

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS VEGETALES SOBRE *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ. PATÓGENO DEL LIMÓN PERSA

Antifungal activity of plant extracts against *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. pathogen of Persian lemon

Abraham BIBIANO-FLORES^{1*} e Ivette ORTIZ-LOPEZ²

¹ Campo Agrícola Experimental Rosario Izapa, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, km 18 carretera Tapachula-Cacahoatán, Tuxtla Chico, C.P. 30870, Chiapas, México.

² Departamento de Edafología, Colegio de Postgraduados, carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, C.P. 56264, Estado de México, México.

*Autor para correspondencia: bibiano.abraham@inifap.gob.mx

(Recibido: abril 2025; aceptado: septiembre 2025)

Palabras clave: antracnosis, etiología, fitoextractos, actividad antimicrobiana, inhibición.

RESUMEN

La antracnosis en limón persa causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, es una enfermedad de importancia económica a nivel mundial por afectar etapas de pre y poscosecha. El manejo sanitario convencional consiste en la aplicación de fungicidas sintéticos, con el consecuente riesgo para la salud humana y el ambiente. Los extractos vegetales representan una alternativa sustentable a este problema. Los objetivos de la investigación fueron: 1) determinar la etiología de la antracnosis con base en los postulados de Koch, y 2) evaluar la actividad antimicrobiana de extractos vegetales comparado con fungicidas químicos sobre *Colletotrichum* sp. Se evaluó la efectividad in vitro de los fungicidas Switch[®], Headline[®], Luna experience[®], Scala[®], Oxicob[®], Manzate[®] y extractos vegetales Progran[®]ic, Neemacar, Regalia[®] Maxx, Progran[®]ic Alfa, Progran[®]ic Omega y Progran[®]ic Mega por su baja toxicidad y disponibilidad en el mercado. Se utilizó la técnica de “cultivo envenenado”, depositando un disco de 0.5 cm de diámetro del patógeno en el centro de cajas Petri con 20 mL de agar papa-dextrosa más producto orgánico y/o químico y se incubaron a 27 °C. El patógeno identificado fue *C. gloeosporioides*. Todos los fungicidas químicos con dosis de 0.025 a 0.070 mg/20 mL, inhibieron 100 % el desarrollo del patógeno. Los extractos vegetales Progran[®]ic Neemacar (75 %) y Alfa (94 %) a 0.200 mL/20 mL, presentaron un efecto fungicida al controlar en 100 % el crecimiento, esporulación y geminación del fitopatógeno. Nuestros hallazgos muestran el potencial de los extractos vegetales para ser utilizados como parte de un manejo preventivo para combatir la antracnosis.

Key words: anthracnose, etiology, phytoextracts, antimicrobial activity, inhibition.

ABSTRACT

Anthracnose in Persian lemon caused by *Colletotrichum gloeosporioides* is an economically important disease around the world affecting the pre- and postharvest stages. Conventional sanitary management involves the application of synthetic fungicides,

with the consequent risk to human health and the environment. Plant extracts represent a sustainable alternative to this problem. The objectives of this research were: (1) to determine the etiology of anthracnose based on Koch's postulates, and (2) to evaluate the antimicrobial activity of plant extracts compared to chemical fungicides against *Colletotrichum* sp. The in vitro effectiveness of fungicides was evaluated (Switch[®], Headline[®], Luna experience[®], Scala[®], Oxicob[®], Manzate[®]) and the plant extracts Progranic[®] NeemAcar, Regalia Maxx, Progranic[®] Alfa, Progranic[®] Omega and Progranic[®] Mega for their low toxicity and greater availability on the market. The potato-dextrose-agar (PDA) poisoned culture technique was used, placing a 0.5 cm diameter disc of the pathogen in the center of Petri dishes with 20 mL of PDA plus organic and/or chemical product and incubated at 27 °C. The pathogen identified was *C. gloeosporioides*. All chemical fungicides with doses of 0.025 to 0.070 mg/20 mL, inhibited 100 % the development of the pathogen. Plant extracts Progranic[®] Neemacar (75 %) and Alfa (94 %) at 0.200 mL/20 mL, showed a fungicidal effect by controlling 100 % growth, sporulation and germination of the phytopathogen. Our findings show the potential of plant extracts to be used as part of preventive management to combat anthracnose.

INTRODUCCIÓN

El limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) es considerado uno de los cítricos de mayor importancia económica a nivel mundial, debido a la alta demanda para consumo en fresco y uso industrial (Mejía 2019). México es uno de los principales países productores y exportadores de limón persa en el mundo, ocupando el segundo puesto con más de 85 000 ha destinadas a la producción de este cultivo (SIAP 2023). En 2023 registró un poco más de 749 mil t de fruta exportada, principalmente a Estados Unidos de América, Países Bajos y Reino Unido, con ganancias económicas que alcanzaron los 672 millones de dólares en beneficio de toda la cadena agrocomercial (SADER 2024). Sin embargo, al igual que otros cultivos la producción de limón persa enfrenta diversos problemas fitosanitarios como la presencia de hongos patógenos. Una de las enfermedades más importantes que afectan a este cultivo en pre y poscosecha es la antracnosis cuyo agente causal es *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) responsable de ocasionar pérdidas en el rendimiento de hasta 70 % afectando directamente la calidad del fruto (Timmer et al. 1994).

El manejo sanitario convencional que se ha utilizado como método recurrente de control de la enfermedad ha sido a base de plaguicidas sintéticos (Zhou et al. 2016), principalmente con carbendazim, mancozeb, captán y benomilo, ingredientes activos presentes en los fungicidas más utilizados hasta en 48 % por los productores y en concentraciones mayores a 7 % para el control de enfermedades fúngicas (García-Hernández et al. 2018). Sin embargo, el uso excesivo de fungicidas químicos con moléculas altamente tóxicas ha demostrado ser nocivo a la salud

humana, detrimental de la fertilidad y contaminante del suelo y el agua, la cual conforma los ecosistemas acuáticos como ríos, lagos y zonas costeras (Ntalli et al. 2017, Daneel et al. 2018, García-Hernández et al. 2018, Rudolph et al. 2019). Es por ello por lo que es necesaria la búsqueda de alternativas efectivas con alto grado de compatibilidad ambiental e inocuas al ser humano (Ju et al. 2019).

Una estrategia biotecnológica que en los últimos años ha retomado gran importancia, es el uso de extractos vegetales con propiedades fungicidas y fungistáticas, debido a que contienen sustancias fitoquímicas capaces de contrarrestar el crecimiento de hongos fitopatógenos, además de no contaminar el ambiente, no ser tóxicos para las poblaciones humanas, no generar residualidad en alimentos y generar un efecto fitotónico en las plantas (Martínez et al. 2019, da Costa et al. 2021).

Diversos estudios han demostrado el efecto benéfico de los extractos vegetales y el potencial de ser utilizados como un agente antimicrobiano natural debido a la presencia de compuestos bioactivos como los terpenos, entre los que se encuentran el pineno, canfeno, limoneno y eucaliptol, los cuales ayudan en el control de patógenos fungosos (Hussein et al. 2020).

Landero (2013) reporta que los extractos a base de ajo (*Allium sativum* L.) y canela (*Cinnamomum zeylanicum* Need.) a una concentración de 35 %, suprimieron 100 % el crecimiento micelial, la esporulación y la germinación de conidios de *Colletotrichum gloeosporioides*. Asimismo, Verdugo-Contreras et al. (2023) informan de una inhibición en el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* de 52 a 73 % con el extracto de chayotillo (*Datura discolor*) a una

concentración de 2 y 4 % peso/volumen (p/v). Por otra parte, Satapathy y Beura (2018) inhibieron el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* en 74.85, 63.23 y 54.89 % con los extractos vegetales de *Aegle marmelos*, *Ipomoea carnea* y *Pongamia pinnata*, respectivamente, a una concentración de 15 %. Similarmente, Hegde et al. (2014) informan del efecto fungicida de la azadiractina a 2.5 y 5 % sobre *C. gloeosporioides* al inhibir el crecimiento micelial y la esporulación en 89.25 y 100 %, respectivamente. A su vez, Kwowura et al. (2019) al emplear los extractos etanólicos de neem (*Azadirachta indica* L.) y chile (*Capsicum annuum* L.) a una concentración de 100 %, lograron inhibir el crecimiento micelial en 71.64 y 73.88 % y la esporulación en 81.47 y 90.85 % del fitopatógeno *C. gloeosporioides*. Por otro lado, Archana et al. (2023) reportan una inhibición del 100 % en el crecimiento y desarrollo de *C. gloeosporioides* con el uso de extractos vegetales etanólicos al 5 y 10 % de *Prosopis julifera*, *Eucalyptus globules*, *Lantana camera*, *Azadirachta indica*, *Ocimum tenuiflorum*, *Allium sativum* y *Curcuma longa*. Aguilar-Alonso et al. (2013) señalan que, tanto los extractos oleosos de ruda y capulín a una dosis de 500 y 750 mg/L, así como los extractos etanólicos de ruda y pirul a dosis de 150 y 300 mg/L, presentaron un 60 % de inhibición sobre *C. gloeosporioides*, al afectar la velocidad de crecimiento máximo y crecimiento radial del hongo fitopatógeno.

