cada tratamiento, usando la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia de moho gris (\%)} = \frac{\text{\# de frutos infectados}}{\text{Total de frutos inoculados}} \times 100$$

### **2) Severidad**

La severidad de moho gris se evaluó visualmente cada 5 días siguiendo la metodología reportada por Madani y col (2016). El daño se evaluó de acuerdo con el porcentaje de la superficie del fruto con síntomas de moho gris, para lo cual el fruto se dividió en dos caras (posterior e inferior) y cada una de estas caras a su vez se dividió en cuadrantes. La sumatoria de la superficie dañada de todos los cuadrantes se tomó como porcentaje de daño por fruto.

## **c. Parámetros de calidad**

### **1) Porcentaje de pérdida de peso**

Para la determinación de la pérdida de peso de los tomates se registró el peso cada 5 días, utilizando una balanza analítica (Sartorius TE-4101) de acuerdo con lo

reportado por Carrera y col (2009) y se calculó el porcentaje de pérdida de peso (%PP) mediante la siguiente fórmula: 
$$\%PP = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100\%$$

## **2) Color**

Para la evaluación de color externo se utilizó un colorímetro Minolta CR 200 (Minolta, Osaka, Japón). Se tomaron tres puntos en la región ecuatorial de la superficie de cada fruto para llevar a cabo las mediciones. Se registraron los parámetros L\* y a\* empleando la escala CIELAB.

## **3) Firmeza**

La firmeza se determinó de acuerdo con lo reportado por Barbagallo y col (2012) con algunas modificaciones. Se utilizó un penetrómetro (Chatillon DFE100, AMETEK Inc, Largo, FL) equipado con una punta plana de 11 mm de diámetro, las mediciones se realizaron a una velocidad de penetración constante (50 mm/min-5.0 mm de penetración). Para ello, se evaluaron 4 frutos por cada día de evaluación para cada tratamiento utilizado, se cortaron en medias lunas los frutos de manera longitudinal y se colocó la punta del penetrómetro en el centro de cada una, obteniéndose 4 puntos por fruto y los resultados se expresaron como fuerza de compresión máxima en Newtons (N).

## **4) Sólidos solubles totales**

El contenido de SST se determinó de acuerdo con el método oficial 22.014 de la AOAC (2012) utilizando un refractómetro manual (Fisherbrand by Fisher Scientific S66366, Ltd, Nepean, Ontario, Canada). Diferentes partes del mesocarpio fueron maceradas y el jugo obtenido fue colocado directamente en el refractómetro. Los resultados se reportaron como °Brix.

## **5) Diseño experimental**

Para el análisis de los datos se empleó un diseño experimental completamente al azar con al menos 3 réplicas. Para la primera etapa se utilizó un ANOVA unifactorial donde el factor fue el tratamiento aplicado.

En la segunda etapa de la investigación se utilizó un diseño completamente aleatorio con dos factores: tratamiento (Control, TBZ, ALOE COAT, EAEC, EAELM, EAELCL) y tiempo de almacenamiento (0, 5, 10, 15, 20 y 25 días). La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Fisher con un nivel de significancia del 5.0% ( $P < 0.05$ ). Los datos obtenidos se analizaron con el software Statgraphic Centurion v.16.1.

## VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

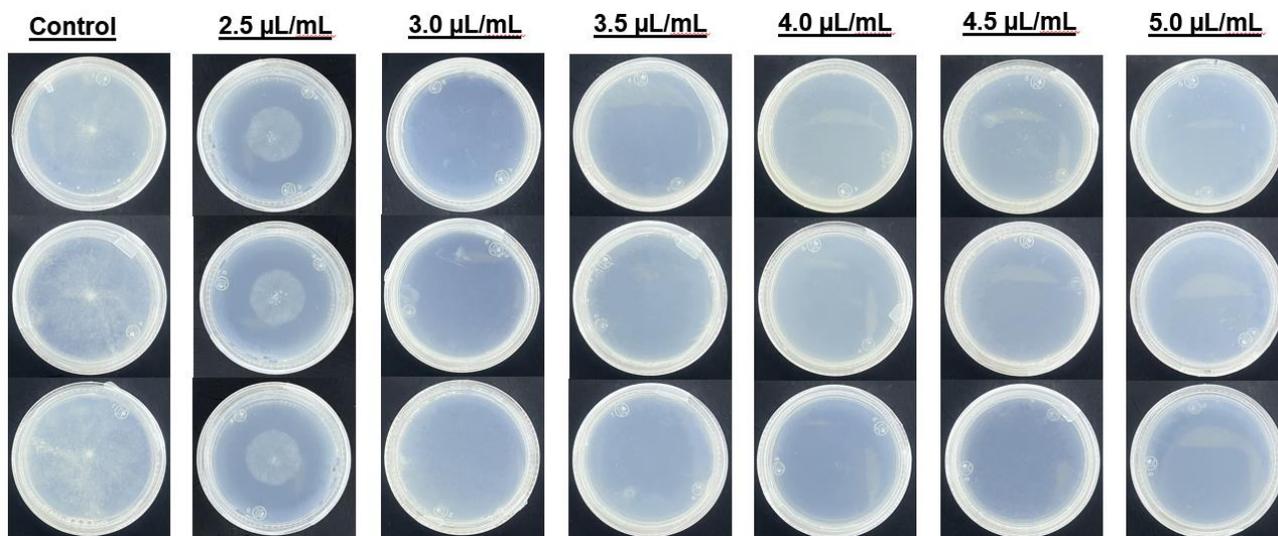
### A. *IN VITRO*

#### 1. Obtención de concentración mínima inhibitoria (CMI) de AEC y AELM

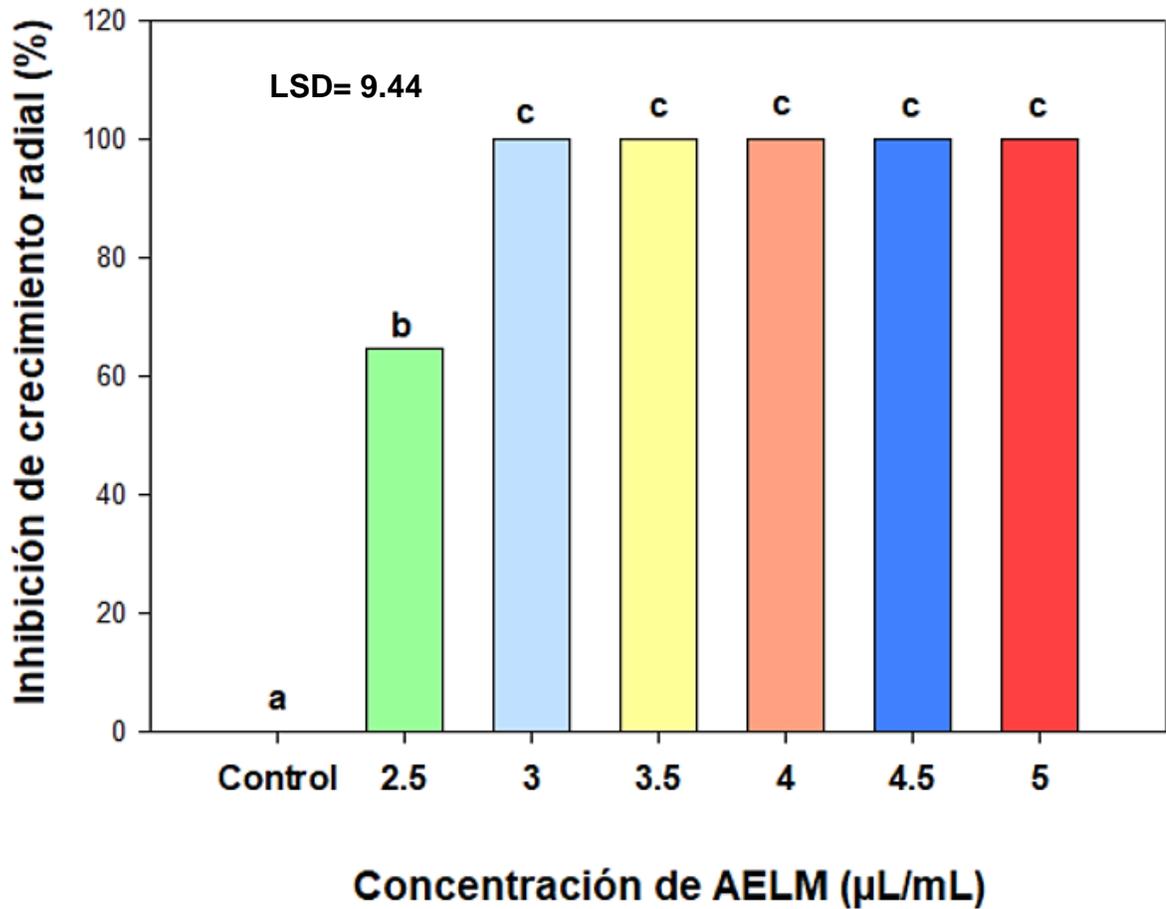
##### a. Crecimiento radial micelial

Los aceites esenciales presentaron una CMI sobre el desarrollo de *B. cinerea* de 3  $\mu\text{L/mL}$  y 0.065  $\mu\text{L/mL}$  para AELM (**Figura 6 y 7**) y AEC (**Figura 8 y 9**), respectivamente. La baja cantidad de estos AE's para inhibir por completo el desarrollo *in vitro* del hongo puede deberse a la proporción alta que presentan sus componentes principales como cinamaldehído ~69-90% y limoneno ~40% y al posible efecto sinérgico que exacerban los componentes secundarios o minoritarios propios de estas mezclas complejas (Li-Yun Lin y col 2019; Behbahani y col 2020; Chanbi y col 2020).

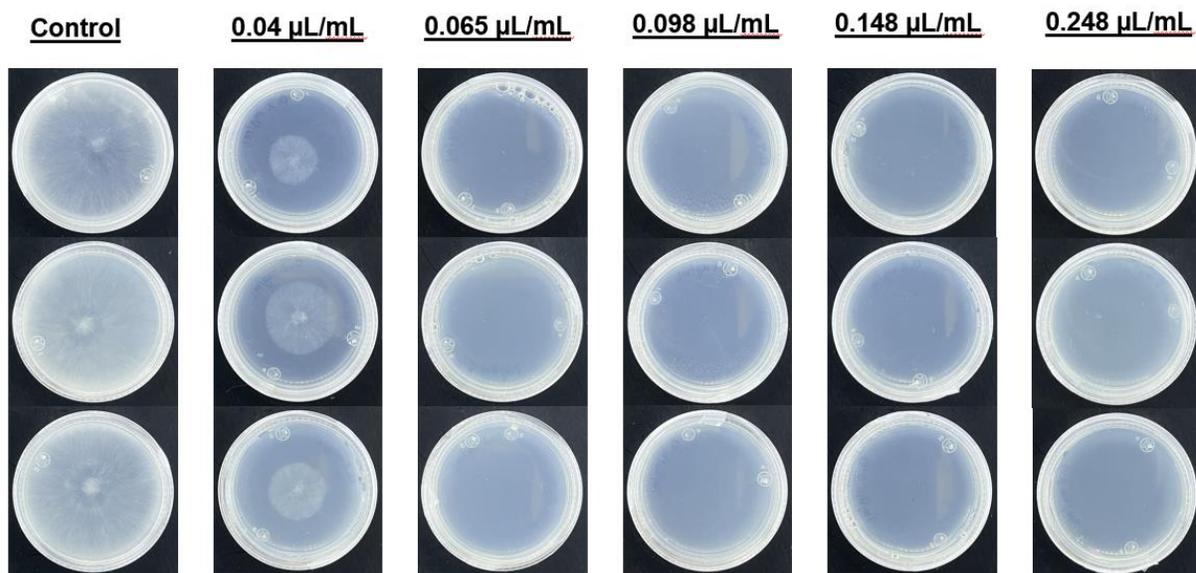
Los resultados obtenidos en este estudio son comparables con los reportados por Liu y col (2022) donde evaluaron la actividad antifúngica del AEC sobre la inhibición de *Aspergillus flavus* en maní, y reportaron una CMI de 0.0625  $\mu\text{L/mL}$ , la cual es muy similar a la obtenida en este estudio; además, su efecto inhibitorio fue evidenciado mediante un ensayo de microscopía electrónica de barrido donde era fácilmente apreciable el daño y colapso en las estructuras fúngicas. Por otro lado, Xu y col (2018) reportaron la inhibición del desarrollo de *Alternaria alternata* provocada por el daño a pared y membrana celular al aplicar cinamaldehído (0.2  $\mu\text{L/mL}$ ), el cual es el principal componente del AEC. El cinamaldehído es un inhibidor activo del crecimiento de bacterias, levaduras y mohos filamentosos. Ejerce su acción mediante la inhibición de la actividad de las ATPasas, la biosíntesis de la pared celular y la alteración de la estructura e integridad



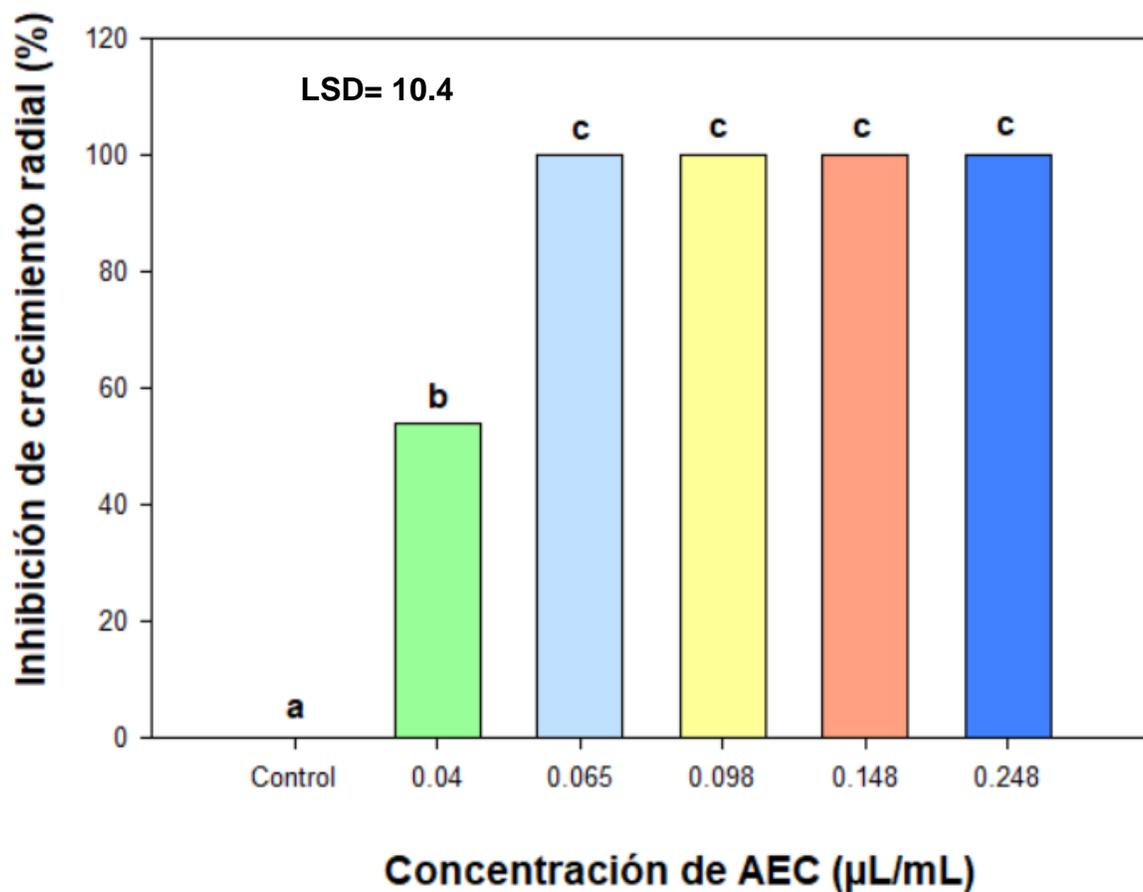
**Figura 6.** Obtención de la Concentración Mínima Inhibitoria de aceite esencial de limón mexicano contra *Botrytis cinerea*.



**Figura 7.** Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Botrytis cinerea* tratado con distintas concentraciones de aceite esencial de limón mexicano (AELM). Barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas con  $\alpha=0.05$ .



**Figura 8.** Obtención de la Concentración Mínima Inhibitoria de aceite esencial de cassia contra *Botrytis cinerea*.



**Figura 9.** Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Botrytis cinerea* tratado con distintas concentraciones de aceite esencial de cassia (AEC). Barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ).

de la membrana. Sus derivados poseen actividad antifúngica potencial contra varios aislados de hongos (Nazarro y col 2017); no obstante, otros estudios informaron que los componentes de los aceites esenciales podrían actuar de forma sinérgica o antagónica y dicha acción se debe principalmente a la interacción de los componentes que están presentes en los respectivos AE´s (Adams 2001; Stevic y col 2014). Tal es el caso del estudio reportado por Kočevski y col (2013) donde se mostró una actividad inhibitoria más fuerte por parte de AEC en comparación con cinamaldehído.