Con base a lo antes mencionado, los objetivos de esta investigación fueron: 1) determinar la etiología de la antracnosis con base en los postulados de Koch (Agrios 2005) y 2) evaluar la efectividad in vitro antifúngica de extractos vegetales en contraste con fungicidas químicos para seleccionar los mejores tratamientos orgánicos que logren inhibir el desarrollo de colonias fungosas de *C. gloeosporioides*, considerando que la información generada puede ayudar a reducir los daños en campo de manera preventiva provocados por este hongo fitopatógeno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento e identificación cultural del hongo

El muestreo en campo se realizó en octubre 2023 en la huerta “Flores Guillen” ubicada en el Ejido Viejo, Guerrero, México (16°56'53.2"N-99°56'45.8"O y 24 msnm), con una temperatura promedio de 31 °C, una precipitación anual de 1571 mm y una humedad relativa de 60 %. Las muestras vegetales que consistieron en 60 hojas y frutos, se recolectaron de árboles de limón persa con síntomas de antracnosis

(Fig. 1a-b). El aislamiento del patógeno se realizó a partir de cámara húmeda (Fig. 1c). Fragmentos de hojas y epidermis de frutos de aproximadamente 1 cm², fueron previamente lavados con agua corriente; desinfectados con hipoclorito de sodio (NaClO) al 1 % por 30 s, lavados con agua destilada estéril por 1 minuto y secados con papel Sanitas® estéril (Fapsa, TI2250, Mexicali, B.C, Méx.). Los fragmentos del material vegetal fueron depositados en cajas Petri con papel Sanitas® húmedo, distribuidos sobre portaobjetos estériles y se incubaron a 25 ± 1 °C por cinco días. Al visualizar signos (acérvulos) del patógeno en la superficie del tejido enfermo, se realizaron preparaciones tomando masas de conidios y se depositaron en portaobjetos para observar al microscopio óptico y confirmar el hongo de interés (Fig. 1d). Se obtuvo una cepa pura de *Colletotrichum* sp. a través de un cultivo monospórico (Echandi 1971). La identificación preliminar del hongo se realizó con base en las características culturales de las colonias, considerando color y forma de la colonia, aspecto del micelio, tamaño, segmentación y esporulación (Garcés et al. 2001), además de la morfometría de hifas y estructuras reproductivas en medio agar-papa-dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés) (BD Bioxon®) con apoyo de las claves taxonómicas propuestas por Bailey et al. (1996) y Barnett y Hunter (1998).

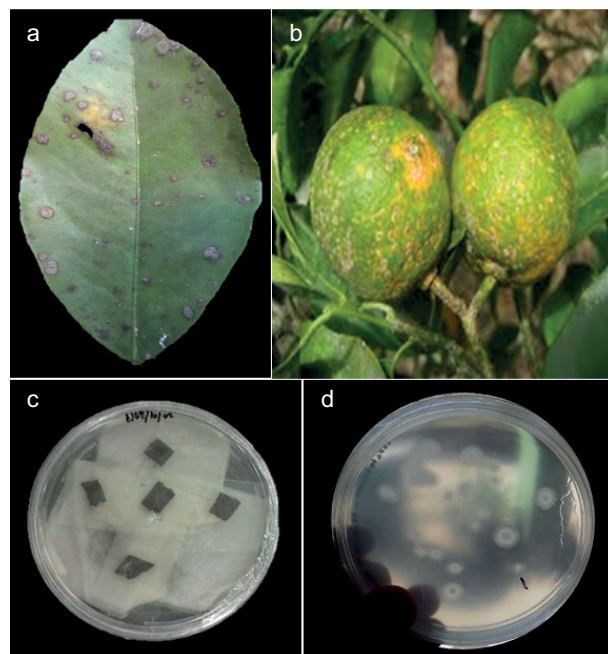


Fig. 1. Síntomas de antracnosis en hojas y frutos de limón persa asociados a *Colletotrichum* sp. (a-b). Aislamiento del patógeno por medio de cámara húmeda (c) y purificación a través de cultivo monospórico (d).

Prueba de patogenicidad

Para corroborar que los síntomas observados en el tejido recolectado en campo fueron ocasionados por el hongo aislado se utilizaron los postulados de Koch (Agrios 2005, Walker et al. 2006). La prueba de patogenicidad se llevó a cabo mediante la inoculación artificial en 36 frutos de limón previamente desinfectados con NaClO al 1 % por 1 min y enjuagados dos veces con agua destilada estéril, los que se dejaron secar a temperatura ambiente durante 15 min. Las técnicas de inoculación utilizadas fueron las siguientes:

1. Frutos de limón con y sin heridas de aguja y sacabocado inoculados con PDA + hongo (**Fig. 2a-c**).
2. Frutos de limón con y sin heridas de aguja y sacabocado inoculados con suspensión de conidios (**Fig. 2d-f**).

En la primera técnica de inoculación, se utilizó una caja Petri con PDA y crecimiento micelial del patógeno de cinco días de edad. Se realizaron dos incisiones en cinco frutos previamente desinfectados, con aguja de disección y cinco frutos con sacabocado a una profundidad de 2 mm, y cinco frutos sin herida, los cuales fueron inoculados depositando dos discos de 0.5 cm de diámetro de PDA que contenía micelio. Un fruto con herida de aguja de disección, sacabocado y sin herida inoculados con discos de PDA sin patógeno representó el tratamiento testigo (Velázquez-Silva et al. 2018). En la segunda técnica

de inoculación, se utilizó un cultivo puro de *Colletotrichum* sp. de cinco días de edad. En la caja Petri se vertieron 25 mL de agua destilada estéril y con un portaobjeto flameado se realizó un raspado suave para obtener la mayor cantidad de esporas. El líquido fue depositado en un vaso de precipitado para posteriormente ajustar el inóculo a 6×10^6 esporas/mL con ayuda de una cámara de Neubauer. Tres frutos, con herida de aguja, sacabocado y sin herida, fueron inoculados colocando una gota de 25 μ L de agua destilada estéril en el centro de cada uno de los dos puntos marcados, representando el tratamiento testigo y una gota de 25 μ L de la suspensión de conidios se inoculó sobre cinco frutos con heridas de aguja, sacabocado y cinco frutos sin herida. Después de la inoculación, los frutos fueron depositados en cajas de plástico sobre papel Sanitas® húmedo estéril e incubados durante 48 horas a 24 °C (Grice et al. 2022).