Por otra parte, el AELM mostró una CMI de 3.0  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , lo que es menor a lo reportado por Bosquez-Molina y col (2010) al aplicar este AE contra los hongos *Colletotrichum gloeosporioides* y *R. stolonifer*. Así mismo, Cai y col (2019) mostraron la actividad antifúngica del limoneno (pureza= 95%), al inhibir el desarrollo de *Zygosaccharomyces rouxii* a una concentración de 0.75  $\mu\text{L}/\text{mL}$  y actuar como fungicida a una concentración de 3.0  $\mu\text{L}/\text{mL}$ .

La actividad antifúngica de los aceites esenciales pudiera ser atribuida al mecanismo destructivo de los terpenos presentes en los aceites sobre las estructuras superficiales de los microorganismos como la alteración de la integridad y permeabilidad de la membrana celular, lo que puede causar daños irreversibles tanto en pared como en membrana (Brennan y col 2013). Además, se reporta que puede destruir las proteínas presentes en membrana plasmática e inhibir su síntesis (Gupta y col 2021).

Otro efecto que causa el limoneno es la citocinesis, afectando la reproducción de organismos fúngicos; además, se observó que el limoneno induce la acumulación de ERO´s en aislados de hongos y conduce a la muerte celular (Liu y col 2013). Así

mismo, se ha descubierto que el limoneno inhibe las enzimas intracelulares y extracelulares como la celulasa y la pectina metil esterasa (Marei y col 2012).

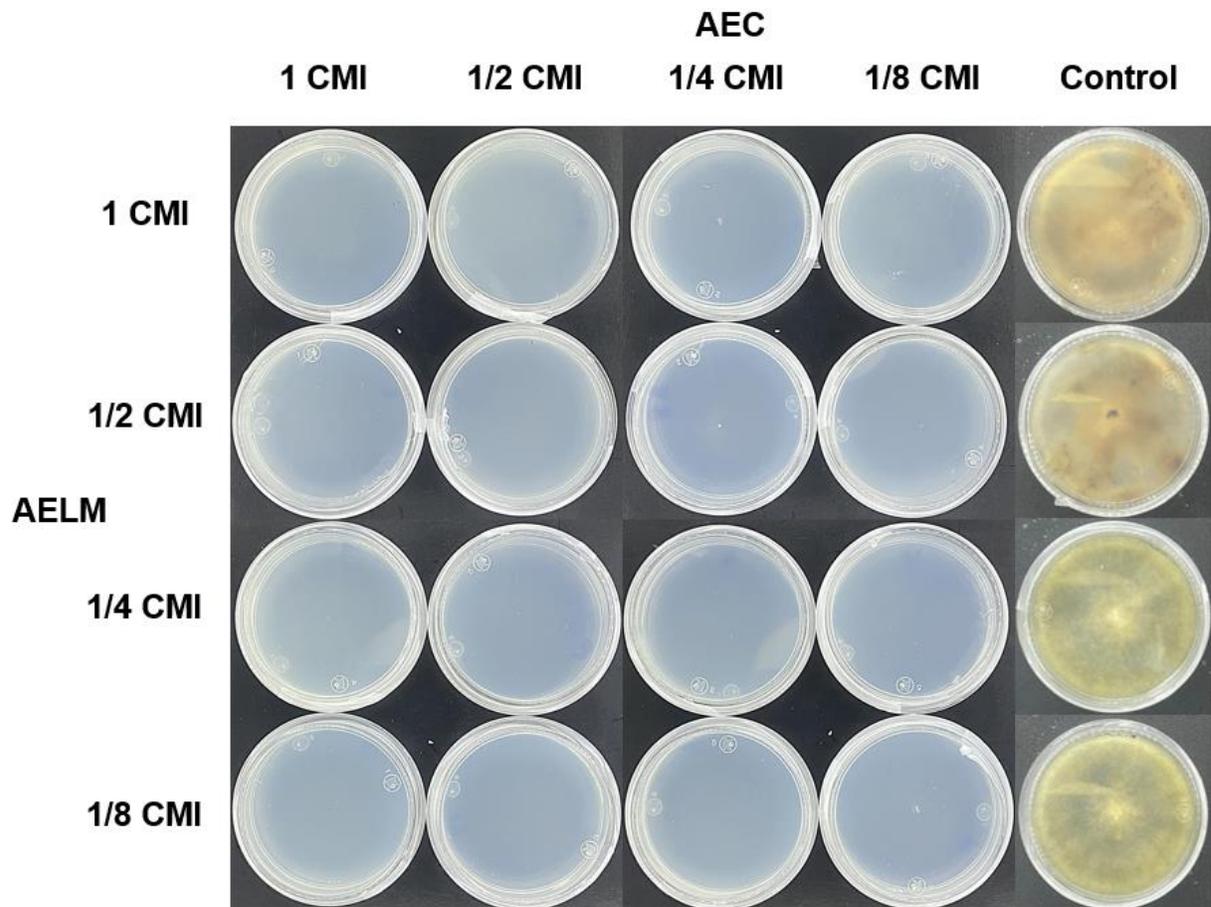
## 2. Evaluación del índice de concentración inhibitoria fraccional

A pesar de que todas las combinaciones de las fracciones de CMI de los aceites esenciales fueron efectivas, únicamente las mezclas iguales o menores a una reducción de 1/4 de cada AE presentan un efecto sinérgico (**Figura 10**). El valor ICIF menor fue presentado por parte de la mezcla 1/8 AELM - 1/8 AEC correspondiente a un valor CIF de 0.25, lo cual sugiere un efecto antifúngico sinérgico mostrando como resultado una disminución a 1/8 de la CMI de cada aceite al combinarlos.

Los efectos sinérgicos de la mezcla AELM y AEC contra un aislado *B. cinerea* no se han investigado previamente; sin embargo, existen otras investigaciones sobre sinergismo de AE's *in vitro*, tal es el caso del estudio reportado por Pekmezovic y col (2015) donde implementaron una mezcla 14:1 de aceite esencial de tomillo y cassia, respectivamente, con el fin de inhibir el desarrollo de *Aspergillus flavus* mostrando diferencia únicamente en el tiempo de aparición del efecto fungicida, lo cual es debido al sinergismo propiciado por las combinación de ambos aceites esenciales.

Otros investigadores han utilizado el ICIF para demostrar este tipo de efectos. Por ejemplo, Purkait y col (2020) evaluaron la eficacia antifúngica y el efecto sinérgico de los aceites esenciales de canela y clavo contra *Aspergillus niger*. El ICIF mostró un valor de 0.48, indicando un efecto sinérgico e inhibiendo completamente el desarrollo del hongo.

Así mismo Hlebova y col (2021) evaluaron la actividad antifúngica de 25 AE's y la



**Figura 10.** Inhibición del crecimiento radial micelial de *Botrytis cinerea* por aplicación de mezclas fraccionales de aceite esencial de cassia y limón mexicano.

posible actividad sinérgica de los AE´s más eficaces contra hongos del género *Aspergillus* (*fumigatus*, *flavus*, *terreus* y *niger*). El ensayo de tablero de ajedrez mostró que las combinaciones de AE´s de limoncillo y tomillo demostraron la actividad antifúngica sinérgica más potente (ICIF = 0.1875) contra *A. fumigatus*.

### **3. Inhibición de crecimiento radial micelial**

Las emulsiones EAELM, EAEC y EAECL presentaron un potente efecto antifúngico contra *B. cinerea* al igual que ALOE COAT y TBZ ya que inhibieron completamente la producción de micelio de este hongo en comparación con el control (**Cuadro 6**).

Es posible que los responsables del efecto antifúngico en las emulsiones fueron los AE´s encapsulados en ellas, debido a que previamente se ha reportado que el AELM inhibe el desarrollo de micelio en hongos como *Colletotrichum gloeosporioides* y *R. stolonifer*, mostrando un efecto fungicida para ambos microorganismos (Bosquez-Molina y col 2010; Kumar y Kudachikar 2018).

También el AEC ha sido probado previamente contra *B. cinerea* (Hou y col 2020) y otros hongos como *Aspergillus flavus* (Liu y col 2022). Es importante mencionar que los mecanismos de acción de estos aceites no están totalmente elucidados; sin embargo, se ha reportado que afectan estructuras celulares como membrana y pared celular dada la naturaleza de sus compuestos mayoritarios (Brennan y col 2013; Nazarro y col 2017; Xu y col 2018; Gupta y col 2021).

A pesar de que no se encontraron estudios en la literatura sobre la combinación de estos AE´s y su encapsulamiento en una emulsión, hay estudios donde han aplicado tratamientos similares que concuerdan con los resultados presentados en

**Cuadro 6.** Inhibición de crecimiento radial micelial y efecto fungicida / fungistático de los tratamientos TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAECL sobre *Botrytis cinerea*.

<b>Tratamiento</b>	<b>Inhibición de crecimiento radial micelial (%)</b>	<b>Efecto fungicida</b>	<b>Efecto fungistático</b>
<b>TBZ</b>	100 ± 0.0 <sup>a</sup>	X	---
<b>ALOE COAT</b>	100 ± 0.0 <sup>a</sup>	X	---
<b>EAELM</b>	100 ± 0.0 <sup>a</sup>	X	---
<b>EAEC</b>	100 ± 0.0 <sup>a</sup>	X	---
<b>EAECL</b>	100 ± 0.0 <sup>a</sup>	X	---

Los valores representan la media de seis réplicas. Letras diferentes indican diferencias significativas con  $P < 0.05$ .

este estudio, como el reporte de Oliveira-Filho y col (2021) donde evaluaron el efecto de una nanoemulsión de almidón de arrurruz, cristales de celulosa, CC y AE's de menta y hierba de limón de manera individual (emulsión O/W/O) evidenciando una notable actividad fungicida contra los hongos *R. stolonifer* y *B. cinerea* al inhibir completamente su desarrollo y atribuyéndole el efecto al componente mayoritario en menta (carvona) y a la sinergia entre los principales componentes (geraniol, linalool, neral y mirceno) del AE de hierba de limón.

Se ha reportado que el problema de la reducción sustancial de la eficacia de los AE's debido a la volatilidad alta se puede resolver mediante su emulsificación. La emulsificación de los AE's en agua aumenta la biodisponibilidad, reduce la interacción de los ingredientes y mejora la calidad y seguridad de los alimentos (Basak y Guha 2018).

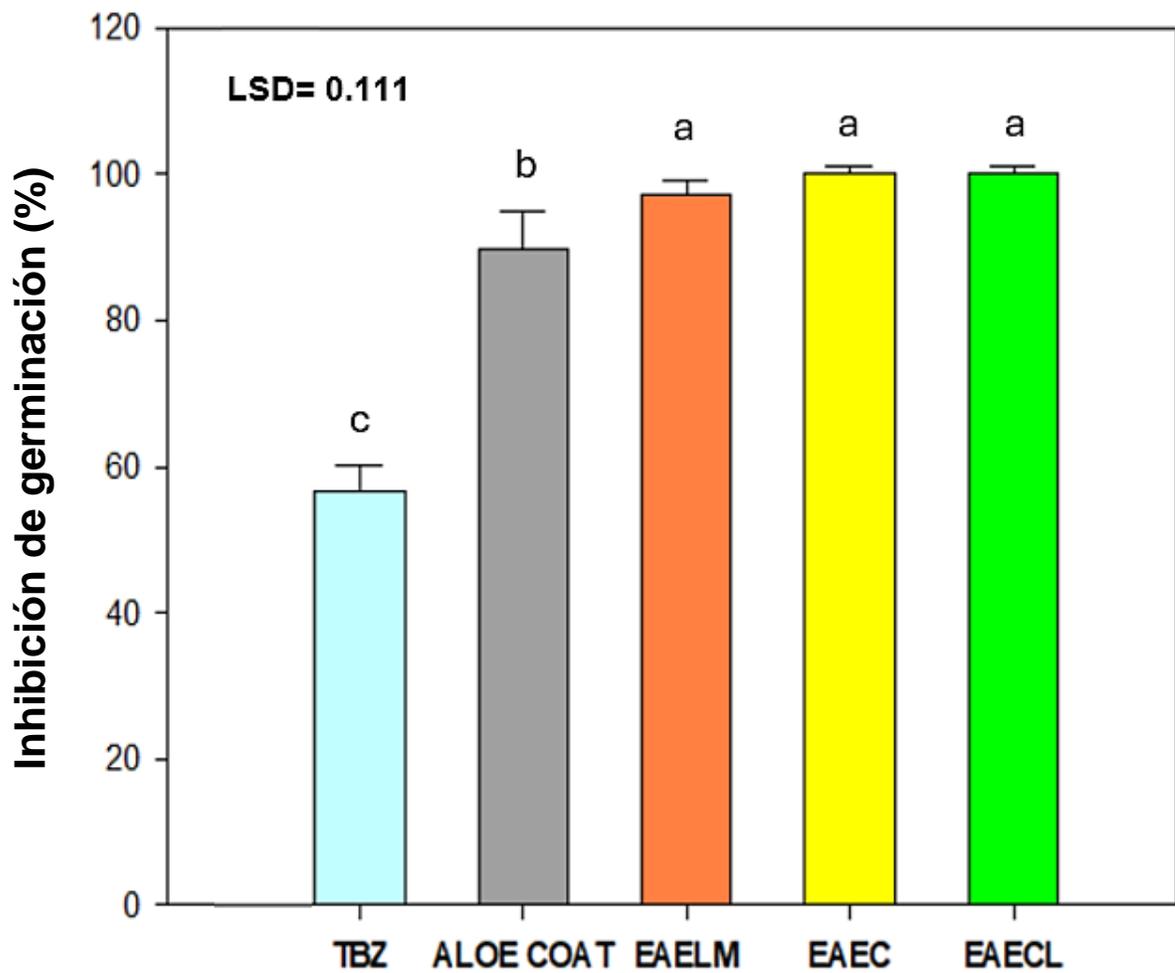
Ribes y col (2017) evaluaron la actividad antifúngica de nanoemulsiones de AE's de hoja de canela, limón y bergamota contra *A. niger*, usando aceite de girasol como matriz. La emulsión de AE de canela fue la más eficaz, inhibiendo 100% el crecimiento micelial, mientras que las emulsiones de limón y bergamota lograron una inhibición del 75%. Este efecto del AE de canela se atribuyó a su alto coeficiente de partición ( $\log P$  octanol-agua), el cual es variable según el aceite utilizado, cuanto más alto sea este valor la capacidad de disolver el aceite en la fase acuosa es más alta y por ende la liberación del aceite es más rápida, así mismo, durante períodos prolongados de tiempo, las emulsiones y nanoemulsiones, al garantizar una liberación sostenida, pueden prolongar significativamente la actividad antimicrobiana (Majeed y col 2016).

Se ha reportado que, para asegurar una liberación durante períodos prolongados, utilizar emulsiones y nanoemulsiones con matrices óptimas, podría garantizar una liberación sostenida y prolongar significativamente la actividad antimicrobiana de compuestos volátiles encapsulados en ellas (Majeed y col 2016).

#### **4. Inhibición de germinación de conidios**

Los tratamientos TBZ y ALOE COAT lograron inhibir la germinación un 56% y 88.67%, respectivamente. Por otro lado, las emulsiones EAELM, EAEC y EAECL inhibieron aproximadamente un 100% sin diferencia estadística entre ellas tras 7 horas de incubación a 20 °C (**Figura 11**). Contrario a los resultados en este trabajo, se ha demostrado que TBZ es efectivo en bajas concentraciones contra *B. cinerea*, y se ha reportado que el mecanismo de los fungicidas se basa en inactivar enzimas o proteínas que interfieren en procesos celulares fundamentales, no obstante, es sabido que los fitopatógenos tienen la capacidad de adquirir resistencia a fungicidas químicos como se demostró en este estudio (López-Aguilar 2019; Wei y col 2024).

Estos resultados concuerdan con los reportados por Ribes y col (2017) mediante el empleo nanoemulsiones de AE de hoja de canela y limón. La emulsión de hoja de canela logró inhibir por completo la germinación de esporas de *A. niger*; sin embargo, contrario a los resultados presentados en este estudio sobre AELM, la aplicación de la nanoemulsión de AE de limón contra *A. niger* a una concentración de 3 µg/g logró una inhibición parcial (46.7%) e inhibición total a 5.5 µg/g, lo cual puede ser debido a la diferencia en la matriz acarreadora que utilizaron para encapsular los AE's y al coeficiente de partición en dicha matriz.



**Figura 11.** Porcentaje de inhibición de germinación de esporas de *Botrytis cinerea* por efecto de los tratamientos TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAECCL. Barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas con  $\alpha=0.05$ .

Así mismo, Qi y col (2023) mostraron que es posible inhibir hasta un 90% la germinación de conidios de *Fusarium graminearum* al aplicar una emulsión cargada con AE de tomillo en concentraciones similares a las aplicadas en este estudio, atribuyendo este efecto a que el grupo hidroxilo del timol y la presencia de un sistema de electrones deslocalizados contribuyen a desestabilizar la membrana citoplasmática y reducir el gradiente de pH al actuar como un intercambiador de protones y en consecuencia, la fuerza motriz del protón colapsa y el agotamiento de la reserva de ATP conduce a la muerte celular.

Por su parte, Hu y col (2019) describieron una inhibición alta (90%) de la germinación en *Aspergillus niger*, *oryzae* y *ochraceus* por efecto de una emulsión de AE de canela. Es importante resaltar que el componente mayoritario es cinamaldehído al igual que en el AE de cassia atribuyéndole este resultado a la interacción con estructuras celulares importantes como pared y membrana celular.

## **5. Efecto fungicida/fungistático**

Al traspasar los discos de PDA tratados e inoculados a PDA fresco no tratado, no se observó crecimiento micelial del hongo *B. cinerea* en ninguna de los tratamientos (TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAEL), lo que evidenció que los tratamientos ejercieron un efecto fungicida al no permitir el desarrollo del hongo aun cuando se proporcionaron las condiciones óptimas (**Cuadro 6**). Según Sil y col (2020), estos resultados pueden deberse a que los AE's tienen el potencial de destruir estructuras fúngicas esenciales para el desarrollo. Además de los efectos fungicidas y fungistáticos, su mecanismo de acción varía en diferentes casos dependiendo del AE que se trate, el estado citotóxico de los AE's en sus entornos se debe a su capacidad

para alterar la pared y la formación celular, la estabilidad citoplasmática y el impacto del daño celular y el escape de macromoléculas.

Las propiedades lipofílicas de los AE's les permiten entrar a través de la pared celular y dañar la membrana citoplasmática al tiempo que alteran varias capas de ácidos grasos, polisacáridos y fosfolípidos, además de aumentar la permeabilidad. También pueden alterar la saturación y, por lo tanto, provocar un desequilibrio en la presión osmótica intracelular, que a su vez altera los orgánulos intracelulares, filtra el contenido citoplasmático y, a veces, las moléculas de retención de energía (ATP) y, en última instancia, altera la célula (Sil y col 2020).

Así mismo, Oliveira y col (2019) reportaron que la incorporación de AE de *Lippia sidoides* a una emulsión de carboximetilcelulosa fue eficiente en la reducción de la severidad de la antracnosis causada por *C. acutatum* (92.99%) y puede ser una alternativa potencial a los fungicidas sintéticos, ya que el AE provocó la degradación morfológica de las hifas del patógeno, lo que sugiere su acción sobre la pared celular del hongo y evidencia un efecto fungicida; no obstante, también probaron la incorporación de combinaciones dobles y triple de AE de *Lippia sidoides*, *Eucalyptus staigeriana* y *Pimenta pseudocaryophyllus*. Sin embargo, estas combinaciones no presentaron mejores resultados que únicamente incorporar AE de *Lippia sidoides*, contrario a los resultados obtenidos en este estudio donde el combinar los AE's de cassia y limón se redujo la dosis fungicida efectiva de ambos presentando un efecto sinérgico.

Por otro lado, Rafiee y col (2022) evaluaron la actividad antifúngica de nanoemulsiones de aceite esencial de denak formuladas mediante emulsificación

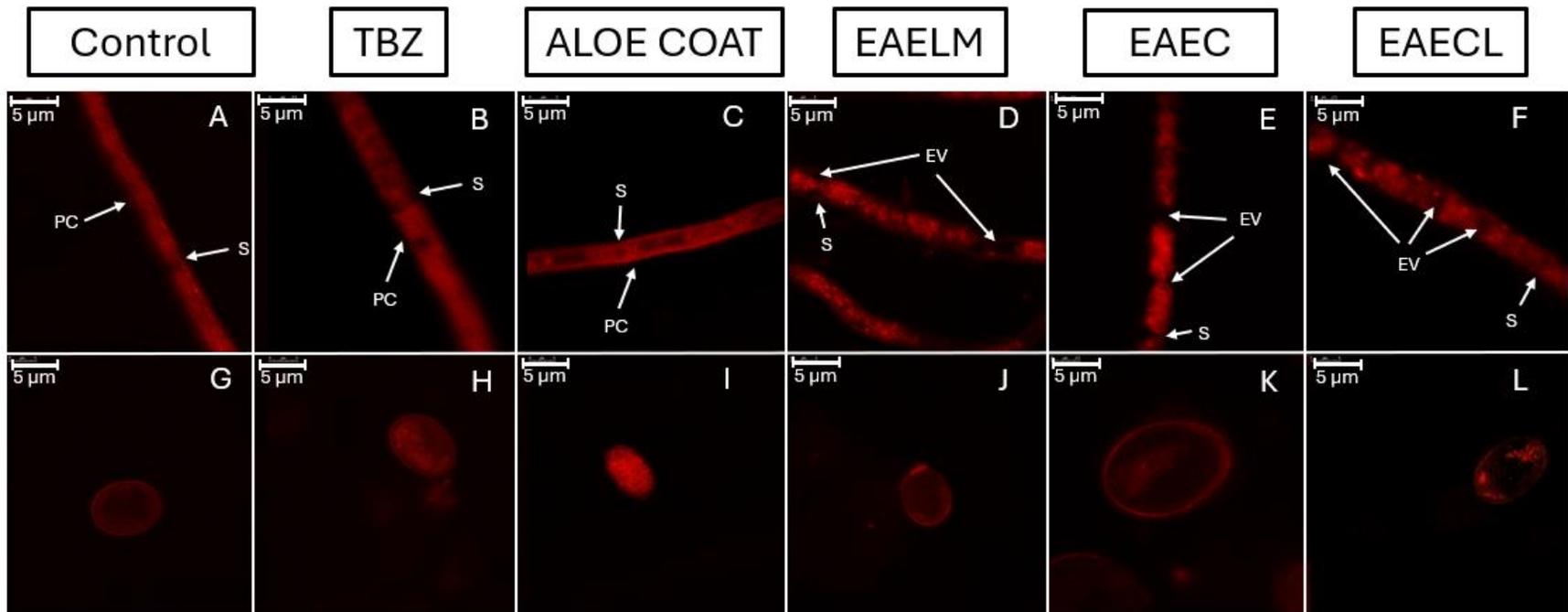
(O/W) ultrasónica sobre *Penicillium digitatum* y concluyeron que la aplicación de esta emulsión cargada con el aceite a una concentración igual o mayor a 0.5  $\mu\text{L}/\text{mL}$  presenta un efecto fungicida sobre *P. digitatum*, este efecto fue atribuido a los componentes principales del aceite esencial (timol y carvacrol).

## 6. Microscopia de fluorescencia

La **Figura 12** muestra imágenes de microscopía de fluorescencia confocal de micelio y esporas no tratados (control) y tratados con TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC o EAECL donde se puede observar el contraste en el efecto que causan estos tratamientos sobre las microestructuras de los hongos. Se observa que los tratamientos TBZ y ALOE COAT no expresan daños o diferencias visualmente considerables con respecto al control.

Por otro lado, las emulsiones EAELM, EAEC y EAECL muestran múltiples discontinuidades o interrupciones de la fluorescencia. Al haber utilizado un fluoróforo lipofílico con afinidad a la membrana se puede inferir que estas discontinuidades son propias de la membrana celular, por tanto, es posible que los aceites empleados en las emulsiones posean la capacidad de actuar sobre esta estructura formando poros y de esta manera causar la inhibición del desarrollo de *B. cinerea*. Cabe recalcar que la combinación fraccional de ambos aceites (EAECL) mostró el mismo comportamiento, demostrando el potencial sinérgico que poseen estos aceites esenciales al ser mezclados.

En cuestión del efecto en espora, este fue mucho menos notorio mostrando muchas menos interrupciones o poros en membrana y en concordancia con los resultados obtenidos de inhibición de germinación se podría deducir que el efecto en



**Figura 12.** Representación gráfica del daño en micelio (A-F) y espora (G-L) de *B. cinerea* por efecto de los tratamientos CONTROL, TBZ, ALOE COAT, Emulsión de aceite esencial de limón mexicano (EAELM), Emulsión de aceite esencial de cassia (EAEC) y emulsión de aceite esencial de cassia y limón, (EAECL) mediante microscopía de fluorescencia confocal. Las barras indica una referencia de 5  $\mu\text{m}$  de longitud, EV = espacios vacíos, S= septo, PC= pared celular.

espora es por la vía de inhibición total de la formación del tubo germinativo por inhibición de enzimas sintetizadoras de pared y membrana ya que en estudios previos se ha mostrado la inactivación de estas vías (Brennan y col 2013; Nazarro y col 2017; Gupta y col 2021).

Estos resultados concuerdan con Zhang y col (2022) que al aplicar una emulsión aceite en agua (O/W) de timol contra *B. cinerea* se observaron alteraciones morfológicas, la visualización por microscopía óptica mostró cambios morfológicos en micelio como células más pequeñas y más inclusiones dentro de ellas. Observaciones posteriores por microscopía electrónica de barrido mostraron que el tratamiento condujo a una contracción irregular y a la pérdida de la forma micelial, lo cual resultó en la descomposición y colapso de las células miceliales, así mismo, se corroboró la muerte celular mediante fluorescencia con yoduro de propidio evidenciando una respuesta dependiente de la dosis.

Por otro lado, Qi y col (2023) evaluaron el efecto antifúngico del aceite esencial de tomillo y sus principales constituyentes en emulsión sobre esporas de *Fusarium graminearum* y observaron mediante microscopía de barrido láser confocal y electrónica de barrido señales de daño en la estructura de la pared celular ya que había presencia de rasgaduras como indicio de descomposición demostrando un mejor efecto sobre el daño microestructural por parte del AE; esto puede explicarse por la sinergia que puede existir en el aceite esencial dado que es una mezcla de diferentes sustancias.

Así mismo, el estudio de Oliveira y col (2019) demostró la actividad antifúngica de AE's de *Eucalyptus staigeriana*, *Lippia sidoides* y *Pimenta pseudocaryophyllus*

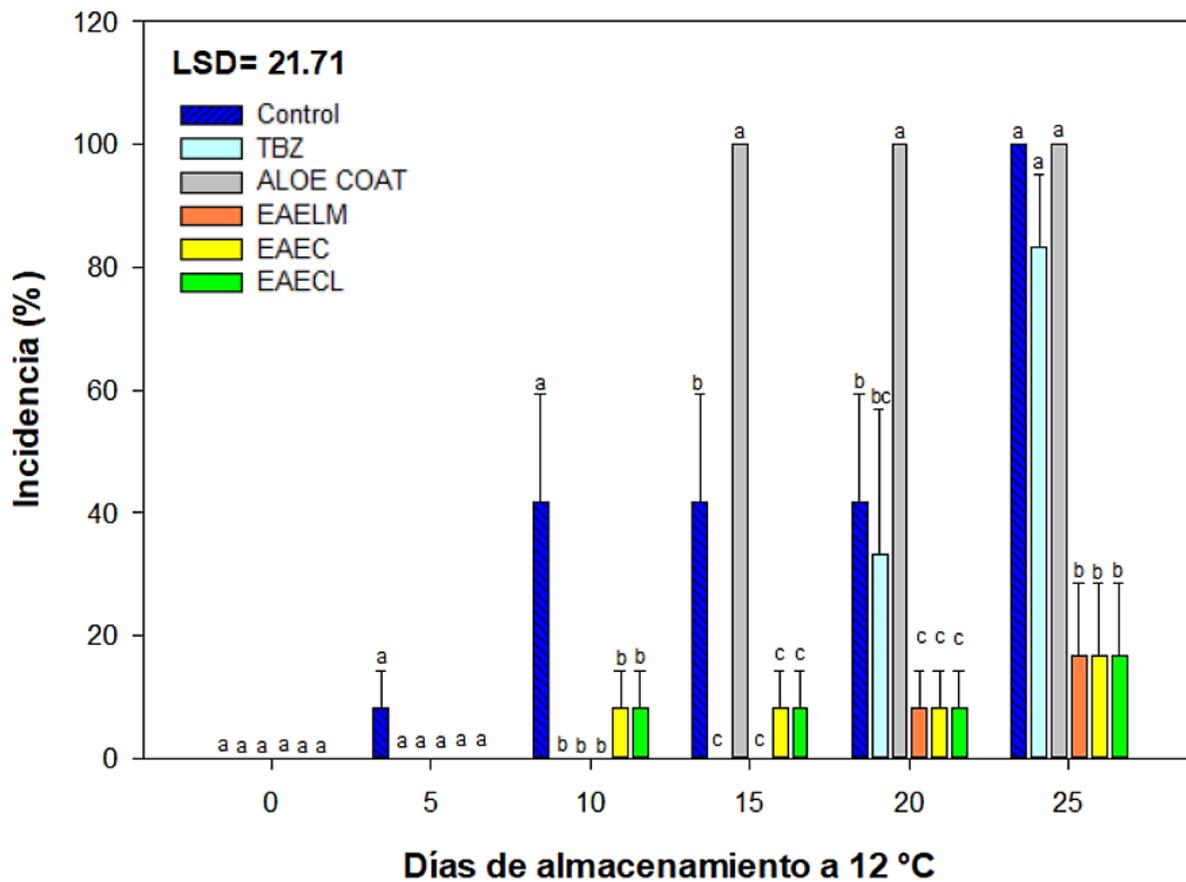
asociados a la carboximetilcelulosa frente a *Colletotrichum acutatum* en fresa, donde se observó una mayor actividad por parte del tratamiento que contenía AE de *Lippia sodoides* dado que su componente principal es el timol al igual que en los dos estudios anteriores, en este caso se llevó a cabo microscopía electrónica de barrido sobre el micelio mostrando un notable daño al observarse estructuras rizadas con protuberancias finas pertenecientes a los fenómenos de descomposición y colapso celular, estas señales de daño concuerdan con las disrupciones membranales observadas en este estudio.

## **B. IN VIVO**

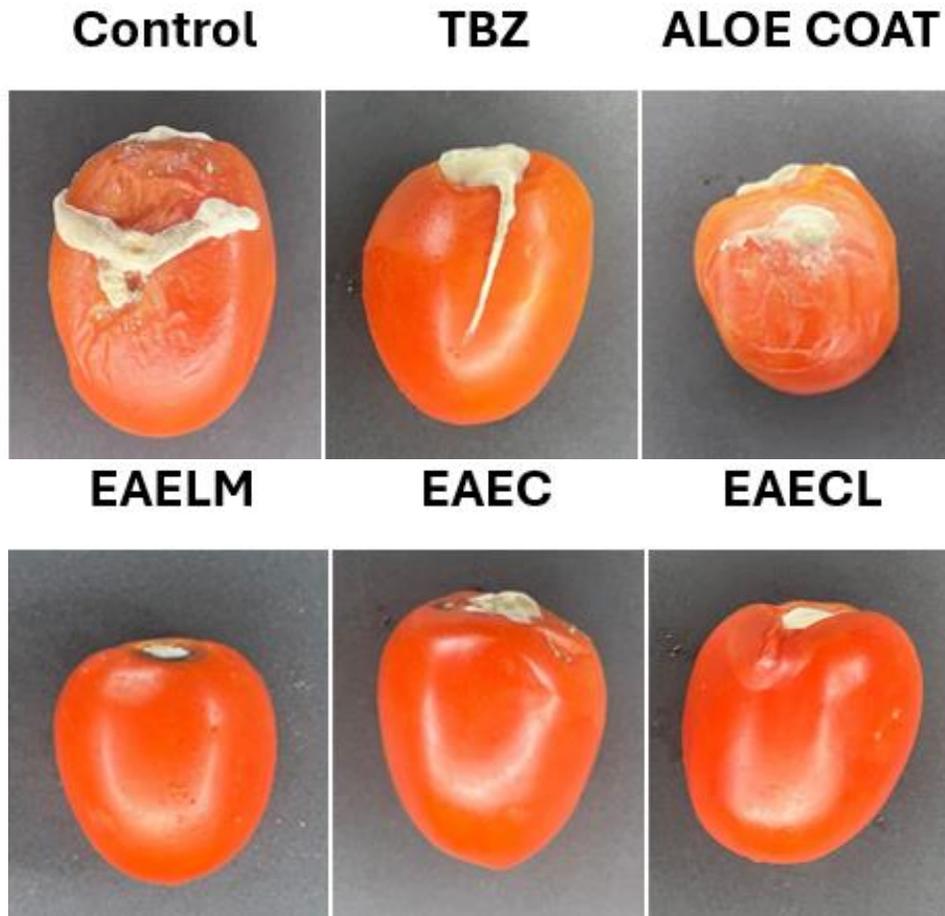
### **1. Incidencia**

El ensayo antifúngico *in vivo* mostró que la incidencia de moho gris en frutos de tomate se vio afectada por los factores tratamiento y tiempo de almacenamiento ( $P < 0.05$ ) (**Figura 13**). Los síntomas observados en los frutos incluyeron manchas redondas de color claro que se volvieron opacas, conocidas como manchas fantasmas. Estas manchas mostraron una consistencia acuosa y tenían micelio blanco o grisáceo. A medida que la patología avanzaba, el tejido presentaba decoloraciones que iban del rojo al amarillo-anaranjado, además de áreas necróticas con una mayor cantidad de micelio gris (**Figura 14**).

Los frutos permanecieron libres de síntomas durante los primeros 5 días con excepción de los pertenecientes al grupo control (8.3%); sin embargo, no se demostró diferencia estadística hasta el día 10 donde el control presentó 41.6% de incidencia mientras que las emulsiones EAEC y EAELM mostraron un 8.3%. TBZ, ALOE COAT y EAELM



**Figura 13.** Efecto de los tratamientos control, TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAECCL sobre la incidencia de moho gris en tomate almacenado a 12 °C por 25 días. Las barras verticales en las columnas representan la desviación estándar de las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos por día de almacenamiento ( $P < 0.05$ ).