La patogenicidad se estimó con base en la presencia de síntomas como manchas necróticas circulares o deformes, el porcentaje de incidencia y la severidad del hongo sobre el fruto. La incidencia (I) se evaluó como el porcentaje de frutos afectados por el patógeno. La severidad (S) se evaluó como porcentaje de tejido afectado por el fitopatógeno utilizando la escala visual de Anculle y Álvarez (2006) y la ecuación sugerida por Anculle y Álvarez (1999).

$$\text{Incidencia (I)} = \frac{\text{Número de frutos enfermos}}{\text{Número total de frutos}} \times 100$$

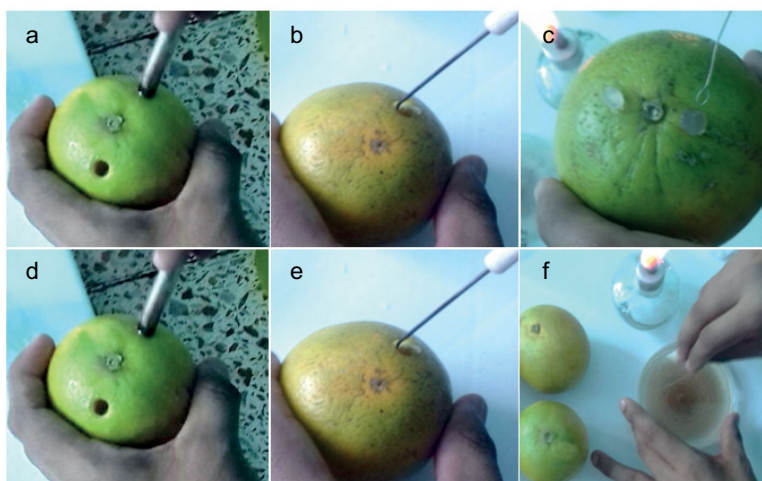


Fig. 2. Prueba de patogenicidad en frutos de limón persa. Inoculación con agar papa-dextrosa + hongo (discos de 5 mm Ø) sobre la epidermis del fruto con y sin herida (a-c). Inoculación sobre la superficie del fruto con una gota (25 μ L) de la suspensión de conidios de *Colletotrichum* sp. (d-f).

$$\text{Severidad (S)} = \frac{\text{Número de frutos de cada grado}}{\text{Número total de frutos}} \times 100$$

Efectividad in vitro de extractos vegetales y productos químicos sobre el control de *Colletotrichum* sp.

En el presente estudio se evaluó la efectividad antimicrobiana de los cinco extractos vegetales de amplio espectro más utilizados en la agricultura orgánica debido a su alta eficiencia en el control de enfermedades fungosas, baja toxicidad, baja residualidad en alimentos, fácil biodegradabilidad y mayor disponibilidad en el mercado (Campos et al. 2016, Teixeira et al. 2023) y se comparó con la efectividad de los seis fungicidas químicos más empleados en la agricultura convencional para el manejo sanitario de enfermedades fúngicas (García-Hernández et al. 2018). Los productos comerciales fueron donados por el laboratorio general de fitopatología del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo (**Cuadro I**).

La actividad antifúngica de los extractos vegetales y fungicidas químicos se evaluó in vitro con las siguientes dosis que representan los tratamientos para 20 mL de PDA: 1) Progran® Neemacar (75 %)

0.200 mL; 2) Regalia Maxx (20 %) 0.070 mL; 3) Progran® Alfa (94 %) 0.200 mL; 4) Progran® Omega (90 %) 0.200 mL; 5) Progran® Mega (95 %) 0.200 mL; 6) Switch® (62.5 %) 0.040 mg; 7) Headline® (23.60 %) 0.025 mg; 8) Luna Experience® (40 %) 0.044 mg; 9) Scala® (54.60 %) 0.070 mg; 10) Oxicob® (85 %) 0.060 mg; 11) Manzate® 200 WP (98 %) 0.045 mg y 12) tratamiento testigo (PDA sin producto) mediante la técnica de cultivo envenenado (Solimán et al. 2016). Se esterilizó medio de cultivo PDA a 120 °C por 15 min (Peñuelas et al. 2015). Las dosis de los productos comerciales y 20 mL de medio de cultivo se vertieron en cajas Petri, las cuales se mantuvieron en constante movimiento circular hasta obtener una mezcla homogénea. En el centro de las cajas se sembró un disco de 0.5 cm de diámetro de *Colletotrichum* sp. y se incubaron a temperatura ambiente de 27 °C. El ensayo se realizó bajo un diseño completamente al azar con cinco repeticiones. La unidad experimental fue una caja Petri con 20 mL de PDA solidificado combinado con producto orgánico y/o químico. El diámetro de la colonia (cm) del patógeno se midió cada 48 horas durante 22 días y se obtuvo el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial con la ecuación de Patil et al. (2014):

CUADRO I. EXTRACTOS VEGETALES Y FUNGICIDAS COMERCIALES UTILIZADOS EN LA INVESTIGACIÓN CON LA DOSIS RECOMENDADA POR LOS FABRICANTES (SYNGENTA Y BAYER MÉXICO).

Nº Trat	Producto	Ingrediente activo	Dosis para 20 mL de agar papa-dextrosa
1	Progran® NeemAcar	Extracto de neem y canela (<i>Azadirachta indica</i> , <i>Cinnamomum zeylanicum</i>)	0.200
2	Regalia Maxx	Extracto de hierba nudosa gigante (<i>Reynoutria sachalinensis</i>)	0.070
3	Progran® Alfa	Extracto de ajo (<i>Allium sativum</i>)	0.200
4	Progran® Omega	Extracto de chicalote (<i>Argemone mexicana</i>)	0.200
5	Progran® Mega	Extracto de gobernadora (<i>Larrea tridentata</i>)	0.200
6	Switch®	Cyprodinil y Fludioxonil	0.040
7	Headline	Piraclostrobina	0.025
8	Luna Experience	Fluopiram y tebuconazole	0.044
9	Scala®	Pyrimethanil	0.070
10	Oxicob	Oxicloruro de cobre	0.060
11	Manzate 200 WP	Mancozeb, manganeso, zinc	0.045
12	Testigo absoluto	-	-

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{(D1 - D2)}{D1} \times 100$$

Dónde:

D1 = crecimiento diamétrico (en cm) del patógeno en el testigo

D2 = crecimiento diamétrico (en cm) del patógeno en el tratamiento

Asimismo, se evaluó la densidad de esporulación (conidios/mL) y viabilidad (Unidades Formadoras de Colonias por mililitro, UFC/mL) según Vélez et al. (1997) y Viera et al. (2018). El experimento se replicó dos veces.

Análisis de datos

Los resultados obtenidos del porcentaje de efectividad de los extractos vegetales y fungicidas, se sometieron a una prueba de normalidad de Shapiro-Wilk y homocedasticidad de Bartlett, con 99.9 % ($\alpha=0.001$) de confiabilidad (Shapiro y Wilk 1965, Arsham y Lovric 2011) y, posteriormente un análisis de varianza (Proc GLM). Se determinó la diferencia entre los tratamientos con la prueba de comparación de medias de Tukey a 95 % de confiabilidad mediante el programa estadístico SAS® versión 9.0 (SAS 2002). Las diferencias entre las medias se consideraron significativas con un valor $p \leq 0.05$. Antes del análisis de varianza, los datos del porcentaje de inhibición, incidencia y severidad se transformaron en $\text{sen}^{-1}(\sqrt{x/100})$ para reducir la variabilidad (Worku et al. 2025). Se realizó un análisis descriptivo de los datos que representan la media de dos réplicas $\pm$ desviación estándar (DE), coeficiente de variación (CV) y coeficiente de determinación (R^2), presentados en forma tabular.

RESULTADOS

Identificación cultural del hongo

El aislamiento obtenido de hojas y frutos enfermos mostró las siguientes características: colonia radial con margen entero, micelio blanco, denso, algodonoso y masa de conidios color salmón (Fig. 3a-b). Apresorios irregulares café oscuro, con una longitud de 9.2 a 90.2 μm (Fig. 3c). Conidios hialinos, unicelulares, elipsoidales o cilíndricos, con ambos extremos o un extremo redondeados y el otro puntiagudo de 14.1 x 34.7 μm (Fig. 3d). Las características culturales y morfométricas coincidieron con las ilustraciones de las claves publicadas por Barnett y Hunter (1998) y lo reportado en la literatura por N'Guettia et al.

(2014) y Rojo-Báez et al. (2017) para la especie *C. gloeosporioides*.