**Figura 14.** Fotografías de severidad de moho gris causada por *Botrytis cinerea* en frutos de tomate tratados con TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAECL durante un periodo de almacenamiento de 25 días a 12 °C.

mantuvieron una incidencia nula y sin mostrar diferencia estadística hasta el día 15 donde el tratamiento control mantuvo su comportamiento y ALOE COAT mostró un importante aumento en la incidencia de moho gris de 0% a 100% mientras que TBZ, EAELM, EAEC y EAECL no mostraron cambios significativos.

Para el día 20 los tratamientos control, ALOE COAT, EAEC y EAECL no presentaron cambios, por otro lado, TBZ inició a perder efecto al presentar un 33% de síntomas de moho gris, este aumento progresivo de incidencia de moho gris en los frutos tratados con TBZ se puede explicar por la resistencia que pueden obtener los microorganismos a través del tiempo tal como lo describen López-Velázquez y col (2022) en el hongo *C. gloeosporioides*. Los autores mencionan que TBZ tiene un efecto dependiente de la dosis que aumenta conforme la frecuencia con la que este es usado.

A su vez los frutos tratados con la EAELM también comenzaron a presentar síntomas sin mostrar diferencia con EAEC y EAECL. Para el día 25, el control y los frutos tratados con el recubrimiento comercial ALOE COAT presentaron 100% de incidencia de síntomas sin mostrar diferencias con el TBZ (83%), por su parte las emulsiones mostraron un mejor efecto inhibitor de moho gris al presentar un 16.6% de incidencia.

Con respecto a las emulsiones enriquecidas con AE´s se observó una disminución del efecto fungicida en *B. cinerea* conforme el tiempo de almacenamiento transcurrió, lo cual coincide con reportes en diversos frutos a los que se les aplicaron diferentes tipos de emulsiones de AE como en tomate cherry (Robledo y col 2018), pepino (Ziedan y col 2022) y fresa (Javanmardi y col 2023). Esto puede deberse al carácter antifúngico de los AE´s de cassia, limón mexicano o bien a la combinación de estos

debido a que como previamente se ha mencionado estos aceites tienen la capacidad de dañar estructuras fúngicas esenciales para el desarrollo de los hongos como *B. cinerea*.

Resultados similares fueron reportados por Yang y col (2021) en mandarina Nanfeng (*Citrus reticulata*) al aplicar una nanoemulsión que contenía cinamaldehído, eugenol y carvacrol contra *Penicillium digitatum* debido a que se retrasó la aparición de síntomas hasta el día 20 de almacenamiento, los autores mencionan que este efecto antifúngico podría deberse a que estos compuestos aromáticos se encuentran en una alta proporción en aceites esenciales como canela, cassia, tomillo y orégano inhibieron la germinación de esporas y aumentaron la permeabilidad de las membranas celulares que facilitan la fuga del contenido citoplasmático y afectan el crecimiento y desarrollo normal de los micelios fúngicos reduciendo así la incidencia de los síntomas provocados por *Penicillium*.

Así mismo, Zhang y col (2022) demostraron que una emulsión de nanotimol al 2% es capaz de inhibir *B. cinerea* en tomate cherry en un 73%, efecto inferior al demostrado en este estudio. Señalaron que el aumentar la dosis de timol ablandaba los frutos. Sin embargo, justificaron la inhibición parcial por efecto de lesión oxidativa, muerte celular y daños microestructurales. Además, destacaron que la reducción de las partículas y el encapsulamiento en matrices no solo afecta el desarrollo de fitopatógenos, sino que también reduce la fitotoxicidad al evitar aumentar la dosis.

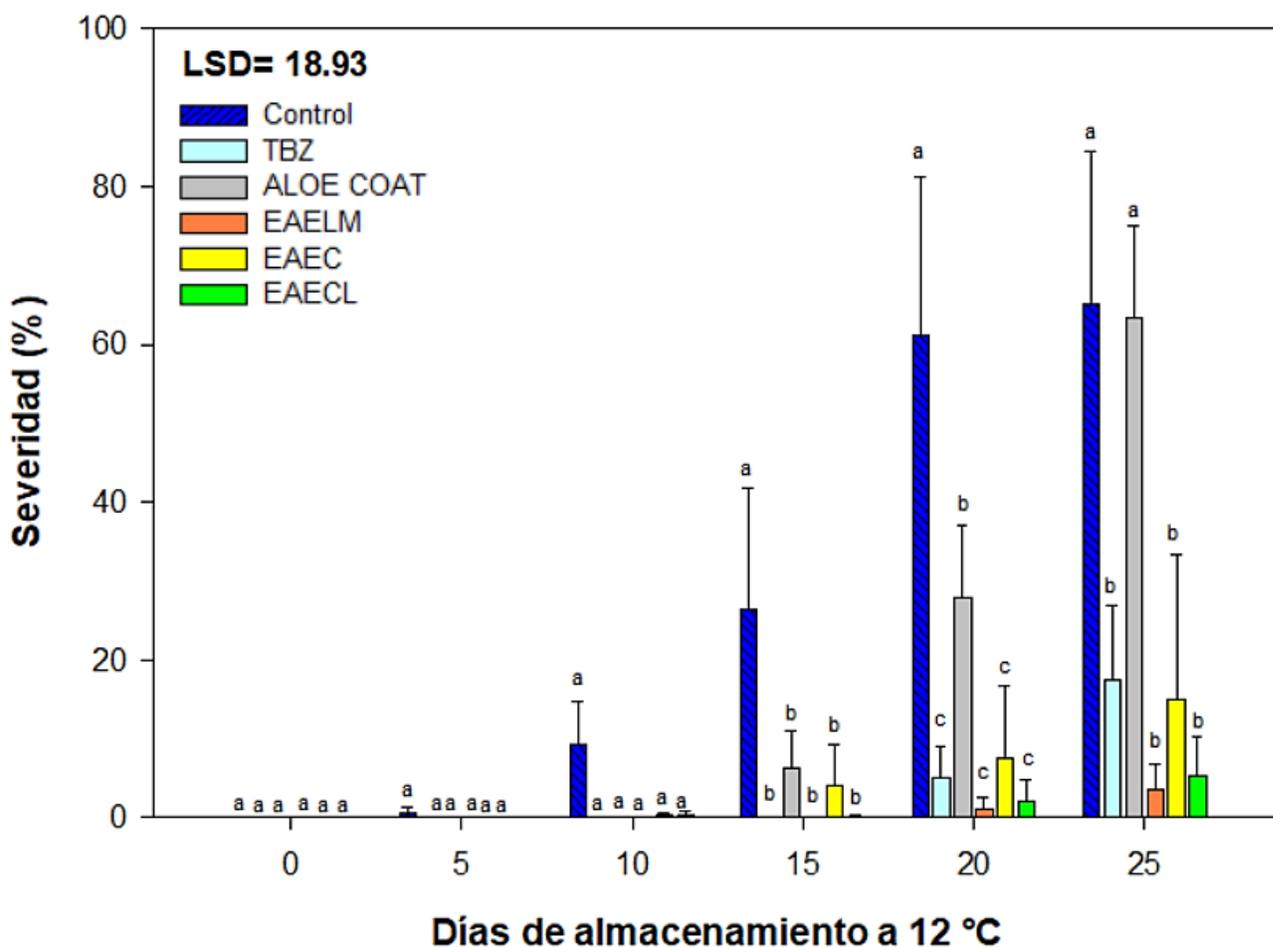
## **2. Severidad**

Los resultados de severidad de moho gris ocasionado por *B. cinerea* en frutos de tomate tratados con TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAELCL durante su

almacenamiento a 12 °C por 25 días se ilustran en la **Figura 15**. Los datos obtenidos mostraron una tendencia al aumento en la severidad de los síntomas de moho gris durante el almacenamiento. Para el día 5 el control mostró avances no significativos en la severidad y para el día 10 días de almacenamiento la severidad en de los frutos control continuó aumentando, también TBZ y EAEC mostraron un aumento no significativo en la severidad, no fue hasta el día 15 donde el control presentó diferencia estadística con el resto de los tratamientos. A partir del día 20 el control mostró un porcentaje de síntomas superior al 60% siendo el tratamiento más afectado seguido por ALOE COAT con un 27% mientras que TBZ, EAELM, EAEC y EAECCL no mostraron diferencias manteniéndose por debajo del 10%. Para el día 25, la tendencia y diferencias se mantuvieron, siendo los tratamientos EAELM, EAEC, EAECCL y TBZ los más efectivos, con apropiadamente un 20% de daño.

Los frutos que fueron tratados con las emulsiones adicionadas con aceites esenciales mostraron una tendencia a reducir la severidad de moho gris durante el almacenamiento, esto puede ser debido a que los AE´s poseen propiedades antifúngicas efectivas que tienen la facultad de inhibir el desarrollo de microorganismos en matrices alimentarias tras su aplicación. Esto concuerda con Noumegna-Kamsu y col (2023) donde aplicaron una nanoemulsión con AE de Masep (*Ocimum gratissimum* L.) contra los hongos *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora infestans* y *Alternaria solani* en frutos de tomate, se observó que la aplicación de la emulsión redujo el diámetro de necrosis en un 100%, 100% y 71,81%, respectivamente.

Así mismo se ha reportado el uso de otras nuevas matrices para la encapsulación de AE´s con el objetivo de combatir las fitopatologías provocadas por hongos con



**Figura 15.** Efecto de los tratamientos control, TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAECCL sobre la severidad de moho gris en tomate almacenado a 12 °C por 25 días. Las barras verticales en las columnas representan la desviación estándar de las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos por día de almacenamiento ( $P < 0.05$ ).

efectos en cuestión de reducción de la severidad de los daños, tal es el caso de Sadat-Razavi y col (2022) donde implementaron el uso de celulosa de origen bacteriano y gelatina de pescado como matrices encapsulantes para los aceites esenciales de canela, zataria y satureja para inhibir el desarrollo de *Penicillium expansum* y *B. cinerea* en frutos de manzana. En dicho estudio se demostró la actividad inhibitoria más efectiva por la emulsión ternaria de celulosa-gelatina- AE de canela frenando la propagación de lesiones en las manzanas durante 21 días, este efecto se le atribuyó mayoritariamente al cinamaldehído.

También se ha reportado que la implementación de extractos naturales en emulsiones puede exhibir efectos antifúngicos reduciendo la severidad de las fitopatologías en frutos de tomate. Por ejemplo, Yusof y col (2021) aplicaron emulsiones de extracto de hojas de *Vernonia amygdalina* para el control de moho gris en tomate, donde se mostró una actividad antifúngica del 100% tras 12 días de haber inoculado los frutos atribuyéndole los resultados a los constituyentes principales del extracto: escualeno (16.92%), fitol (15.05%), triacontano (11.31%), heptacosano (7.14%) y neofitadieno (6.28 %) (Yusoff y col 2020).

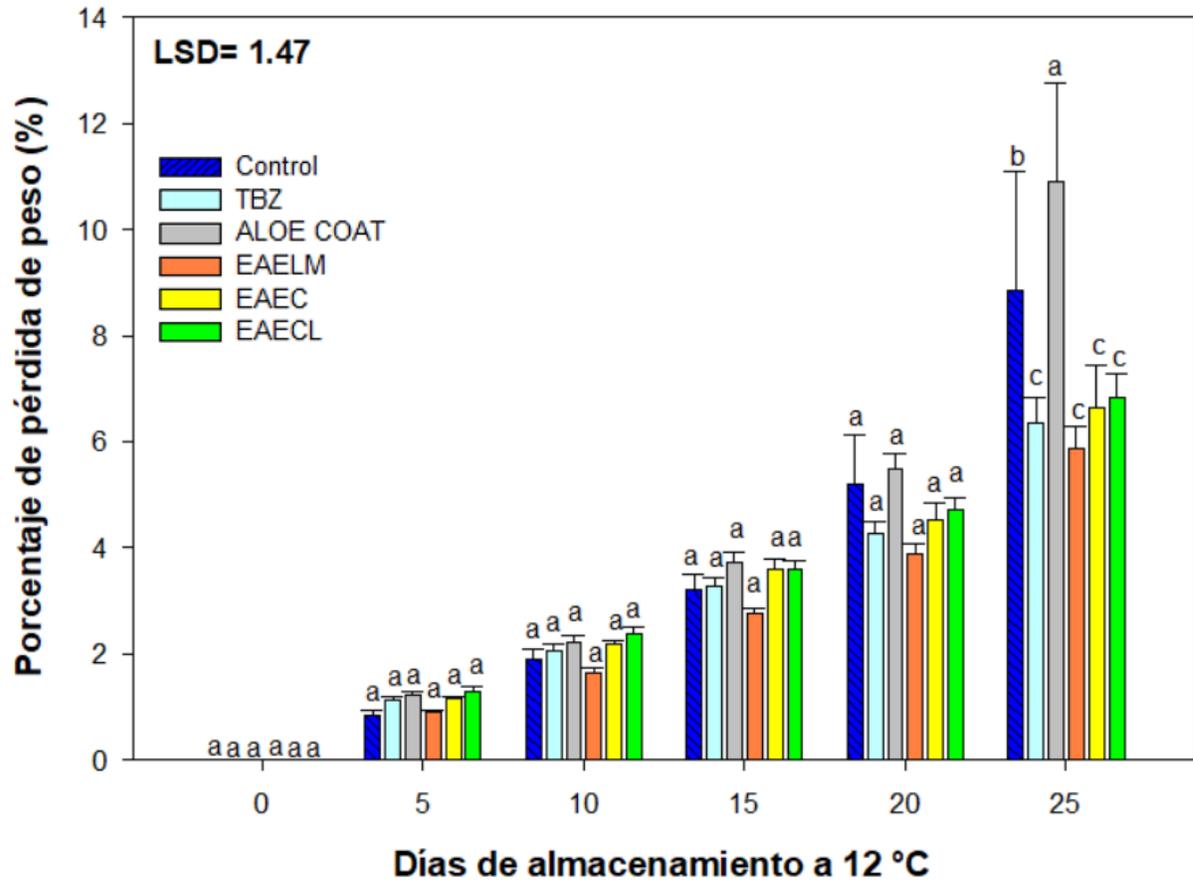
Otros estudios como el de López-Velázquez y col (2024) mencionaron que la aplicación de un recubrimiento de CC + AE de tomillo presentó una fuerte actividad antifúngica al disminuir la severidad de moho gris en frutos de pimiento verde, si bien este efecto en su mayoría fue atribuido al efecto fungicida del AE de tomillo también se mostró una disminución en la severidad por la aplicación de solo CC aunque menos significativa, este efecto de la CC fue atribuido a que la aplicación de este componente

como recubrimiento es capaz de retrasar la maduración causando un efecto antifúngico indirecto.

### 3. Porcentaje de pérdida de peso

La **Figura 16** ilustra el comportamiento de pérdida de peso de los frutos de tomate. El tratamiento ALOE COAT, presentó la menor retención de peso seguido del grupo control, esto resalta la importancia fundamental de implementar medidas de control adecuadas para mitigar el impacto negativo de la pérdida de agua y la incidencia *B. cinerea* en la calidad del tomate.

La ausencia de tratamiento provoca una descomposición acelerada de los frutos, con una pérdida de peso significativa y una calidad comprometida, aun así, la aplicación de recubrimientos no asegura que se pueda conservar con éxito el peso de los frutos, este efecto depende del tratamiento a aplicar, dado que los frutos tratados con ALOE COAT presentaron la menor retención de peso al final del almacenamiento. Este hallazgo sugiere que, si bien una de las intenciones de aplicar este recubrimiento comercial es un efecto positivo en la retención de peso, su eficacia es menor que para el control, en contraste, los tratamientos TBZ, EAELM, EAEC y EAEL se posicionan como los más efectivos en el retraso de la pérdida de peso de tomate, evidenciando una retención significativamente mayor en comparación con los demás grupos en el día 25. Este resultado sugiere que estos tratamientos son capaces de retener el peso de los frutos al disminuir el impacto del moho gris de una manera eficiente como se mostró en los resultados de incidencia y severidad (**Figuras 13 y 15**); además de esto, las emulsiones al contener una considerable proporción de CC en la matriz pueden



**Figura 16.** Efecto de los tratamientos control, TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAECCL sobre la pérdida de peso de tomate inoculado con *B. cinerea* almacenado a 12 °C por 25 días. Las barras verticales en las columnas representan la desviación estándar de las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos por día de almacenamiento ( $P < 0.05$ ).

disminuir la liberación de agua del interior del fruto y como consecuencia reducir la pérdida de peso.

Es relevante mencionar que, aunque las tres emulsiones y TBZ muestran una retención de peso similar sin diferencias estadísticamente significativas, lo que sugiere que su impacto en este parámetro de calidad es comparable, las emulsiones tienen la ventaja de ser opciones seguras tanto para el medio ambiente como para la salud del consumidor.

Los resultados presentados concuerdan con los obtenidos por Fitch-Vargas y col (2019) que tras someter tomates a un recubrimiento de CC mostró una mayor retención del peso tras 20 días de almacenamiento comparado con el control, después de esto no se mostraron diferencias estadísticas significativas, en comparación en este estudio, se mostró una diferencia en la pérdida de peso hacia los 25 días, esto puede ser debido a que los recubrimientos aplicados además de CC contenían AV el cual se ha reportado que tiene la capacidad de formar una barrera polimérica que reduce el contacto con gases que aceleran la maduración aportando al retraso en la pérdida de peso.