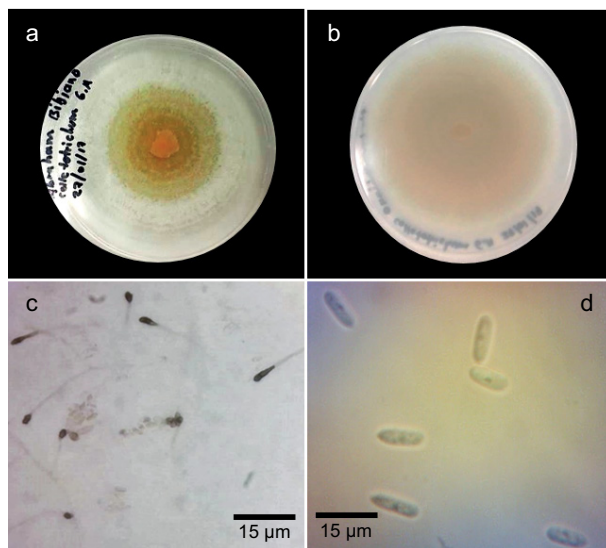


Fig. 3. Características macro y microscópicas de la especie *Colletotrichum gloeosporioides*, aislado de hojas y frutos de limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) con síntomas de antracnosis. Características culturales de la colonia del hongo en medio agar papa-dextrosa y a diez días de edad, observación por anverso y reverso (a-b). Apresorios (c) y conidios de *C. gloeosporioides* a 40x (d).

Prueba de patogenicidad

Los frutos exhibieron los primeros síntomas de manchas circulares amarillas y de color café cinco días después de la inoculación (ddi) con ambas técnicas de inoculación con y sin heridas y a los 10 ddi mostraron manchas necróticas circulares de color café sobre la epidermis del fruto, lesiones hundidas, húmedas y blandas (Fig. 4a-b). Conforme la infección avanzó, las manchas se tornaron café claro a marrón oscuro. Sobre las lesiones se presentó esporulación de color salmón y en algunos casos se desarrolló micelio blanco a partir de la lesión inicial (Fig. 4c-d).

Los frutos inoculados con agua estéril con y sin heridas permanecieron asintomáticos (Fig. 4e-f). El patógeno se volvió a aislar únicamente de frutos inoculados y su identidad se confirmó con los criterios morfológicos ya descritos, mismos que corroboraron los postulados de Koch (Fig. 4g-i). Se obtuvieron porcentajes de incidencia de 100 % sobre la totalidad de los frutos inoculados por *C. gloeosporioides*. Por otra parte, los resultados de severidad mostraron un daño significativo ($p < 0.0001$) al inocular el patógeno

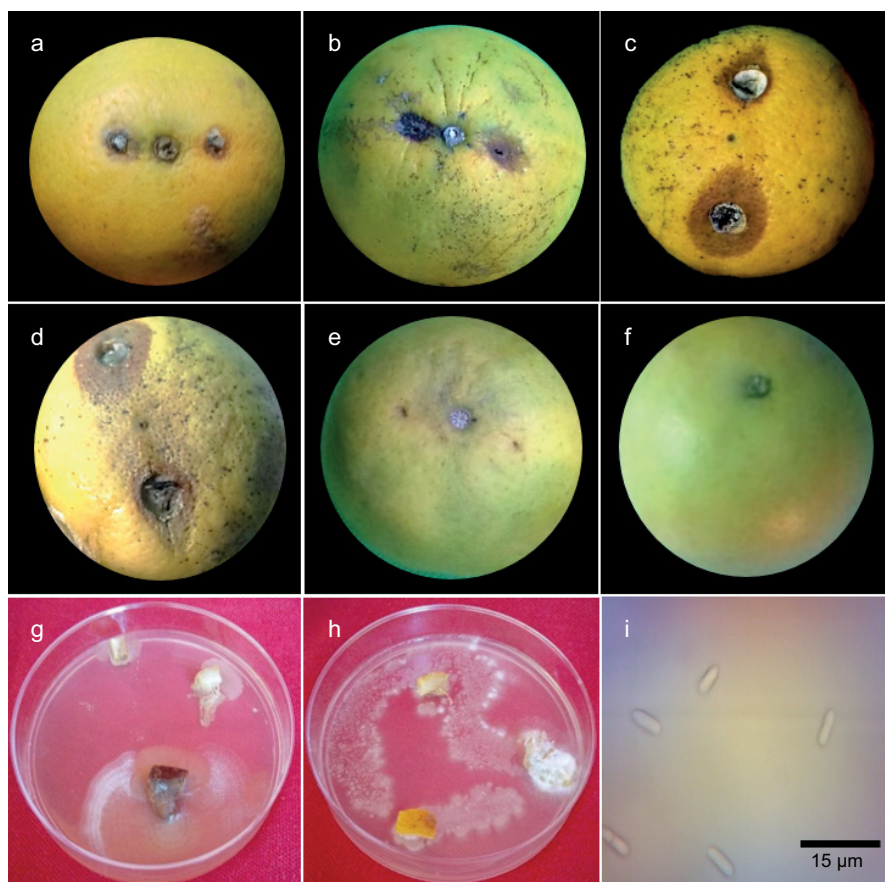


Fig. 4. Síntomas de antracnosis en frutos de limón persa inducidos por *C. gloeosporioides*. Necrosis de la epidermis con lesiones hundidas y húmedas en frutos inoculados (a-d). Epidermis de frutos sanos asintomáticos (e-f). Siembra de tejido de frutos inoculados con *C. gloeosporioides* y confirmación de los postulados de Koch (g-i).

en frutos de limón persa con heridas (**Cuadro II**), al causar lesiones con diámetros que variaban de 12 a 25 mm y en menor proporción en aquellos frutos inoculados con PDA + hongo y suspensión de conidios sin heridas, al generar lesiones de 8 a 14 mm ($p < 0.0001$, $\alpha = 0.05$).

Efectividad in vitro de extractos vegetales y productos químicos sobre el control de *Colletotrichum gloeosporioides*

La actividad antifúngica de once productos comerciales se determinó in vitro mediante la evaluación del desarrollo de *C. gloeosporioides* en medio de cultivo PDA envenenado. Los fungicidas químicos y extractos vegetales mostraron diferencia altamente significativa ($p < 0.0001$, $\alpha = 0.05$) en la inhibición de crecimiento del micelio, densidad de esporulación y viabilidad.

Todos los fungicidas de naturaleza química sintética, a dosis de 0.025 a 0.070 mg/20 mL de PDA

suprimieron 100 % el desarrollo micelial, esporulación y germinación conidial del fitopatógeno. Los extractos vegetales mostraron un efecto fungistático y fungicida, al inhibir de 49.19 a 100 % el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* (**Fig. 5, 6**).

Los extractos Progranic® Neemacar a una concentración de 75 % y Progranic® Alfa a 94 %, ambos a razón de 0.200 mL/20 mL de PDA exhibieron una actividad antifúngica prominente, al registrar un efecto biocida similar a los fungicidas químicos ($p > 0.05$) por inhibir 100 % el crecimiento micelial, esporulación y germinación de conidios de *C. gloeosporioides* en comparación con el tratamiento testigo, PDA sin producto ($p < 0.0001$).

El extracto Regalia® Maxx (20 %, 0.070 mL), Progranic® Mega (90 %, 0.200 mL) y Progranic® Omega (95 %, 0.200 mL) ejercieron el mismo efecto fungistático sobre el crecimiento micelial del hongo al inhibirlo 61.75, 52.46 y 49.19 %, respectivamente.

CUADRO II. INCIDENCIA Y SEVERIDAD DE LA ANTRACNOSIS EN FRUTOS DE LIMÓN PERSA INOCULADOS CON *C. gloeosporioides* DE ACUERDO CON LA FORMA Y TIPO DE INOCULACIÓN.

Forma y tipo de inoculación	Incidencia (%)	Severidad (%)
Frutos sin herida inoculados con agar papa-dextrosa + hongo y suspensión de conidios	100.0 ± 0.93 a*	15.9 ± 0.68 c
Frutos con herida de aguja inoculados con agar papa-dextrosa + hongo y suspensión de conidios	100.0 ± 0.84 a	49.6 ± 0.72 b
Frutos con herida de sacabocado inoculados con agar papa-dextrosa + hongo y suspensión de conidios	100.0 ± 1.87 a	97.6 ± 0.65 a
Valor de probabilidad (p-Value)	<0.0001	<0.0001
Coefficiente de variación (%)	12.5	2.75
Coefficiente de determinación (R ²)	0.91	0.99

* Medias con la misma letra dentro de columnas no difieren estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$). Cada valor representa un valor medio de cinco unidades experimentales por tratamiento en un ensayo replicado dos veces.