Así mismo, el estudio de López-Velázquez y col (2024) describe la aplicación de un tratamiento de CC con AE de tomillo en pimiento morrón con la finalidad de inhibir el desarrollo de *B. cinerea*, donde se demostró que la aplicación de este recubrimiento tuvo un efecto positivo al retrasar la pérdida de peso, estos resultados son comparables a los obtenidos en este estudio debido a la alta proporción de CC en las emulsiones así como la inclusión de AE, por lo que el efecto puede ser atribuible a

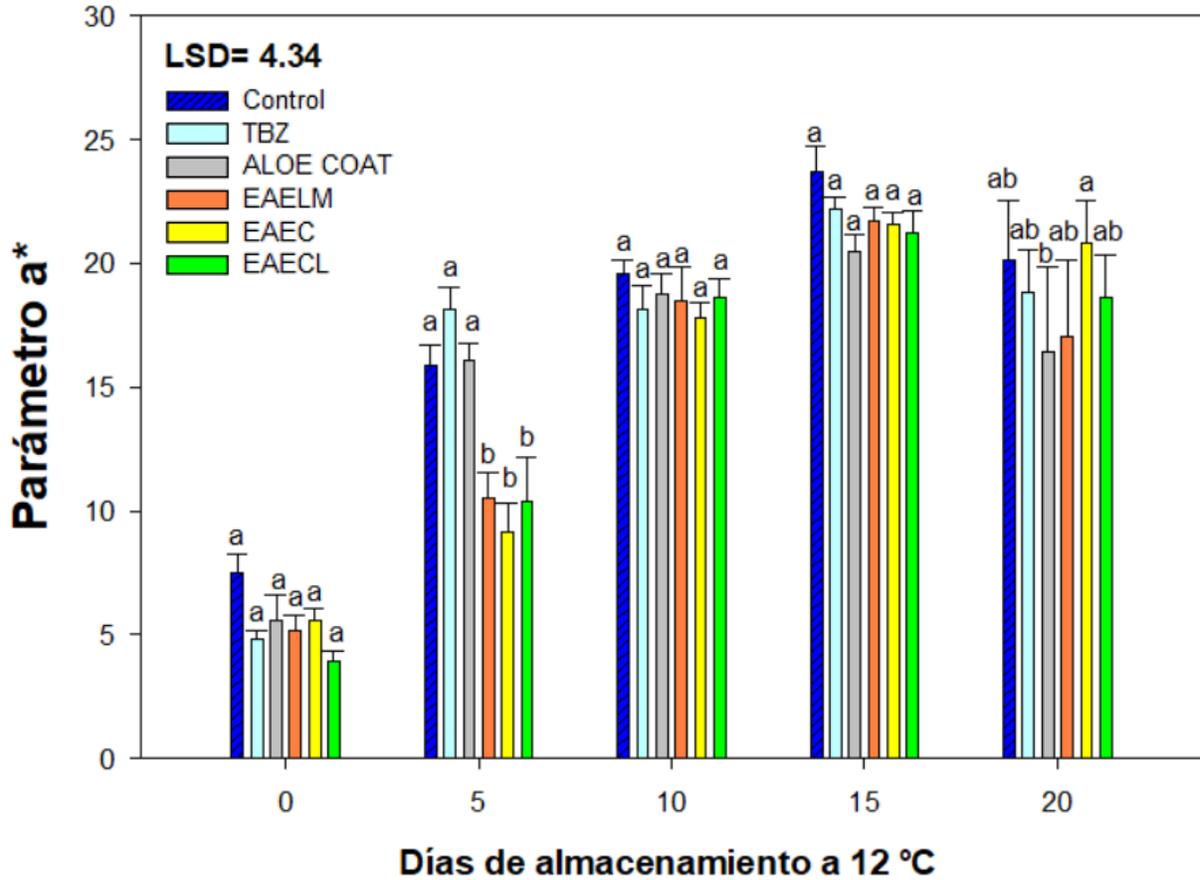
estos componentes debido a la capacidad de los componentes no polares que presentan la propiedad de contener el vapor de agua dentro del fruto disminuyendo su transpiración.

También concuerda con el reporte de Gutiérrez-Pacheco y col (2020) quienes observaron un retraso en la pérdida de peso en frutos de pepino inoculados con *Alternaria alternata* y tratados con una emulsión basada en la combinación de quitosano, CC y AE de orégano y se lo atribuyeron a la polaridad de CC que tiene la capacidad de disminuir el egreso de agua del fruto así como a la capacidad del AE de orégano para retrasar la incidencia de fitopatógenos, disminuyendo así el impacto sobre los tejidos y por tanto retrasando la pérdida de la calidad.

#### **4. Color**

La **Figura 17** muestra el efecto de diferentes tratamientos sobre el parámetro  $a^*$  durante el almacenamiento de tomates a 12 °C, observándose un incremento en todos los tratamientos conforme avanzaron los días de almacenamiento. Inicialmente todos los tratamientos presentaron valores cercanos a 6, indicando una coloración ligeramente roja. Para el día 5, los valores aumentaron entre 8 y 10 unidades para control, TBZ y ALOE COAT que presentaron promedios similares sin mostrar diferencia estadística, mientras que las emulsiones EAELM, EAEC y EAELC mostraron valores 5 unidades más bajos.

A los 10 y 15 días, no se mostraron diferencias significativas en comparación con el control y esta tendencia se mantuvo hasta el final del almacenamiento. Estos resultados sugieren que las emulsiones son eficaces para retrasar el enrojecimiento

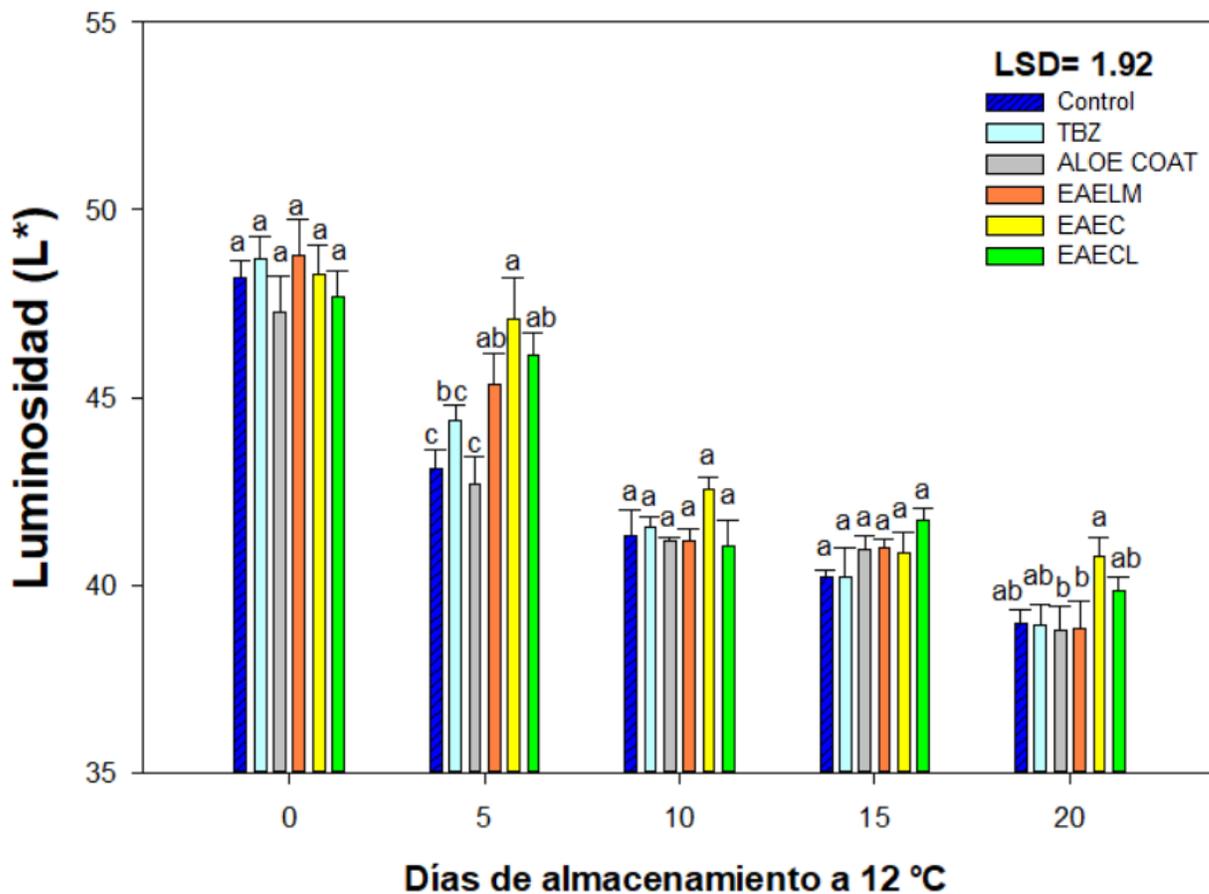


**Figura 17.** Efecto Los tratamientos control, TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAEL sobre el color (parámetro a) de tomate inoculado con *B. cinerea* almacenado a 12 °C por 20 días. Las barras verticales en las columnas representan la desviación estándar de las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos por día de almacenamiento ( $P < 0.05$ ).

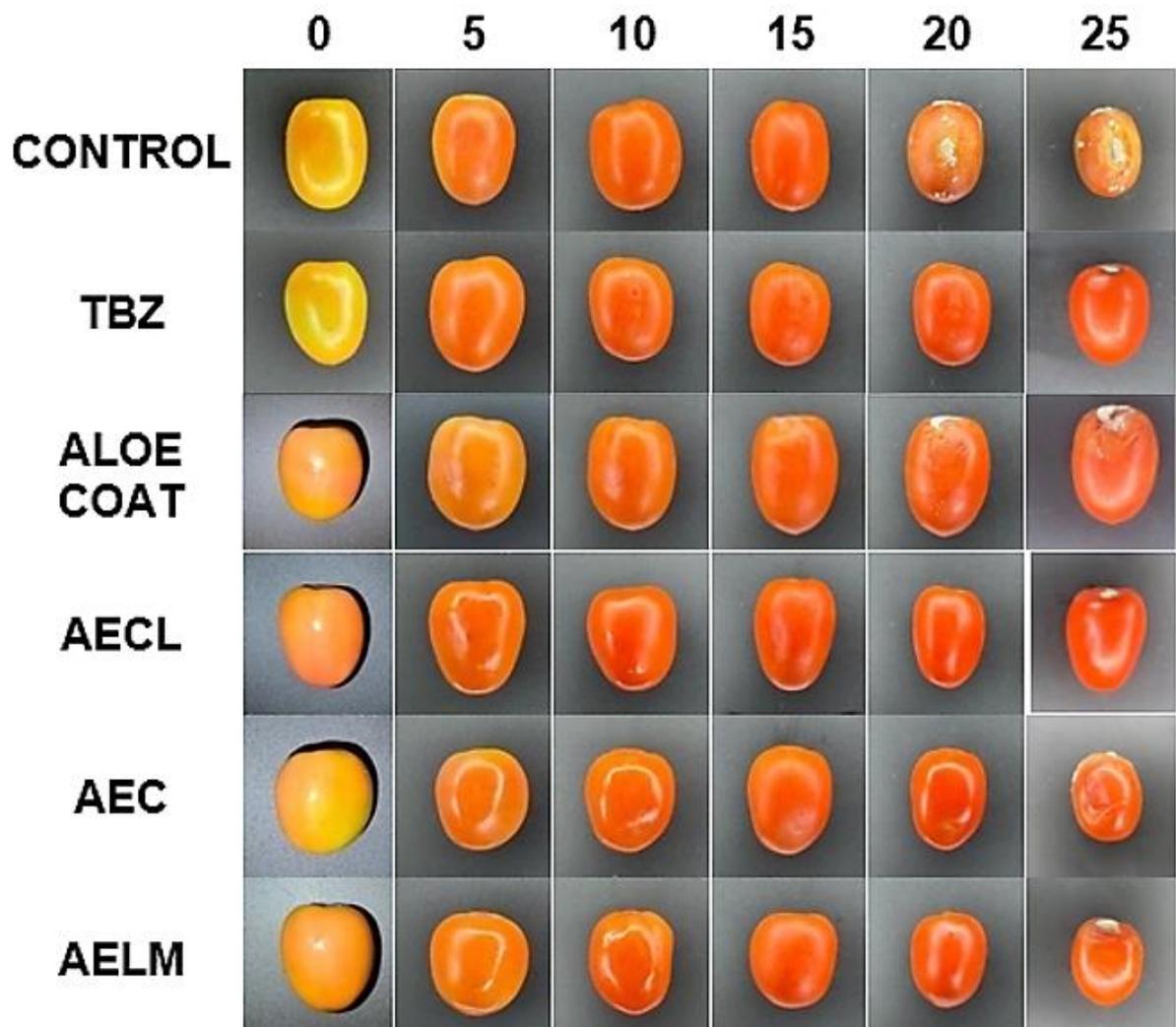
por al menos 5 días, este comportamiento pudo deberse a la proporción de gel de AV en las emulsiones, ya que estas solo contenían un 30% de AV, la capacidad para reducir el contacto con los gases disminuyó, por tanto, el retraso del enrojecimiento no se observó de una forma contrastante permitiendo al fruto la síntesis de pigmentos de una manera normal después de 5 días de almacenamiento.

Así mismo, el parámetro de luminosidad ( $L^*$ ) mostró un comportamiento inverso al parámetro  $a^*$  (**Figura 18**). Todos los tratamientos mostraron una luminosidad similar en el día 0 sin diferencia con el control, esta comportamiento se mantuvo durante el almacenamiento salvo por el día 5, donde las emulsiones mostraron una mayor capacidad para mantener la luminosidad en la superficie de los frutos de tomate en comparación con los grupos control y ALOE COAT, no obstante, el resto del almacenamiento esta tendencia no se mantuvo, esto pudo ser debido a la propiedad intrínseca del color rojo de mantener cierta luminosidad interfiriendo con el contraste de brillo que aportan las emulsiones con diferencia al resto de los tratamientos (**Figura 19**).

Estos resultados contrastan con el estudio de Das y col (2020) donde reportaron la aplicación en tomate de un recubrimiento basado en una nanoemulsión de AE de *Citrus sinensis* encapsulada en alginato de sodio, el efecto sobre el parámetro  $a^*$  en tomate fue más contrastante entre los frutos tratados y no tratados mostrando diferencias significativas, no obstante, los frutos recubiertos mantuvieron valores similares a los presentados en este estudio ( $\sim 20$ ), este comportamiento pudo deberse a la diferencia en la temperatura de almacenamiento (22 °C).



**Figura 18.** Efecto de los tratamientos control, TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAEL sobre la luminosidad de tomate inoculado con *B. cinerea* almacenado a 12 °C por 20 días. Las barras verticales en las columnas representan la desviación estándar de las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos por día de almacenamiento ( $P < 0.05$ ).



**Figura 19.** Efecto de los diferentes tratamientos sobre la luminosidad ( $L^*$ ) y el enrojecimiento ( $a^*$ ) en tomate inoculado con *B. cinerea* almacenado a 12 °C por 20 días.

Por otro lado, la variación en luminosidad únicamente se mostró en el día 1 de almacenamiento a diferencia de este estudio, esto se puede explicar por la inclusión de cera de carnauba presente en los tratamientos EAELM, EAEC y EAECL, ya que previamente se ha reportado que este componente es capaz de aumentar el brillo en las matrices alimentarias en las que es aplicado.

A consecuencia del avance en la maduración, el aumento en las síntesis de licopeno y degradación de la clorofila es el fenómeno principal y responsable de la coloración roja del tomate. Un estudio sobre el recubrimiento de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) incorporado con una nanoemulsión de AE de hoja de betel de Piper en tomate mostró resultados sobre el aumento en la síntesis de licopeno al recubrir estos frutos, demostrando que al utilizar dicho recubrimiento la síntesis del licopeno se retrasó tras 16 días con una diferencia de  $\sim 5 \mu\text{g/g}$  con el control, a pesar de no haber evaluado los parámetros de color convencionales de la escala CIELAB los autores mencionan que este efecto era visualmente apreciable (Poovai y col 2023).