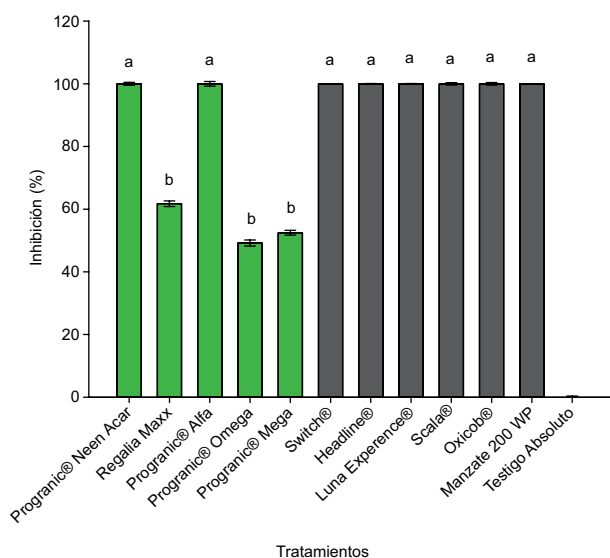


Fig. 5. Porcentaje de inhibición de extractos vegetales y fungicidas químicos sobre el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides*. Las líneas de error representan los intervalos de confianza del valor medio. Diferencia mínima significativa (DHS = 1.8551). Barras con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$).

Asimismo, los extractos botánicos mencionados anteriormente ejercieron un efecto similar al inhibir la esporulación del hongo fitopatógeno 68.4, 57.4 y 32.7 %, respectivamente, así como la germinación conidial de *C. gloeosporioides* 96.6, 93.2 y 81.3 % (**Cuadro III**).

Todos los extractos mostraron propiedades fungísticas, sin embargo, el mejor control se obtuvo

con Progranico® Neemacar (75 %) y Progranico® Alfa (94 %) los que, a los tres días de establecido el ensayo hasta finalizar la evaluación a los 22 días, inhibieron por completo el crecimiento y desarrollo del fitopatógeno causal de la antracnosis en limón persa (**Fig. 7**).

DISCUSIÓN

Identificación cultural del hongo

De acuerdo con las características culturales y morfométricas, *Colletotrichum gloeosporioides* se identificó y aisló de hojas y frutos con síntomas iniciales y avanzados de manchas necróticas asociados a la caída prematura de la fruta y defoliación de los árboles, lo cual coincide con lo reportado por N'Guettia et al. (2014) y Rojo-Báez et al. (2017), al ser *C. gloeosporioides* el principal agente causal de la antracnosis en el cultivo de limón persa (Verdugo-Contreras et al. 2023). Las cepas se caracterizaron por presentar una coloración que iba del blanco al salmón y conidios cilíndricos y elipsoidales, con ambos extremos o un extremo redondeados y el otro puntiagudo. Las cepas blancas y color salmón tienen características de *Colletotrichum gloeosporioides* descrito en limón persa (Verdugo-Contreras et al. 2023) y otras plantas hospedantes (Hasan et al. 2022). Este patógeno causante de la antracnosis de los cítricos representa una de las enfermedades de mayor importancia económica a nivel mundial, ya que afecta las etapas de pre y poscosecha, llegando a disminuir hasta 70 % el rendimiento del cultivo en huertos comerciales (Timmer et al. 1994).

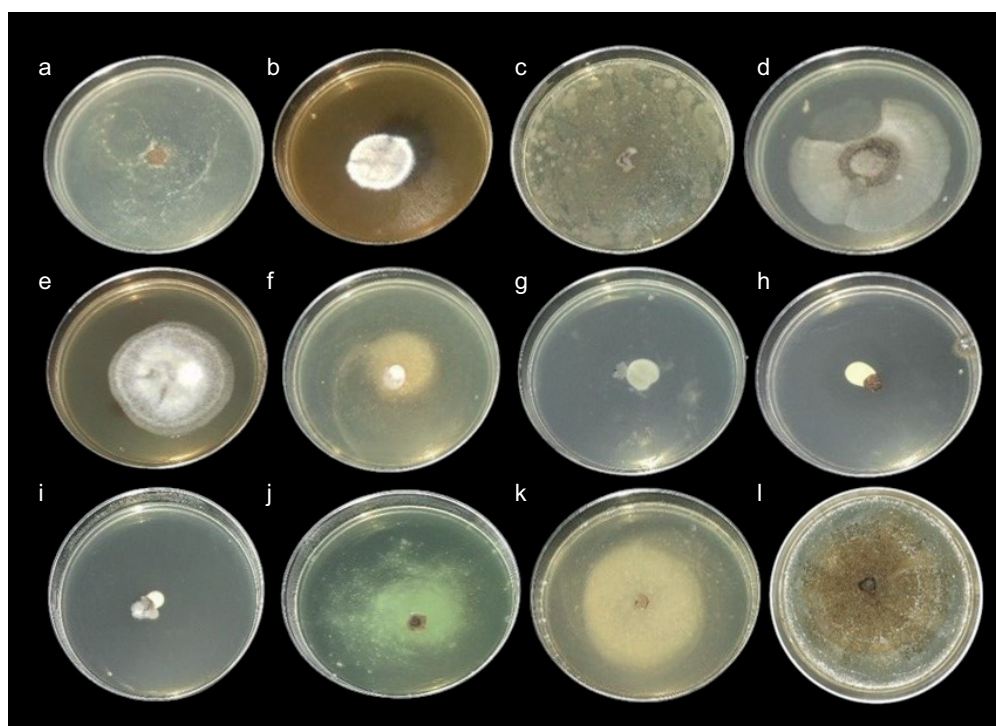


Fig. 6. Actividad antifúngica de extractos vegetales y fungicidas a las dosis recomendadas por el fabricante contra *C. gloeosporioides*: (a) NeemAcar; (b) Regalia Maxx; (c) Alfa; (d) Omega; (e) Mega; (f) Switch®; (g) Headline; (h) Luna experience; (i) Scala®; (j) Oxicob; (k) Manzate 200 WP y (l) Testigo absoluto.

CUADRO III. EFECTO DETRIMENTAL DE EXTRACTOS VEGETALES Y FUNGICIDAS EN LA ESPORULACIÓN Y VIABILIDAD CONIDIAL DE *C. gloeosporioides* AISLADO DE MATERIAL VEGETAL DE LIMÓN PERSA (*Citrus latifolia* Tanaka) CON SÍNTOMAS DE ANTRACNOSIS EN EL EJIDO VIEJO, GUERRERO, MÉXICO.

Tratamiento	ΦEsporulación (%)	ΦViabilidad (%)
	<i>C. gloeosporioides</i>	<i>C. gloeosporioides</i>
	Conidios/mL	ΨUFC/mL
Progranic® NeemAcar	0.0 ± 0.0 e*	0.0 ± 0.0 e
Regalia Maxx	1.93 × 10 ⁹ ± 0.35 d	2.08 × 10 ⁸ ± 0.16 d
Progranic® Alfa	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 e
Progranic® Omega	4.105 × 10 ⁹ ± 0.24 b	1.141 × 10 ⁹ ± 0.27 b
Progranic® Mega	2.6 × 10 ⁹ ± 0.19 c	4.13 × 10 ⁸ ± 0.18 c
Switch®	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 e
Headline	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 e
Luna Experience	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 e
Scala®	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 e
Oxicob	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 e
Manzate 200 WP	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 e
Testigo absoluto	6.1 × 10 ⁹ ± 0.13 a	6.1 × 10 ⁹ ± 0.13 a
Valor de probabilidad (p-Value)	<0.0001	<0.0001
Coefficiente de variación (%)	2.78	3.43
Coefficiente de determinación (R ²)	0.99	0.99

ΦEsporulación y Viabilidad estimada en 1.0 mL de una dilución 10⁻³ (equivalente a 6.1 × 10⁹ esporas). ΨUnidades Formadoras de Colonias (UFC/mL). * Medias con la misma letra dentro de columnas no difieren estadísticamente (Tukey, P ≤ 0.05). Cada valor representa un valor medio de cinco unidades experimentales por tratamiento en un ensayo replicado dos veces.