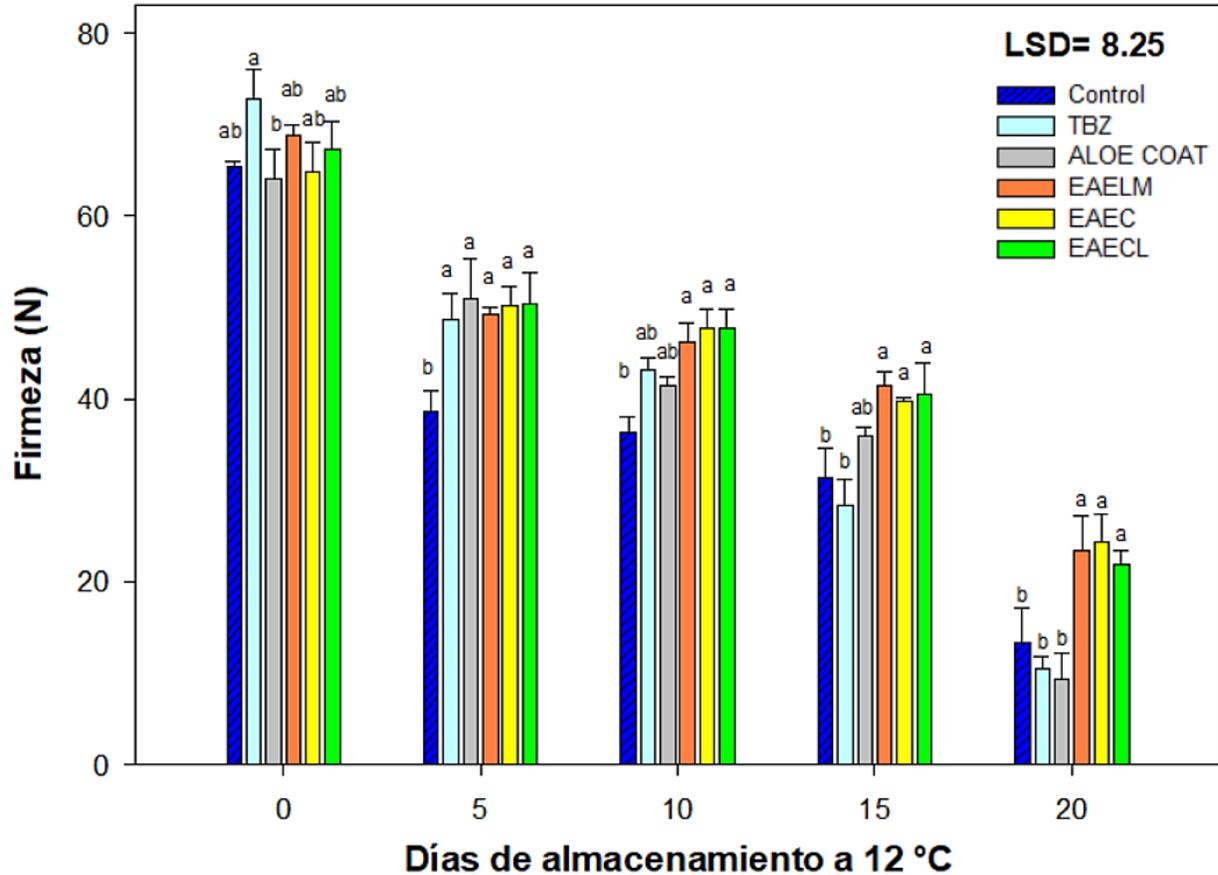
Por otra parte, Farooq y col (2023) evaluaron el potencial del recubrimiento a base de gel de AV y quitosano para prolongar la vida útil y preservar la calidad del tomate, dado que ambos componentes tienen la capacidad de formar una barrera contra gases estos promovieron un efecto de retraso en el enrojecimiento y pérdida de luminosidad, ambos debido al retraso en la maduración.

## 5. Firmeza

Los resultados de firmeza de los frutos revelaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos (**Figura 20**). Inicialmente, todos los tratamientos comenzaron con niveles altos de firmeza, situándose entre 60 y 70 N. Sin embargo, la firmeza disminuyó gradualmente en todos los frutos a lo largo del almacenamiento.

El tratamiento control mostró una notable reducción en firmeza, destacándose significativamente a partir del día 5. Al finalizar el almacenamiento, los frutos control presentaron niveles de firmeza más bajos que las emulsiones, alrededor de 10 N, lo que indica una pérdida considerable de calidad, incluso los frutos tratados con el fungicida TBZ mostraron una tendencia similar aun cuando presentaron los valores de firmeza más elevados al inicio del almacenamiento. Por su parte, el tratamiento ALOE COAT manifestó un comportamiento parecido sin diferencias estadísticas con el control salvo por el día 5, en contraste, los tratamientos EAELM, EAEC y EAECCL demostraron una capacidad notable para mantener la firmeza de los frutos durante todo el período de almacenamiento. Estos tratamientos mantuvieron niveles de firmeza superiores a 20 N incluso al finalizar el periodo de almacenamiento, destacándose estadísticamente en comparación con el control, TBZ y ALOE COAT, este comportamiento puede deberse a que los recubrimientos actúan como una barrera física que reduce la permeabilidad al oxígeno y al dióxido de carbono. Esto disminuye la respiración del fruto y ralentiza los procesos metabólicos que conducen a la pérdida de firmeza (Misir y col 2014).

Además, aquellos recubrimientos de más de una fase o bien emulsiones como



**Figura 20.** Efecto de los tratamientos control, TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAEL sobre la firmeza de tomate inoculado con *B. cinerea* almacenado a 12 °C por 20 días. Las barras verticales en las columnas representan la desviación estándar de las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos por día de almacenamiento ( $P < 0.05$ ).

O/W/O pueden limitar la pérdida de agua, ayudando a mantener la turgencia celular, lo que contribuye a conservar la firmeza del fruto (Zambrano y col 2017). También al incorporar compuestos bioactivos, estos recubrimientos protegen contra microorganismos incorporando agentes antimicrobianos naturales, como extractos de plantas o aceites esenciales, inhibiendo así el crecimiento de patógenos que podrían acelerar el deterioro (Fengfeng y col 2017).

Resultados similares a los obtenidos en el presente estudio fueron encontrados por Farooq y col (2023) quienes evaluaron el potencial del recubrimiento a base de gel de AV y quitosano sobre la calidad en tomate, durante 12 días el tratamiento fue capaz de retrasar la pérdida de firmeza atribuyendo este efecto a que ambos componentes tienen la capacidad de formar una barrera contra gases promoviendo un efecto de retención de la firmeza debido a la ralentización de procesos metabólicos.

Así mismo Álvarez-Barreto y col (2023) aplicaron un recubrimiento basado en la adición de micropartículas de CC al mucilago de AV con el propósito de aumentar la vida de anaquel de frutos de fresa inoculados con *B. cinerea* resultando en mejores condiciones fisicoquímicas y microbiológicas dado que se evidenció una mejor retención de la firmeza en las fresas tratadas, esto debido a las características de permeabilidad a gases y vapor de agua que poseen el AV y CC, respectivamente.

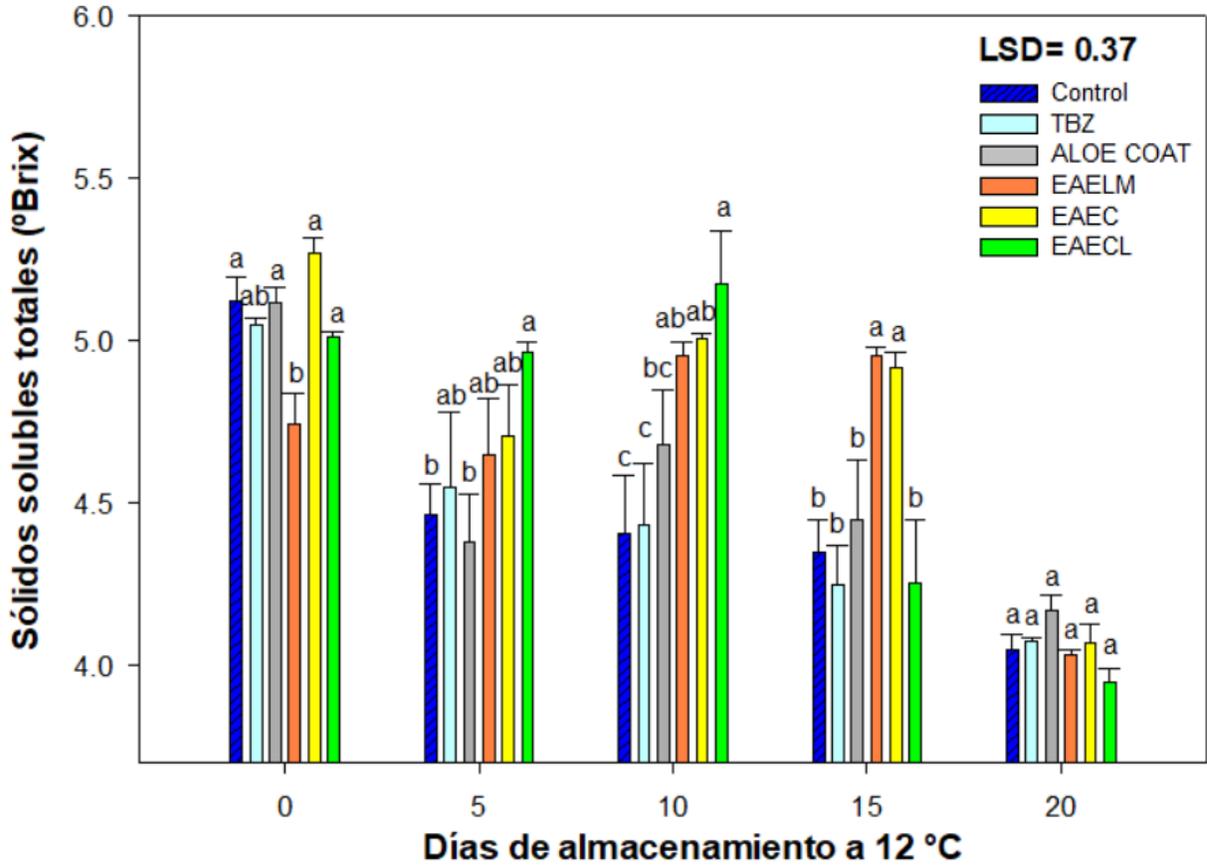
Adicionalmente, Oliveira-Filho y col (2022) implementaron una nanoemulsión de CC y AE de *Cymbopogon martinii* obteniendo resultados positivos sobre la retención de la firmeza en papaya, esto aun a pesar de que esta emulsión no contenía algún componente polar con capacidad de formar una red polimérica o barrera física para

reducir el contacto con los gases y así retrasar la maduración y la pérdida de firmeza. Este efecto se pudo dar gracias a la excelente retención de agua que se mostró la cual tuvo la capacidad de mantener la turgencia y por tanto retener la firmeza con eficiencia en comparación con los frutos control.

## **6. Sólidos solubles totales**

Los resultados mostrados en la **Figura 21** representan el comportamiento de los SST en los frutos de tomate tras la aplicación de los diferentes tratamientos. Se observó una tendencia constante de disminución de SST en los frutos control y tratados con TBZ, por otro lado, a pesar de que el tratamiento ALOE COAT es un recubrimiento su comportamiento a lo largo del almacenamiento nunca se diferenció del control y TBZ en contraste con esto las emulsiones EAELM, EAEC y EAELC mostraron una tendencia a mantener los SST con pequeñas variaciones de entre 0.2 a 0.5 °Brix; sin embargo, hacia el final del almacenamiento este comportamiento decayó mostrándose similar al resto de los tratamientos.

El decrecimiento de los SST en los tomates se debe a factores bioquímicos y fisiológicos debido a que, durante la maduración, los tomates experimentan un aumento en la producción de etileno, hormona que regula este proceso. El aumento de etileno induce la conversión de azúcares complejos en azúcares simples, que inicialmente puede aumentar el contenido de sólidos solubles. Sin embargo, a medida que el proceso continúa, la actividad metabólica del fruto consume estos azúcares para obtener energía, resultando en una disminución general de los sólidos solubles totales (Capino y Farquh 2021), esto sugiere que la aplicación de las emulsiones retrasó el



**Figura 21.** Efecto de los tratamientos control, TBZ, ALOE COAT, EAELM, EAEC y EAEL sobre SST de tomate inoculado con *B. cinerea* almacenado a 12 °C por 20 días. Las barras verticales sobre las columnas representan la desviación estándar de las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos por día de almacenamiento ( $P < 0.05$ ).

metabolismo de los frutos provocando una disminución menos pronunciada de los SST manteniendo sus valores prácticamente constantes por 10 días.

Resultados similares fueron expuestos por Poovai y col (2023) al aplicar un recubrimiento de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) adicionado con una nanoemulsión de AE de hoja de betel de piper en tomate ya que encontraron que los SST se mantuvieron en un rango entre 4 y 5 °Brix. Esto puede ser explicado por la capacidad que tiene la celulosa modificada para formar redes poliméricas y reducir el contacto con CO<sub>2</sub> y de esta manera retrasar la maduración, así como también el aporte del AE de hoja de betel de piper para retrasar las incidencias por microorganismos y por tanto la pérdida de calidad.

Así mismo Dehghani y col (2022) implementaron recubrimientos comestibles de conjugados de gelatina de pescado y goma de almendra amarga mostrando que los SST aumentaron con un ritmo más lento que los frutos recubiertos. También se observó que los SST fueron notablemente mayores en los tomates recubiertos con dispersión de goma de almendra o gel de pescado en comparación con su combinación, lo que indica que combinar estos componentes podría mejorar el efecto del recubrimiento. Es importante resaltar el impacto que se demuestra al asociar matrices con diferentes características para potencializar sus efectos.

Por otro lado, Das y col (2022) observaron que al aplicar un recubrimiento comestible en nanoemulsión utilizando carboximetilcelulosa (CMC) y aceite esencial de cardamomo se presentó un efecto positivo sobre los SST en tomate retrasando su metabolismo, atribuyendo este efecto a la reducción del estrés oxidativo y aumento de las enzimas antioxidantes durante 15 días de almacenamiento. Al mantener los niveles

de enzimas antioxidantes, el recubrimiento comestible evitó la senescencia inducida por daño oxidativo de los tomates, así como una menor carga microbiana en los tomates recubiertos derivado del efecto del aceite esencial.

## IX. CONCLUSIONES

AEC y AELM en concentraciones de 0.065  $\mu\text{L}/\text{mL}$  y 3  $\mu\text{L}/\text{mL}$  son efectivos para inhibir *in vitro* *B. cinerea*.

La combinación de AEC y AELM a una reducción fraccional de 1/4 - 1/4 hasta 1/8 - 1/8 mostraron efecto sinérgico al inhibir *B. cinerea*.

Los tratamientos EAELM, EAEC y EAELCL fueron efectivos para inhibir al 100% el desarrollo micelial, la germinación de conidios y efecto fungicida contra *B. cinerea in vitro*.

EAELM, EAEC y EAELCL causaron daños en la estructura del micelio y las esporas del hongo *B. cinerea* a nivel de membrana.

EAELM, EAEC y EAELCL fueron efectivas para disminuir la incidencia y severidad de moho gris, así como para retener los parámetros de calidad (%PP, color, firmeza y SST) en frutos de tomate inoculados con *B. cinerea*.

En general, los resultados de la investigación indican que recubrir los tomates con emulsiones adicionadas con una mezcla sinérgica de AE's de limón mexicano y cassia puede retrasar la pérdida de calidad más eficazmente que ALOE COAT en aspectos como la pérdida de peso, el color, la firmeza y SST además de superar a TBZ en la inhibición del desarrollo de moho gris mediante el daño a la membrana celular del hongo. El uso de emulsiones con esta mezcla sinérgica de AE's disminuye la dosis de AE y podría ser una alternativa natural para preservar la calidad y prolongar la vida útil de los tomates frescos.

## X. BIBLIOGRAFÍA

- Adams RP. 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography-mass spectroscopy. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 6: 25–86.
- Álvarez-Barreto JF, Cevallos-Ureña A, Zurita J, Pérez J, León M, Ramírez-Cárdenas L. 2023. Edible Coatings of Aloe Vera Gel and Carnauba Wax Microparticles to Increase Strawberry (*Fragaria ananassa*) Shelf Life. *Revista Internacional de Ciencias de la Fruta*. 23 (1): 181–199.  
<https://doi.org/10.1080/15538362.2023.2180129>
- Amani F, Azadi A, Rezaei A, Kharazmi MS, Jafari SM. 2022. Preparation of soluble complex carriers from *Aloe vera* mucilage/gelatin for cinnamon essential oil: Characterization and antibacterial activity. *Journal of Food Engineering*. 334: 111164.
- AOAC. 2012. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists: Arlington, Virginia, 416.
- Araujo D, Rodríguez D, Sanabria ME. 2007. Respuesta del hongo *Fusarium oxysporum f sp. cubense* causante del mal de Panamá, en algunos extractos vegetales y funguicidas. *Fitopatología Venezolana*. 21: 2-8.
- Ashenfi H. 2017. Shelf life and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as affected by different pPackaging mMaterials. *African Journal of Food Science*. Vol. 12(2): 21-27.

- Ayón-Reyna LE, González-Robles A, Rendón-Maldonado JG, Báez-Flores ME, López-López ME, Vega-García MO. 2017. Application of a hydrothermal calcium chloride treatment to inhibit postharvest anthracnose development in papaya. *Postharvest Biology and Technology*. 124:85–90.
- Ayón-Reyna LE, Uriarte-Gastelum YG, Camacho-Díaz VH, Tapia-Maruri D, López-López ME, López-Velázquez JG, Vega-García MO. 2022. Antifungal activity of a chitosan and mint essential oil coating on the development of *Colletotrichum gloeosporioides* in papaya using macroscopic and microscopic analysis. *Food and Bioprocess Technology*. 15: 368–378.
- Ayuso-Yuste MC, González-Cebrino F, Lozano-Ruiz M, Fernández-León AM, Bernalte-García MJ. 2022. Influence of ripening stage on quality parameters of five traditional tomato varieties grown under organic conditions. *Horticulturae*. 8(4): 313. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8040313>
- Babaremu KO, Omodara MA, Fayomi SI, Okokpujie IP, and Oluwafemi JO. 2018. Design and optimization of an active evaporative cooling system. *International Journal of Mechanical Engineering and Technology*. 9(10):1051–1061.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils—A review. *Food Chemistry and Toxicology*. 46: 446–475.
- Barbagallo RN, Chisari M, Caputa G. 2012. Effects of calcium citrate and ascorbate as inhibitors of browning and softening in minimally processed ‘Birgah’ eggplants. *Postharvest Biology and Technology*. 73: 107–114.