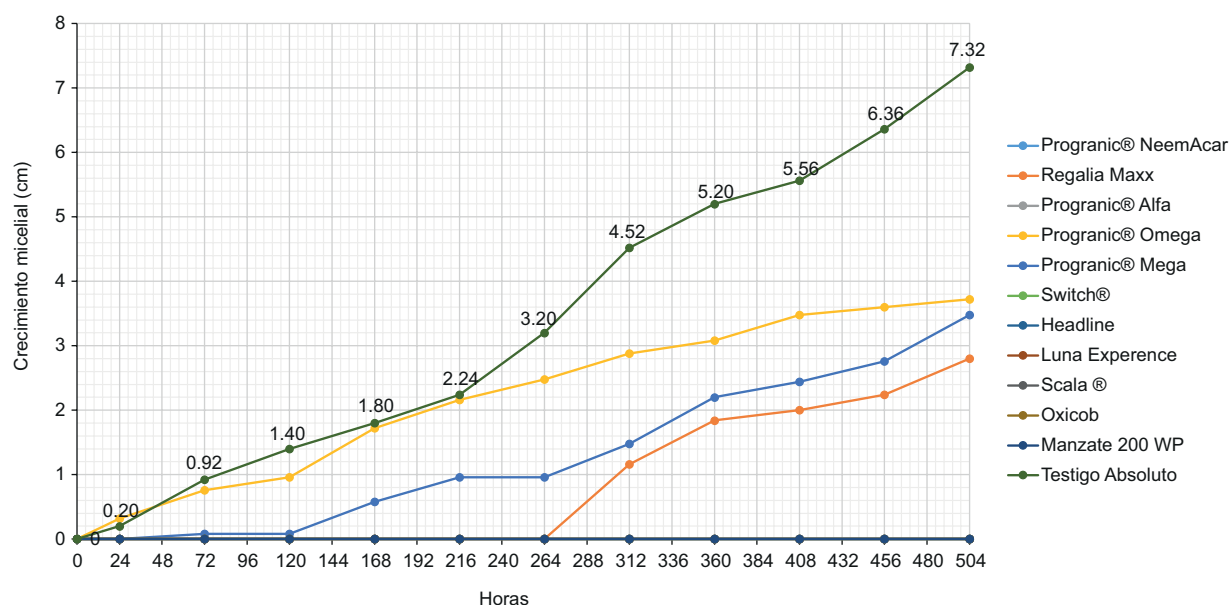


Fig. 7. Crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* tratado con extractos vegetales y fungicidas químicos con las dosis recomendadas por el fabricante.

Prueba de patogenicidad

El aislamiento obtenido de muestras vegetales de limón persa enfermo demostró ser patógeno, al replicar la sintomatología observada en campo. Los frutos a los 10 ddi, mostraron lesiones necróticas hundidas, húmedas y blandas que, al unirse, formaron manchas necróticas-marrón de 25 mm de diámetro. Resultados similares fueron reportados por Grice et al. (2022) quienes al inocular de forma artificial frutos de mango con el patógeno *Colletotrichum asianum* a través de una suspensión de conidios, lograron obtener lesiones de 16 a 20 mm de diámetro. Por otra parte, N'Guettia et al. (2014) al inocular frutos de mango Kent con el fitopatógeno *C. gloeosporioides*, obtuvieron lesiones de 6 a 25 mm de diámetro a los cinco días después de la inoculación. De forma similar, Hasan et al. (2022) reportan haber obtenido síntomas típicos de antracnosis causados por *C. gloeosporioides*, lesiones hundidas, circulares, necróticas con micelio sobre las lesiones, cinco días después de la inoculación en frutos de limón e incubados a 25 °C. Asimismo, se observó una mayor severidad ($p < 0.0001$) en el tejido necrosado a partir de la inoculación de los frutos con heridas en contraste con los frutos sin heridas. Velázquez-Silva et al. (2018) reportaron que la inoculación de frutos de pimienta gorda con diferentes aislamientos de *Colletotrichum* spp. mostró variabilidad en cuanto a la agresividad de acuerdo con la forma de inoculación.

En los frutos con herida hubo una mayor colonización y lesiones por parte del patógeno, ya que se facilita la entrada y el proceso de infección, causando una mayor severidad en la epidermis (Velázquez-Silva et al. 2018).

Efectividad in vitro de extractos vegetales y productos químicos sobre el control de *Colletotrichum gloeosporioides*

En el ensayo in vitro los productos químicos sintéticos presentaron un control total en el crecimiento, esporulación y viabilidad de *C. gloeosporioides*. Desde el establecimiento hasta finalizar el experimento, todos los fungicidas de naturaleza química con dosis de 0.025 a 0.070 mg/20 mL de PDA inhibieron 100 % al patógeno. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Orozco et al. (2006) quienes obtuvieron 100 % de inhibición del crecimiento y esporulación de *C. gloeosporioides* al utilizar Manzate 200 WP (Mancozeb) y Oxicob (oxicloruro de cobre) a dosis de 5 mg/L. A su vez, Guillén-Carvajal et al. (2023) reportaron 100 % de inhibición de *C. abscisum* y *C. gloeosporioides* con el fungicida químico de ingrediente activo tebuconazol, con una dosis de 5 mg/L. La efectividad de los agroquímicos es atribuida directamente a su capacidad de inhibir la biosíntesis de esteroides y por consecuencia afectar el crecimiento micelial y esporulación de hongos fitopatógenos (Gao et al. 2017).

Los extractos vegetales mostraron un efecto supresor en el crecimiento del patógeno. Todos los productos orgánicos ejercieron un efecto fungistático en el crecimiento micelial, esporulación y viabilidad de *C. gloeosporioides*. El tratamiento con Progranic® Neemacar (75 %, 0.200 mg) a base de extracto de neem y canela y Progranic® Alfa (94 %, 0.200 mg) con extracto de ajo, ejercieron un efecto fungicida al suprimir en 100 % el crecimiento, densidad de esporulación y germinación del hongo fitopatógeno. Resultados similares fueron obtenidos por Landero (2013) quien reportó que los extractos a base de ajo (*Allium sativum* L.) y canela (*Cinnamomum zeylanicum* Need.) suprimieron en 100 % el crecimiento micelial, la esporulación y la germinación de conidios de *Colletotrichum gloeosporioides*. Asimismo, Verdugo-Contreras et al. (2023) reportaron una inhibición en el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* de 52 a 73 % con el extracto de chayotillo (*Datura discolor*) al 2 y 4 % en el cultivo de limón persa. Hasan et al. (2022) reportan 97 % de inhibición en el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* aislado de limón al usar extracto metanólico de hojas de *Psidium guajava* a una concentración de 200 µg/mL. Yuan et al. (2024) reportaron una tasa de inhibición del micelio y esporulación en *C. gloeosporioides* de 100 % con el aceite esencial de romero, a una concentración de 300 µL/mL. Los compuestos bioquímicos de mayor presencia en los tejidos vegetales son taninos, flavonoides, alcaloides, fenoles y terpenoides (Noureen et al. 2023). Estudios previos han demostrado que los bioactivos volátiles de los aceites esenciales afectan las enzimas y la síntesis de los componentes de la pared celular (Ju et al. 2019, 2022) y degradan la quitina (Yuan et al. 2024) afectando el crecimiento del micelio y la esporulación. Los resultados obtenidos en el presente trabajo evidencian el potencial antifúngico de los extractos Progranic® Neemacar y Progranic® Alfa debido a que el neem contiene azadiractina, un tetranor-triterpenoide y el ajo un compuesto organoazufrado a base de dimetil-trisulfuro (Tang et al. 2020) que inhiben la síntesis de quitinasa que interviene en el desarrollo de la pared celular y la ramificación de hifas, así como en la autólisis durante la esporulación y germinación de esporas (Campos et al. 2016). Adicionalmente, este terpenoide y el compuesto organoazufrado, también modifican la composición de los ácidos grasos de la membrana celular de las bacterias, causando hidrofobicidad e inhibición de la síntesis de peptidoglicano afectando negativamente su supervivencia (Abd-Elmonsef et al. 2024).

CONCLUSIONES

Esta investigación demuestra la eficacia de los extractos vegetales en el control de enfermedades fúngicas como alternativa sustentable al uso de fungicidas químicos, al exhibir una prominente inhibición del crecimiento y desarrollo de *C. gloeosporioides*. Los productos comerciales Progranic® Neemacar y Progranic® Alfa inhibieron la síntesis de quitinasa y tirosinasa perjudicando el desarrollo de la pared celular y la ramificación de hifas dificultando el crecimiento, esporulación y germinación de esporas del fitopatógeno. Nuestro hallazgo proporciona una base teórica in vitro de la efectividad de los extractos a base de neem y ajo para una futura evaluación in situ para controlar la antracnosis en limón persa bajo un esquema de manejo preventivo. Sin embargo, aún se necesitan estudios adicionales para obtener una comprensión más profunda de los mecanismos moleculares a través de los cuales los extractos de plantas inhiben el crecimiento de *C. gloeosporioides*. Los fitoextractos ofrecen una prometedora vía para el desarrollo de prácticas agrícolas sostenibles y la producción de alimentos inocuos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas por las facilidades proporcionadas para la realización de la investigación y al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Rosario Izapa por su colaboración en la realización de este estudio, así como por las sugerencias técnicas que mejoraron este trabajo.

REFERENCIAS

- Abd-Elmonsef G.M., Rashed N.M., El-Ganainy S.M. y Salem S.H. (2024). Unveiling the neem (*Azadirachta indica*) effects on biofilm formation of food-borne bacteria and the potential mechanism using a molecular docking approach. *Plants* 13 (18), 2669. <https://doi.org/10.3390/plants13182669>
- Agrios G.N. (2005). *Plant pathology*. 5a ed. Elsevier, Burlington, EUA, 922 pp. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-02037-6>
- Aguilar-Alonso P., Navarro-Cruz A.R., Sánchez-Flores A.B., Meneses-Sánchez M.C. y Ávila-Sosa R. (2013). Efecto antifúngico de extractos de plantas originarias del estado de Puebla sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. *Ciencia UAT* 7 (2), 6-11.

- Anculle A. y Álvarez R. (1999). Evaluación de enfermedades de plantas. Estudio Arequipa, Perú. [en línea]. <https://es.scribd.com/document/151857253/Evaluacion-de-Enfermedades-de-Las-Plantas> 04/04/2025
- Anculle A. y Álvarez R. (2006) Evaluación de enfermedades de plantas. Arequipa, Perú. Senasa. [en línea]. <http://www.bioline.org.br/pdf/cg09021> 04/04/2025
- Archana A.M., Lokesh M.S., Hubballi M., Cholin S.S., Patil D.R., Jagadeesh S.L. y Ghandhe A.R. (2023). Fungicidal effect of plant extracts against *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. the causal agent of pomegranate anthracnose. The Pharma Innovation Journal 12 (2), 3787-3790.
- Arsham H. y Lovric M. (2011). Bartlett's Test. International Encyclopedia of Statistical Science 2, 20-23.
- Bailey J.A., Nash C., Morgan L.W., O'Connell R.J. y TeBeest D.O. (1996). Molecular taxonomy of *Colletotrichum* species causing anthracnose on the Malvaceae. Molecular Plant Pathology 86 (10), 1076-1083. <https://doi.org/10.1094/phyto-86-1076>
- Barnett H. y Hunter B. (1998). Illustrated genera of imperfect fungi. 2a. ed. APS Press, Minnesota, EUA, 197 pp.
- Campos E.V.R., de Oliveira J.L., Pascoli M., de Lima R. y Fraceto L.F. (2016). Neem oil and crop protection: From now to the future. Frontiers in Plant Science 7 (1494), 1-8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01494>
- da Costa G.D., Ribeiro W.R., Gonçalves D.C., Menini L. y Costa H. (2021). Recent advances and future perspective of essential oils in control *Colletotrichum* spp.: A sustainable alternative in postharvest treatment of fruits. Food Research International 150, Part A, 110758. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110758>
- Daneel M., Engelbrecht E., Fourie H. y Ahuja P. (2018). The host status of Brassicaceae to *Meloidogyne* and their effects as cover and biofumigant crops on root-knot nematode populations associated with potato and tomato under South African field conditions. Crop Protection 110, 198-206. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.09.001>
- Echandi E. (1967). Obtención de cultivos monospóricos por los métodos de dilución y rayado. En: Manual de laboratorio para fitopatología general (E. Echandi, Ed.). Turrialva, Lima, Perú, 51 pp.
- Gao Y.Y., He L.F., Li B.X., Mu W., Lin J. y Liu F. (2017). Sensitivity of *Colletotrichum acutatum* to six fungicides and reduction in incidence and severity of chili anthracnose using pyraclostrobin. Australasian Plant Pathology 46, 521-528. <https://doi.org/10.1007/s13313-017-0518-8>
- Garcés E.G., de Amezquita M.O., Bautista G.R. y Valencia H. (2001). *Fusarium oxysporum* el hongo que nos falta conocer. Acta Biológica Colombiana 6, 7-25.
- García-Hernández J., Leyva-Morales J.B., Martínez-Rodríguez I.E., Hernández-Ochoa M.I., Aldana-Madrid M.L., Rojas-García A.E., Betancourt-Lozano M., Pérez-Herrera N.E. y Perera-Ríos J.H. (2018). Estado actual de la investigación sobre plaguicidas en México. Revista Internacional de Contaminación Ambiental 34, 29-60. <https://doi.org/10.20937/rica.2018.34.esp01.03>
- Grice K.R.E., Bally I.S.E., Wright C.L., Maddox C., Ali A. y Dillon N.L. (2022). Mango germplasm screening for the identification of sources of tolerance to anthracnose. Australasian Plant Pathology 52 (3), 1-15. <https://doi.org/10.1007/s13313-022-00899-0>
- Guillén-Carvajal M.J., Umaña-Rojas G. y Varela-Benavides I. (2023). *Colletotrichum* species associated with anthracnose in orange (*Citrus sinensis* (L.) Osb.) and its in vitro control with fungicides. Agronomía Mesoamericana 34 (2), 1-16. <https://doi.org/10.15517/am.v34i2.52190>
- Hasan M.F., Ferdous J., Dutta A.K., Mina F.B., Karmakar S. y Sikdar B. (2022). Detection and biological control measures of anthracnose causing fungus isolated from *Citrus limon* (L.). Experimental Therapeutics 6 (1), 58-66. <https://doi.org/10.5455/jabet.2023.d106>
- Hegde R. Y., Chavhan L. T. y Keshgond S.R. (2014). Antifungal activity of plant extracts on *Colletotrichum gloeosporioides* infecting *Jatropha curcas*. The bioscan 9 (1), 283-286.
- Hussein K.A., Lee Y.D. y Joo J.H. (2020). Effect of rosemary essential oil and *Trichoderma koningiopsis* T-403 VOCs on pathogenic fungi responsible for ginseng root rot disease. Journal Microbiology and Biotechnology 30 (7), 1018-1026. <https://doi.org/10.4014/jmb.2002.02013>
- Ju J., Xie Y., Guo Y., Cheng Y., Qian H. y Yao W. (2019). The inhibitory effect of plant essential oils on food-borne pathogenic bacteria in food. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 59 (20), 3281-3292. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1488159>
- Ju J., Xie Y., Yu H., Guo Y., Cheng Y., Qian H. y Yao W. (2022). Synergistic interactions of plant essential oils with antimicrobial agents: A new antimicrobial therapy. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 62 (7), 1740-1751. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1846494>
- Kumar S., Bhanjana G., Sharma A., Sidhu M.C. y Dilbaghi N. (2014). Synthesis, characterization and on field evaluation of pesticide loaded sodium alginate nanoparticles. Carbohydrate Polymers 101, 1061-1067. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.10.025>
- Kwowura K.J., Sowley K.N.E. y Badii K.B. (2019). Antifungal activity of plant extracts against *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) the causative agent of yam anthracnose disease. Archives of Phytopathology and