- Barragán López JA, Franco Peñata AP, López Pastén J, Pérez Cervera CE. 2019. Effect of storage conditions on physicochemical characteristics and phenolic compounds of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Revista de Ciencias Agrícolas*. 36(2): 5–16.
- Basak S y Guha P. 2018. A review on antifungal activity and mode of action of essential oils and their delivery as nano-sized oil droplets in food system. *Journal of Food Science and Technology*. 55: 4701–4710. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3394-5>
- Basha SK, Muzammil MS, Dhandayuthabani R, Kumari VS. 2020. Development of nanoemulsion of Alginate/*Aloe vera* for oral delivery of insulin Mater. *Today Procedures*. 36(2): 357-363.
- Bauchet G y Causse M. 2012. Genetic Diversity in Tomato (*Solanum lycopersicum*) and Its Wild Relatives. *Genetic Diversity in Plants*. doi:10.5772/33073
- Bautista P, Calderón M, Servín R, Ochoa NA, Vázquez R, Ragazzo JA. 2014. Biocontrol action mechanisms of *Cryptococcus laurentii* on *Colletotrichum gloeosporioides* of mango. *Crop Protection*. 65: 194–201.
- Behbahani BA, Falah B, Arab FL, Vasiee M, Yazdi FT. 2020. Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and antiproliferative activities of *cinnamomum zeylanicum* bark essential oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 20: 45-58.

- Bergougnoux V. 2014. The history of tomato: From domestication to biopharming. *Biotechnology Advances*. 32(1): 170-189. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.11.003>.
- Bosquez-Molina E, Ronquillo-de Jesús E, Bautista-Baños S, Verde-Calvo JR, Morales-López J. 2010. Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings. *Postharvest Biology and Technology*. 57 (2): 132-137. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.03.008>.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytic Biochemistry*. 72: 248–254.
- Brennan TCR, Kromer JO, Nielsen LK. 2013. Physiological and transcriptional response to d-limonene in *Saccharomyces cerevisiae* shows changes to the cell wall, not the plasma membrane. *Applied and Environmental Microbiology*. 79(12): 3590-3600.
- Cai R, Hu M, Zhang Y, Niu C, Yue T, Yuan Y, Wang Z. 2019. Antifungal activity and mechanism of citral, limonene and eugenol against *Zygosaccharomyces rouxii*. *LWT*. 106 (19): 50-56 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.059>.
- Cantu D, Greve LC, Labavitch JM, Powell ALT. 2009. Characterization of the cell wall of the ubiquitous plant pathogen *Botrytis cinerea*. *Mycological Research*. 113: 1396–1403.

- Capino A y Farcuh M. 2021. Ethylene and the Regulation of Fruit Ripening. University of Maryland Extension. *Vegetable and Fruit News*. 12 (1).
- Carrera A, Gil R, Mark D. 2009. Comportamiento poscosecha de cinco cultivares de mango tratados con CO<sub>2</sub> y almacenados bajo condiciones naturales, en la Estación Experimental de INIA Caripe, estado Monagas. *UDO Agrícola*. 9(1): 51-59.
- Carvajal T. 2012. Evaluación de las pérdidas Poscosecha tanto físicas y de calidad en el sistema de producción agrícola. Tesis grado, Universidad Central del Ecuador, Quito (Ecuador).
- Carvalho FPA y Gomes JMA. 2008. Eco-efficiency in the production of Carnauba wax in the municipality of Campo Maior, Piauí, 2004. *Revista de Economia e Sociologia Rural*. 46 (2):421-453.
- Chahbi A, Nassik S, El Amri H, Douaik A, Maadoudi E, Boukharta M, El Hadrami E. 2020. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of two aromatic plants cultivated in Morocco (*Cinnamomum cassia* and *Origanum compactum*). *Journal of Chemistry*, 20: 567-580.
- Constantino LV, Araujo SR, Suzuki-Fukuji AS, Nogueira AF, Lima-Filho RB, Zeffa DM, Nicio TT, Oliveira C, Azeredo-Gonçalves LS. 2022. Post-harvest characterization and sensory analysis of Roma tomato cultivars under organic cultivation: A strategy using consumers and chefs. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 29: 100564.

- Coronel-Leon JR. 2009. Alternativas de mejora en el manejo Postcosecha de Tomate riñón cultivados en la provincia de Santa Elena. Tesis de Maestría, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil (Ecuador).
- Correa-Pacheco ZN, Bautista-Baños S, Hernández-López M, Marquina-Valle MA. 2018. Evaluation of nanoformulations on *in vitro* development of fungal phytopathogens. *Revista mexicana de fitopatología*. 35(3): 16048-1653. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1803-2>.
- D'agostino M, Tesse N, Fripiat JP, Machouart M, Debourgogne A. 2019. Essential Oils and Their Natural Active Compounds Presenting Antifungal Properties. *Molecules*. 24(20): 3713. doi:10.3390/molecules24203713.
- Das S, Kumari V, Satarupa B, Sandhimita M, Arnab F. 2020. Sodium alginate-based edible coating containing nanoemulsion of *Citrus sinensis* essential oil eradicates planktonic and sessile cells of food-borne pathogens and increased quality attributes of tomatoes. *International Journal of Biological Macromolecules*. 162: 1770-1779. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.086>.
- De Freitas C, de Sousa P, Soares D, da Silva J, Gomes B. 2019. Carnauba wax: Uses In Food: A Review. *Food Chemistry* 291:38-48.
- De Oliveira-Filho, JG, Albiero BR, Cipriano L, de Oliveira Nobre Bezerra CC, Oldoni FCA, Egea MB, Ferreira MD. 2021. Arrowroot starch-based films incorporated with a carnauba wax nanoemulsion, cellulose nanocrystals, and essential oils: a

new functional material for food packaging applications. *Cellulose*. 28: 6499–6511. doi:10.1007/s10570-021-03945-0.

De Simone N, Pace B, Grieco F, Chimienti M, Tyibilika V, Santoro V, Capozzi V, Colelli G, Spano G, Russo P. 2020. *Botrytis cinerea* and Table Grapes: A Review of the Main Physical, Chemical, and Bio-Based Control Treatments in Post-Harvest. *Foods*. 9(9): 1138. <https://doi.org/10.3390/foods9091138>.

Dean R, Jan AL, Kan V, Pretorius Z, Hammond-Kosack K, Di Pietro A. 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*. 13: 414–430.

Dehghani S, Hosseini E, Rousta E. 2022. Shelf-life extension of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) using an edible coating of bitter almond gum-fish gelatin conjugates. *Progress in Organic Coatings*. 170: 106980. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2022.106980>

Dhall RK. 2013. Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 53: 435-450.

FAOSTAT. 2023. Food and Agriculture Data. Disponible en <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>. (Consultado en abril de 2023).

Farooq A, Niaz B, Saeed F, Afzaal M, Armghan Khalid M, Raza MA, Al Jbawi E. 2023. Exploring the potential of aloe vera gel-based coating for shelf-life extension and quality preservation of tomato. *International Journal of Food Properties*. 26 (2): 2909–2923. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2263661>.

- Favaron F, Sella L, D'Ovidio R. 2004. Relationships among endopolygalacturonase, oxalate, pH, and plant polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP) in the interaction between *Sclerotinia sclerotiorum* and soybean. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 17:1402–1409.
- Fengfeng W, Yamei J, Xueming X, Na Y. 2017. Electrofluidic pretreatment for enhancing essential oil extraction from citrus fruit peel waste. *Journal Clean Products*. 159: 85–94.
- Fernandez-Pozo N, Zheng Y, Snyder SI, Nicolas P, Shinozaki Y, Fei Z, Catala C, Giovannoni JJ, Rose JKC, Mueller LA. 2017. The tomato expression atlas. *Bioinformatics*. doi: 10.1093/bioinformatics/btx190.
- Fitch-Vargas PR, Aguilar-Palazuelos E, Vega-García MO, Zazueta-Morales JJ, Calderón-Castro A, Montoya-Rodríguez A, Delgado-Nieblas CI, Camacho-Hernández IL. 2019. Effect of a corn starch coating obtained by the combination of extrusion process and casting technique on the postharvest quality of tomato. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 18 (3): 789-801
- Gago MD. 2015. Efecto de las heridas sobre la resistencia de frutos de pimiento a “*Botrytis cinérea*”. Universidad de Coruña. 10-17.
- García M, Le Gall J, Mierez L. 2008. “Comercialización tradicional de hortalizas de la región metropolitana bonaerense. Herencias, dinámicas e innovaciones de un sistema complejo”. Boletín Hortícola de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP) - UEEA INTA Gran Buenos Aires y Ministerio de Asuntos Agrarios. Año 13 N°40 (2°etapa). Pp 8-15.

- Gerszberg A, Hnatuszko-Konka K, Kowalczyk T and Kononowicz AK. 2015. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in the service of biotechnology. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 120: 881–902. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0664-4>.
- Ghalem BR. 2016. Essential oils as antimicrobial agents against some important plant pathogenic bacteria and fungi. In *Plant-Microbe Interaction: An Approach to Sustainable Agriculture*. Springer Nature. DOI:[10.1007/978-981-10-2854-0\\_13](https://doi.org/10.1007/978-981-10-2854-0_13)
- Goodarzi F y Zendejboudi S. 2019. A Comprehensive Review on Emulsions and Emulsion Stability in Chemical and Energy Industries. *Canadian Journal of Chemical Engineering*. 97: 281-309. <https://doi.org/10.1002/cjce.23336>.
- Govrin EM y Levine A. 2000. The hypersensitive response facilitates plant infection by the necrotrophic pathogen *Botrytis cinerea*. *Current Biology*. 10:751–757.
- Gupta A, Jeyakumar E, Lawrence R. 2021. Journey of limonene as an antimicrobial agent. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 15(3): 1094-1110. [https://doi: 10.22207/JPAM.15.3.01](https://doi.org/10.22207/JPAM.15.3.01).
- Gutiérrez-Pacheco MM, Ortega-Ramírez LA, Silva-Espinoza BA, Cruz-Valenzuela MR, González-Aguilar GA, Lizardi-Mendoza J, Miranda R, Ayala-Zavala JF. 2020. Individual and combined coatings of chitosan and carnauba wax with oregano essential oil to avoid water loss and microbial decay of fresh cucumber. *Coatings*. 10(7): 614. <https://doi.org/10.3390/coatings10070614>
- Hassanpour H. 2015. Effect of *aloe vera* gel coating on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activities and decay in raspberry fruit. *Food Science and Technology*. 60 (1): 495–501.

- Hlebová M, Hleba L, Medo J, Kováčik A, Čuboň J, Ivana C, Icon, Uzsáková V, Božik M, Klouček P. 2021. Antifungal and synergistic activities of some selected essential oils on the growth of significant indoor fungi of the genus *Aspergillus*. *Journal of Environmental Science and Health*. 56(12): 1335–1346. <https://doi.org/10.1080/10934529.2021.1994801>.
- Hou HY, Zhang X, Zhao T, Zhou L. 2020. Effects of *Origanum vulgare* essential oil and its two main components, carvacrol and thymol, on the plant pathogen *Botrytis cinerea*. *PeerJ*. 8:e9626. <https://doi.org/10.7717/peerj.9626>.
- Hu F, Tu X.-F, Thakur K, Hu F, Li XL, Zhang YS, Zhang JG, Wei ZJ. 2019. Comparison of antifungal activity of essential oils from different plants against three fungi. *Food and Chemical Toxicology*. 134: 110821.
- Javanmardi Z, Saba MK, Nourbakhsh H, Amini J. 2023. Efficiency of nanoemulsion of essential oils to control *Botrytis cinerea* on strawberry surface and prolong fruit shelf life. *International Journal of Food Microbiology*. 384:109979,}. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109979> .
- Jurick WM, Macarasin O, Gaskins VL, Park E, Yu J, Janisiewicz W, Peter KA. 2017. Characterization of postharvest fungicide-resistant *Botrytis cinerea* isolates from commercially stored apple fruit. *Phytopathology*. 107(3): 362–368. doi:10.1094/phyto-07-16-0250-r.
- Kai B, Yong L, Tesfaye M, Amir S. 2022. Killing softly: a roadmap of *Botrytis cinerea*. *Trends in Plant Science*. 28 (2): 211-222.

- Kanatt SR y Makwana SH. 2020. Development of active, water-resistant carboxymethyl cellulose-poly vinyl alcohol-*Aloe vera* packaging film Carbohydr. *Polymers*. 227.
- Karim, M., Jabeen, K., Iqbal, S., Javaid, A. 2017. Bioefficacy of a common weed *Datura* metel against *Colletotrichum gloeosporioides*. *Planta Daninha*. 35: 1–7.
- Karunanayake LC, Adikaram N, Kumarihamy BMM, Bandara BMR, Abayasekara C. 2011. Role of antifungal gallotannins, resorcinols and chitinases in the constitutive defence of immature mango (*Mangifera indica* L.) against *Colletotrichum gloeosporioides*. *Journal of Phytopathology*. 159(10): 657–664.
- Kim KS, Min JY, Dickman MB. 2008. Oxalic acid is an elicitor of plant programmed cell death during *Sclerotinia sclerotiorum* disease development. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 21:605–612.
- Kočevski D, Du M, Kan J, Jing C, Lačanin I, Pavlović H. 2013. Antifungal effect of *Allium tuberosum*, *Cinnamomum cassia*, and *Pogostemon cablin* essential oils and their components against population of *Aspergillus* species. *Journal of Food Science*. 78: M731-M737. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12118>.
- Kumar A y Kudachikar VB. 2018. Antifungal properties of essential oils against anthracnose disease: a critical appraisal. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 125: 133–144. <https://doi.org/10.1007/s41348-017-0128-2> .
- Lang G, Buchbauer G. 2012. A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour and Fragrance Journal*. 27: 13–39.

- Latorre B, Elfar K, Ferrada E. 2015. Gray mold caused by *Botrytis cinerea* limits grape production in Chile. *Ciencia e investigación agraria*. 42: 1-1.
- Lesjak M, Simin N, Orcic D, Franciskovic M, Knezevic P, Beara I, Mimica-Dukic N. 2016. Binary and tertiary mixtures of *Satureja hortensis* and *Origanum vulgare* essential oils as potent antimicrobial agents against *Helicobacter pylori*. *Phytotherapy Research*. 30(3): 476-484.
- Liu J, Zhu Y, Du G, Zhou J, Chen J. 2013. Response of *Saccharomyces cerevisiae* to D-limonene-induced oxidative stress. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 97(14): 6467-6475.
- Li-Yun Lin L, Chuang C, Chen H, Yang K. 2019. Lime (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) essential oils: volatile compounds, antioxidant capacity, and hypolipidemic effect. *Foods*. 8: 398.
- Long H, Bi Y, Pu L, Xu W, Xue H, Fu G, Prusky D. 2022. Preparation of chitosan/ fennel seed essential oil/ starch sodium octenyl succinate composite films for apple fruit preservation. *Food Science and Technology*. 167. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113826>.
- López-Velázquez JG, Ayón-Reyna LE, Vega-García MO, López-Angulo G, López-López ME, López-Zazueta BA, Delgado-Vargas F. 2022. Caprylic acid in *Vitex mollis* fruit and its inhibitory activity against a thiabendazole-resistant *Colletotrichum gloeosporioides* strain. *Pest Management Science*. 78: 5271-5280.

López-Velázquez JG, Barraza-López FJ, Vega-García MO, López-López ME, Gutiérrez-Dorado R, Chaidez-Gastelum DC, Ayón-Reyna LE. 2024. Microstructural and physicochemical quality maintenance in green bell pepper infected with *Botrytis cinerea* and treated with thyme essential oil combined with carnauba wax. *Journal of Food Science*. 89: 2943–2955. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17041>.

López-Zazueta BA, Ayón-Reyna LE, Gutiérrez-Dorado R, Rodríguez-Gómez FA, López-López ME, López-Velázquez JG, Díaz-Corona DA, Vega-García MO. 2023. Effect of chitosan with different molecular weights on the antifungal activity against *Colletotrichum gloeosporioides* and activation of the non-enzymatic antioxidant system on infected papaya. *Journal of Food Science*. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16561>.

Madani B, Mirshekari A, Yahia E. 2016. Effect of calcium chloride treatments on calcium content, anthracnose severity and antioxidant activity in papaya fruit during ambient storage. *Journal of Science of Food and Agriculture*. 96:2963-68.

Majeed H, Liu F, Hategekimana J, Sharif HR, Qi J, Ali B, Bian Y, Ma j, Yokoyama W, Zhong F. 2016. Bactericidal action mechanism of negatively charged food grade clove oil nanoemulsions. *Food Chemistry*. 197: 75–83.

Malegori C, Franzetti L, Guidetti R, Casiraghi E, Rossi R. 2016. GLCM, an image analysis technique for early detection of biofilm. *Journal of Food Engeniering*. 185: 48–55

- Marei GIKh, Rasoul MAA, Abdelgaleil SAM. 2012. Comparative antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic fungi. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 103: 56-61.
- Martínez-Ruiz E, Cervantes-Díaz L, Aíl-Catzím C, Hernández-Montiel L, Del Toro C, y Rueda-Puente E. 2016. Hongos fitopatógenos asociados al tomate (*Solanum lycopersicum* L.) En la zona árida del noroeste de México: la importancia de su diagnóstico. *European Scientific Journal*.
- Mashigo M, Combrinck, S, Regnier T, Du Plooy W, Augustyn W, Mokgalaka N. 2015. Chemical variations, trichome structure and antifungal activities of essential oils of *Helichrysum splendidum* from South Africa. *South African Journal of Botany*. 96: 78–84.
- Medina-Torres L, Núñez-Ramírez D, Calderas F, Bernad-Bernad M, Gracia-Mora J, Rodríguez-Ramírez J, Manero O. 2018. Curcumin encapsulation by spray drying using *Aloe vera* mucilage as encapsulating agent. *Jornal of Food Process Engeniering*. 42 (2).
- Medina-Torres L, Núñez-Ramírez D, Calderas F, González-Laredo R, Minjares-Fuentes R, Valadez-García M, Manero O. 2019. Microencapsulation of gallic acid by spray drying with *Aloe vera* mucilage (*aloe barbadensis miller*) as wall material. *Industrial Crops and Products*. 138.
- Mendy TK, Misran A, Mahmud TMM y Ismail SI. 2019. Application of *Aloe vera* Coating Delays Ripening and Extend the Shelf Life of Papaya Fruit. *Scientia Horticulturae*. 246: 769–76.

- Misir J, Brishti FH, Hoque MM. 2014. *Aloe vera* gel as a novel edible coating for fresh fruits: A review. *American Journal of Food Science and Technology*. 2: 93-97.
- Monge J y Loria M. 2019. Producción de tomate (*Solanum lycopersicum*) en invernadero: comparación agronómica entre tipos de tomate. *Revista Posgrado y Sociedad Sistema de Estudios de Posgrado Universidad Estatal a Distancia*. 17 (1): 1-20.
- Nakajima M y Akutsu K. 2014. Factores de virulencia de *Botrytis cinerea*. *Journal of general plant pathology*. 80:15-23. <https://doi.org/10.1007/s10327-013-0492-0>.
- Nazzaro F, Fratianni F, Coppola R, Feo VD. 2017. Essential oils and antifungal activity. *Pharmaceuticals*. 10(4):86. <https://doi.org/10.3390/ph10040086>.
- NCBI (National Center of Biotechnology Information). Abril 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=4081>
- Noumegna-Kamsu FP, Ndongoni-Dikongue FJ, Ngouana V, Sonwa-Tchinda E, Jiogue MB, Ambata-Ambata HT, Nguemezi-Tchameni S, Sameza ML, Dongmo-Jazet PM. 2023. Effectiveness of Masep (*Ocimum gratissimum* L.) essential oil and its nanoemulsion toward *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora infestans* and *Alternaria solani*, pathogens associated with tomato rot diseases. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 47: 102591. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102591>.
- Oliveira J, Gloria EM, Parisi MCM, Baggio JS, Silva PPM, Ambrosio CMS, Spoto MHF. 2019. Antifungal activity of essential oils associated with carboxymethylcellulose

against *Colletotrichum acutatum* in strawberries. *Scientia Horticulturae*. 243: 261–267. doi:10.1016/j.scienta.2018.08.032.

Oliveira-Filho JG, Da Cruz Silva G, Egea MB, Cordeiro de azheredo HM, Ferreiro MD. 2021. Essential oils as natural fungicides to control *rhizopus stolonifer*-induced spoiled of strawberries. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 11(5): 13244 – 13251.

Oliveira-Filho JG, Da Cruz Silva G, Oldoni FCA, Miranda M, Florencio C, Oliveira RMD, Gomes MP, Ferreira MD. 2022. Edible Coating Based on Carnauba Wax Nanoemulsion and *Cymbopogon martinii* Essential Oil on Papaya Postharvest Preservation. *Coatings*. 2(11):1700. <https://doi.org/10.3390/coatings12111700>.

Ong MK, Kazi FK, Forney CF, Ali A. 2013. Effect of gaseous ozone on papaya anthracnose. *Food Bioprocesses Technology*. 6:2996–3005. doi: 10.1007/s11947-012-1013-4.

Palomo I, Moore R, Carrasco G, Villalobos P, Guzmán L. 2010. El consumo de tomates previene el desarrollo de Enfermedades Cardiovasculares y Cáncer: Antecedentes epidemiológicos y mecanismos de acción. *Revista Idesial*. 28(3): 121-129.

Pekmezovic M, Rajkovic K, Barac A, Senerović L, Arsenijevic V A. 2015. Development of kinetic model for testing antifungal effect of *Thymus vulgaris* L. and *Cinnamomum cassia* L. essential oils on *Aspergillus flavus* spores and application for optimization of synergistic effect. *Biochemical Engineering Journal*. 99: 131-137. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.03.024>.

- Pereira-Kechinski C, Sherrer-Montero CR, Zapata-Noreña CP, Tessaro IC, Ferreira-Marczak LD, Bender RJ. 2012. Effects of ozone in combination with hydrothermal treatment and wax on physical and chemical properties of papayas. *Ozone: Science and Engineering* 34: 57-63.
- Poovai PD, Kumaran N, Ashok I, Kalpana P, Ramasubramaniyan MR. 2023. A study on coating of Hydroxypropyl methylcellulose incorporated with a nano-emulsion of Piper betel leaf essential oil to enhance shelf-life and improve postharvest quality of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of Applied and Natural Science*. 15(1): 252 - 261. <https://doi.org/10.31018/jans.v15i1.4005>.
- Prakash B, Singh, P, Kedia, A, Dubey NK. 2012. Assessment of some essential oils as food preservatives based on antifungal, antiaflatoxin, antioxidant, activities and *in vivo* efficacy in food system. *Food Research International*. 49: 201–208.
- Purkait S, Bhattacharya A, Bag A, Chattopadhyay RR. 2020. Synergistic antibacterial, antifungal and antioxidant efficacy of cinnamon and clove essential oils in combination. *Archives of Microbiology*. 202: 1439–1448. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01858-3>.
- Qi X, Zhong S, Schwarz P, Chen B, Rao J. 2023. Mechanisms of antifungal and mycotoxin inhibitory properties of *Thymus vulgaris* L. essential oil and their major chemical constituents in emulsion-based delivery system. *Industrial Crops and Products*. 197:116575. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116575>.
- Rafiee S, Ramezani A, Mostowfizadeh-Ghalefarsa R, Niakousari M, Saharkhiz MJ, Yahia E. 2022. Nano-emulsion of denak (*Oliveria decumbens* Vent.) essential

- oil: ultrasonic synthesis and antifungal activity against *Penicillium digitatum*. *Food Measure*. 16: 324–331. doi.org/10.1007/s11694-021-01163-7.
- Raiola A, Rigano MM, Calafiore R, Frusciante L, Barone A. 2014. Enhancing the human-promoting effects of tomato fruit for biofortified food. *Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation*.
- Rajaofera, MJN, Jin PF, Fan YM, Sun QQ, Huang WK, Wang WB, Shen HY, Zhang S, Lin CH, Liu WB, Zheng FC, Miao WG. 2018. Antifungal activity of the bioactive substance from *Bacillus atrophaeus* strain HAB5 and its toxicity assessment on *Danio rerio*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 147: 153–161.
- Ravindran R, Jaiswal AK. 2016. Exploitation of food industry waste for high-value products. *Trends Biotechnology*. 34: 58–69.
- Restrepo J y Aristizábal D. 2010. Conservación de fresa (*fragaria x ananassa* duch cv. Camarosa) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca sábila (*Aloe barbadensis miller*) y cera de carnaúba. . *Revista Vitae*. 17(3): 252-263.
- Rhouma A, Hajji-Hedfi L, Kouadri M, Atallaoui K, Matrood A, Khriebe M. 2023. *Botrytis cinerea*: The cause of tomatoes gray mold. *Egyptian Journal of Phytopathology*. 51 (2): 68-75. doi: 10.21608/ejp.2023.224842.1101.
- Ribes S, Fuentes A, Talens P, Barat JM, Ferrari G, Donsì F. 2017. Influence of emulsifier type on the antifungal activity of cinnamon leaf, lemon and bergamot oil nanoemulsions against *Aspergillus niger*. *Food Control*. 73: 784-795. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.09.044>.

- Robledo N, Vera P, López L, Yazdani-Pedram M, Tapia C, Abugoch L. 2018. Thymol nanoemulsions incorporated in quinoa protein/chitosan edible films, antifungal effect in cherry tomatoes. *Food Chemistry*. 246: 211–219. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.11.032.
- Rollins JA. 2003. The *Sclerotinia sclerotiorum* pac1 gene is required for sclerotial development and virulence. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 16: 785–795.
- Sadat-Razavi M, Golmohammadi A, Nematollahzadeh A, Ghanbari A, Davari M, Carullo D, Farris S. 2022. Production of innovative essential oil-based emulsion coatings for fungal growth control on postharvest fruits. *Foods*. 11(11): 1602. <https://doi.org/10.3390/foods11111602>.
- Sharifzadeh A, Khosravi AR, Shokri H, Shirzadi H. 2018. Efecto potencial del 2-isopropil-5-metilfenol (timol) solo y en combinación con fluconazol contra aislados clínicos de *Candida albicans*, *C. glabrata* y *C. krusei*. *Journal of Mycology Medicin*. 28: 294–299.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2023. consultado en Julio 2024. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Sogvar OB, Saba MK y Emamifar A. 2016. *Aloe vera* and ascorbic acid coatings maintain postharvest quality and reduce microbial load of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 114:29–35.
- Stevic T, Beric T, Savikin K, Sokovic M, GoCevac D, Dimkic I, Stankovic S. 2014. Antifungal activity of selected essential oils against fungi isolated from medicinal plant. *Industrial Crops and Products*. 55: 116-122.

- Suzuki T y Ohashi Y. 2013. Efecto combinado de antibióticos contra bacterias aisladas de queratitis utilizando el índice de concentración inhibidora fraccional. 32: e156–e160.
- Thinh DC y Kunasakdakul K. 2013. Inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* and control of postharvest anthracnose disease on mango fruit using propionic acid combined with bee carnauba wax emulsion. *Journal of Agricultural Science*. 5: 110–116.
- Tian J, Ban B, Zeng H, He J, Bo H, Wang Y. 2011. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cicuta virosa* L. var. *latisecta* Celak. *International Journal Food Microbiology*. 145: 464–470.
- Trejo-Raya AB, Rodríguez-Romero VM, Bautista-Baños S, Quiroz-Figueroa FR, Villanueva-Arce R, Durán-Páramo E. 2021. Effective *in vitro* control of two phytopathogens of agricultural interest using cell-free extracts of *Pseudomonas fluorescens* and chitosan. *Molecules*. 26:1-13.
- USDA. 2023. United States Department of Agriculture. Disponible en: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/1999634/nutrients> (Consultado en abril 2023).
- Valverde JM, Valero D, Martínez-Romero D, Guillén F, Castillo S y Serrano M. 2005. Novel edible coating based on *Aloe vera* gel to maintain table grape quality and safety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (20):7807–13.
- Wei J, Chai Y, Zhou J, Pan Y, Jia T, Xiong L, Yao G, Zhang Z, Xu H, Zhao C. 2024. Discovery of arylfluorosulfates as novel fungicidal agents against plant pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 72 (7): 3456-3468.

- Williamson B, Tudzynski B, Tudzynski P, Van Kan JAL. 2007. *Botrytis cinerea*: The cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*. 8:561–580.
- Wu Z, Sun S, Wang F, Guo D. 2011. Establishment of regeneration and transformation system of *Lycopersicon esculentum* Micro tom. *British Biotechnology Journal*. 3:53–60.
- Xing XL, Xu Q, Yun J, Lu Y. 2010. Antifungal activities of cinnamon oil against *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus flavus* and *Penicillium expansum* *in vitro* and *in vivo* fruit test. *International Journal of Food Science and Technology*. 45: 1837–1842.
- Yang R, Miao J, Shen Y, Cai N, Wan C, Zou L, Chen C, Chen J. 2021. Antifungal effect of cinnamaldehyde, eugenol and carvacrol nanoemulsion against *Penicillium digitatum* and application in postharvest preservation of citrus fruit. *LWT- Food Science and Technology*. 141: 110924. doi: 10.1016/j.lwt.2021.110924.
- Yang S, Liu L, Li D, Xia H, Su X, Peng L. 2016. Use of active extracts of poplar buds against *Penicillium italicum* and possible modes of action. *Food Chemistry* 196:610-618.
- Yusoff SF, Haron FF, Asib N, Mohamed MTM, Ismail SI. 2021. Development of *Vernonia amygdalina* leaf extract emulsion formulations in controlling gray mold disease on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Agronomy*. 11(2): 373. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020373>.
- Yusoff SF, Haron FF, Tengku Muda Mohamed M, Asib N, Sakimin SZ, Abu Kassim F, Ismail SI. 2020. Antifungal activity and phytochemical screening of *Vernonia*

*amygdalina* extract against *Botrytis cinerea* causing gray mold disease on tomato fruits. *Biology*. 9(9): 286. <https://doi.org/10.3390/biology9090286>.

Zambrano J, Valera A, Maffei M, Materano W, Quintero I, Graterol K. 2017. Efecto de un recubrimiento comestible formulado con mucílago del cactus (*Opuntia elatior* mill.) Sobre la calidad de frutos de piña mínimamente procesados. *Revista Bioagro*. Vol. 29(2): 129-136.

Zhang J, Hao Y, Lu H, Li P, Chen J, Shi Z, Xie Y, Mo H, Hu L. 2022. Nano-thymol emulsion inhibits *Botrytis cinerea* to control postharvest gray mold on tomato Fruit. *Agronomy*. 12(12): 2973. <https://doi.org/10.3390/agronomy12122973>.

Zhang Z, Yang D, Yang B, Gao Z, Li M, Jiang Y, Hu M. 2013.  $\beta$ -Aminobutyric acid induces resistance of mango fruit to postharvest anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* and enhances activity of fruit defense mechanisms. *Scientia Horticulturae*. 160: 78–84.

Zhao H, Kim YK, Huang L, Xiao CL. 2010. Resistance to thiabendazole and baseline sensitivity to fludioxonil and pyrimethanil in *Botrytis cinerea* populations from apple and pear in Washington State. *Postharvest Biology and Technology*. 56: 12-18.

Zhou L, Zhang J, Xing L, Zhang W. 2021. Applications and effects of ultrasound assisted emulsification in the production of food emulsions: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 110: 493-512. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.008>.

Ziedan ES-HE, Saad MM, El-Kafrawy AA, Sahab AF, Mossa A-TH. 2022. Evaluation of essential oils nanoemulsions formulations on *Botrytis cinerea* growth, pathology and grey mould incidence on cucumber fruits. *Bulletin of the National Research Centre*. 46: 88. <https://doi.org/10.1186/s42269-022-00765-5>.

## Abreviaturas

%	Porcentaje
%PP	Porcentaje de Pérdida de Peso
~	Aproximado
°C	Grados Celsius
µg	Microgramos
µL	Microlitros
<i>A</i>	<i>Aspergillus</i>
AE	Aceite esencial
AE´s	Aceites esenciales
AEC	Aceite Esencial de Cassia
AECL	Aceite Esencial de Cassia-Limón
AELM	Aceite Esencial de Limón Mexicano
ANOVA	Analysis of variance
ATP	Adenosin Trifosfato
<i>AV</i>	<i>Aloe vera</i>
<i>B</i>	<i>Botrytis</i>
<i>C</i>	<i>Colletotrichum</i>
CC	Cera de carnauba
CFI	Concentración Inhibitoria Fraccional
cm	Centímetros
CMC	Carboximetilcelulosa
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria

E.U.A.	Estados Unidos de América
EAEC	Emulsión de Aceite Esencial de Cassia
EAELM	Emulsión de Aceite Esencial de Cassia-Limón
EAELM	Emulsión de Aceite Esencial de Limón Mexicano
ERO's	Especies Reactivas de Oxígeno
ES	Esclerocio
EV	Espacios Vacíos
	Food and Agriculture Organization of the United
FAO	Nations
FDA	Food and Drugs Administration
g	Gramos
G	Número de esporas germinadas en el tratamiento
Gc	Número de esporas germinadas en el control
GRAS	Generally Recognized As Safe
h	Horas
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulosa
HR	Humedad relativa
ICIF	Índice de Concentración Inhibitoria Fraccional
ISO	International Organization for Standardization
Kcal	Kilo calorías
mg	Miligramos
min	Minutos
mL	Mililitros

mm	Milímetros
N	Newtons
NCBI	National Center for Biotechnology Information
nm	Nanómetros
O/W	Oil/Water
O/WO	Oil/Water/Oil
<i>P</i>	<i>Penicillium</i>
p/v	peso Volumen
PC	Pared celular
PDA	Agar papa dextrosa
pH	Potencial de hidrogeno
R	Crecimiento radial en el tratamiento
<i>R</i>	<i>Rhizopus</i>
RC	Crecimiento radial en el control
<i>S</i>	<i>Solanum</i>
S	Septo
S.A. de	
C.V.	Sociedad Anónima de Capital Variable
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
SST	Sólidos solubles totales
TBZ	Tiabendazol
ton	Toneladas
USDA	United State Department of Agriculture

var	Variedad
W/O	Water/Oil
W/O/W	Water/Oil/Water
Y	Gamma
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\mu\text{m}$	Micrómetros