- Plant Protection 52 (1-2), 218-233. <https://doi.org/10.1080/03235408.2019.1604303>
- Landero V.N. (2013). Extractos vegetales y *Trichoderma* spp. en el control de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. en frutos de papaya maradol (*Carica papaya* L.) en postcosecha. Revista Fitotecnia Mexicana 13, 32-45.
- Martínez J., Gómez A., Ramírez C., Gil J. y Durango D. (2019). Controlling anthracnose by means of extracts, and their major constituents, from *Brosimum rubescens* Taub. Biotechnology Reports 25, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00405>
- Mejía A.J.D. (2019). Efecto de la poda de fructificación por ventanas sobre la brotación, floración y fructificación del limón Mesina (*Citrus latifolia* Tan.) en finca Artaca S.A., Heredia, Sarapiquí, Costa Rica. Tesis de licenciatura, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Repositorio TEC del Instituto Tecnológico de Costa Rica. <https://hdl.handle.net/2238/11146> 04/04/2025
- N'Guettia M.Y., Kouassi N., Diallo H.A. y Kouakou F.R.Y.Y. (2014). Evaluation of anthracnose disease of mango (*Mangifera indica* L.) fruits and characterization of causal agent in Côte d'Ivoire. International Journal of Agriculture Innovations and Research 2 (6), 1008-1017.
- Noureen F.S., Rizvi F.Z., Hyder S., Gondal S.A., Latif M., Nazir M.H., Riaz N. y Habib F. (2023). Biochemical profiling of selected plant extracts and their antifungal activity in comparison with fungicides against *Colletotrichum capsici* L. causing anthracnose of chilli. Plant Stress 10, 100287. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100287>
- Ntalli N., Monokrousos N., Rumbos C., Kontea D., Zioga D., Argyropoulou M.D., Menkissoglu S.U. y Tsiropoulos N.G. (2017). Greenhouse biofumigation with *Melia azedarach* controls *Meloidogyne* spp. and enhances soil biological activity. Journal of Pest Science 91, 29-40. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10340-017-0909-1>
- Orozco S.M., Robles G.M.M., Jiménez J.L.V., Manzo S.G. y Timmer L.W. (2006). Biología y manejo integrado de antracnosis en cítricos. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Tecoman. Universidad de Colima. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Tecoman, Colima, México, 13 pp.
- Patil N.N., Waghmode M.S., Gaikwad P.S., Gajbhiye M.H., Gunjal A.B., Nawani N. y Kapadnis B.P. (2014). Potential of *Microbispora* sp. V2 as biocontrol agent against *Sclerotium rolfsii*, the causative agent of southern blight of *Zea mays* L. (Baby corn) in vitro studies. Indian Journal of Experimental Biology 52 (11), 1147-1151.
- Peñuelas R.O., Arellano G.M., Vargas A.I.C., Lares V.F., Cantú S.E.U., Hernández R.S.E., Gutiérrez C.M.A. y Mungarro I.C. (2015). Bioactividad in vitro de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata*) sobre la inhibición de hongos Poscosecha: *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus niger*, *Penicillium polonicum* y *Rhizopus oryzae*. Polibotanica 40, 183-198. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.40.12>
- Rojo-Báez I., Álvarez-Rodríguez B., García-Estrada S.R., León-Félix J., Sañudo-Barajas A., Allende-Molar R. (2017). Situación actual de *Colletotrichum* spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. Revista Mexicana de Fitopatología 35 (3), 549-570. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1703-9>
- Rudolph R.E., Zasadab I.A., Hesseb C. y DeVetterc L.W. (2019). Brassicaceous seed meal, root removal, and chemical fumigation vary in their effects on soil quality parameters and *Pratylenchus penetrans* in a replanted florican raspberry production system. Applied Soil Ecology 133, 44-51. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.08.024>
- SADER (2024). Ratifica México su posición como segundo productor y exportador mundial de limones y limas. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural [en línea]. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/ratifica-mexico-su-posicion-como-segundo-productor-y-exportador-mundial-de-limones-y-limas#:~:text=Ciudad%20de%20M%C3%A9xico%2C%20a%2011%20de%20septiembre%20de%202024.&text=A1%20cierre%20de%202023%2C%20M%C3%A9xico,de%20Agricultura%20y%20Desarrollo%20Rural.03/04/2025>
- SAS (2002). Version 9.0. Statistical Analysis System. Institute Inc., Cary, NC, EUA. [en línea]. https://www.sas.com/es_mx/software/stat.html 04/04/2025
- Satapathy R.R. y Beura K.S. (2018). Management of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Causing cashew anthracnose through botanicals. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 7, 3539-3543. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.709.439>
- Shapiro S.S. y Wilk M.B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). Biometrika 52, 591-611. <https://doi.org/10.1093/biomet/52.3-4.591>
- SIAP (2023). Producción de limón persa. Servicio de información agroalimentaria y pesquera. [en línea]. <https://www.gob.mx/siap> 04/04/2025
- Soliman M. H., Abdel-Fattah G.M. y Metwally E.A. (2016). Antagonistic interactions between the foliar pathogen *Botrytis fabae* Sard. and *Trichoderma harzianum* Rifai. Asian Journal of Plant Pathology 10, 21-28. <https://scialert.net/abstract/?doi=ajppaj.2016.21.28>
- Tang L., Mo J., Guo T., Huang S., Li Q., Ning P. y Hsiang T. (2020). In vitro antifungal activity of dimethyl trisulfide against *Colletotrichum gloeosporioides*

- from mango. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 36, 4. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2781-z>
- Teixeira A., Sánchez-Hernández E., Novera J., Cunha A., Cortés I., Marques G., Martín-Ramos P. y Oliveira R. (2023). Antifungal activity of plant waste extracts against phytopathogenic fungi: *Allium sativum* peels extract as a promising product targeting the fungal plasma membrane and cell wall. *Horticulturae* 9 (2), 136. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9020136>
- Timmer L.W., Agostini J.P., Zitko S.E. y Zulfiqar M. (1994). Postbloom fruit drop and increasingly prevalent disease of citrus in the Americas. *Plant Disease* 78 (4), 329-334. <https://doi.org/10.1094/pd-78-0329>
- Velázquez-Silva A., García-Díaz S.E., Robles-Yerena L., Nava-Díaz C. y Nieto-Ángel D. (2018). First report of *Colletotrichum* spp. in fruits of allspice (*Pimenta dioica*) in Veracruz, Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36 (2), 342-355. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1711-1>
- Vélez P.A., Posada F.J., Marín P., González M.T., Osorio E. y Bustillo A. (1997). Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. 17a. ed. Chinchiná, Caldas, Colombia, 37 pp.
- Verdugo-Contreras X.E., Martínez-Álvarez J.C., Díaz-Camacho S.P., Félix-Gastélum R., Leyva-Madrigal K.Y., Ibarra-Sarmiento C.R., Romero-Urías C. y Mora-Romero G.A. (2023). Antifungal activity of weed aqueous extracts on *Persian lime* anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Journal of Plant Diseases and Protection* 130, 293-300. <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00671-y>
- Viera W., Noboa M., Bermeo J., Báez F. y Jackson T. (2018). Parámetros de calidad de cuatro tipos de formulaciones a base de *Trichoderma asperellum* y *Purpuricillium lilacinum*. *Enfoque UTE* 9 (4), 145-153. <https://doi.org/10.29019/enfoqueute.v9n4.348>
- Walker L., Levine H. y Jucker M. (2006). Koch's postulates and infectious proteins. *Acta Neuropathologica* 112 (1), 1-4. <https://doi.org/10.1007/s00401-006-0072-x>
- Worku S., Kumlachew A. y Tsedale B. (2025). Combining plant extracts and hot water treatments for the management of postharvest mango anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). *Scientific Reports* 15, 5074. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-89587-9>
- Yuan T., Hua Y., Zhang D., Yang C., Lai Y., Li M., Ding S., Li S. y Chen Y. (2024). Efficacy and antifungal mechanism of rosemary essential oil against *Colletotrichum gloeosporioides*. *Forests* 15 (2), 377-390. <https://doi.org/10.3390/f15020377>
- Zhou Y., Zhang L. y Zeng K. (2016). Efficacy of *Pichia membranaefaciens* combined with chitosan against *Colletotrichum gloeosporioides* in citrus fruits and possible modes of action. *Biological Control* 96, 39-47. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.02.001>