



**Centro de Investigación en Alimentación y  
Desarrollo, A.C.**

**EXTRACTOS BIOACTIVOS DE *Cucurbita foetidissima* H.B.K Y  
SU POTENCIAL FUNGICIDA CONTRA EL FITOPATÓGENO  
*Fusarium* sp. EN FRUTOS DE MELÓN CANTALOUPE**

---

Por:

**Alonso Abdiel Martínez Gárate**

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL

Como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRÍA EN CIENCIAS**

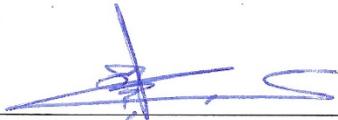
## APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Alonso Abdiel Martínez Gárate, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



---

Dra. Rosalba Troncoso Rojas  
Directora de Tesis



---

M.C. Alberto Sánchez Estrada  
Integrante del comité de tesis



---

Dra. Tania Elisa González Soto  
Integrante del comité de tesis



---

Dra. Ana Isabel Valenzuela Quintanar  
Integrante del comité de tesis

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Extractos Bioactivos de *Cucurbita foetidissima* H.B.K y su Potencial Fungicida Contra el Fitopatógeno *Fusarium* sp. en Frutos de Melón Cantaloupe” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor Alonso Abdiel Martínez Gárate, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director(a) de tesis.

 **CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN  
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.**  
Coordinación de Programas Académicos



---

Dr. Pablo Wong González  
Director General

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a CONACyT por la beca brindada para realizar mis estudios de Maestría y su invaluable apoyo para la realización del trabajo experimental.

Agradezco al CIAD por prestarme sus instalaciones para la realización de mi proyecto de Maestría y en especial a la CTAOV, por todo el apoyo que recibí del personal académico y administrativo.

Agradezco a mi directora de tesis, la Dra. Rosalba Troncoso Rojas, y asesores, el M.C. Alberto Sánchez Estrada, la Dra. Ana Isabel Valenzuela Quintanar y la Dra. Tania Elisa Gonzáles Soto, así como al resto de mi comité de tesis por el apoyo, la paciencia, el entusiasmo, y los consejos brindados a lo largo del desarrollo de éste trabajo de investigación.

A todo el personal de la CTAOV, y en especial a Jorge Mercado, Jesús Manuel, Javier Ojeda, Luis Robles, por el equipo de laboratorio, todo el tiempo apoyo técnico, aunque no fuera su responsabilidad.

A mis amigos de la maestría, Ezequiel, Luis, Pedro, Alejandro y Jhosep. Que nunca me fallaron cuando de salir de fiesta o de estudiar para los exámenes se trataba.

A mis amigos del centro del país, Joshua, Adriana, Brian, y Omar, y a mis primos Roberto y Juan Pablo, por atreverse a cruzar medio país para venir a visitarme y ayudarme durante algunos de mis experimentos

Y a toda la comunidad estudiantil, académica y administrativa del CIAD, porque hacen de éste inhóspito paraje un baluarte para la ciencia, la innovación y la tecnología en éste país.

## **DEDICATORIAS**

A mis padre Alejandro y mi madre Norma, porque aunque nunca entendieron mis motivaciones ni mis razones por estudiar una maestría tan lejos de casa, en todo momento me apoyaron para lograr terminarla.

A Diana, que ha sido mi apoyo emocional incondicional durante mi estadía en Hermosillo, y que siempre ha prestado su tiempo y cariño para ayudarme a superar cualquier problema.

## CONTENIDO

<b>APROBACIÓN</b> .....	2
<b>DECLARACIÓN INSTITUCIONAL</b> .....	3
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	4
<b>DEDICATORIAS</b> .....	5
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	9
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	11
<b>RESUMEN</b> .....	12
<b>ABSTRACT</b> .....	13
<b>1.INTRODUCCIÓN</b> .....	14
<b>2.ANTECEDENTES</b> .....	15
2.1 Importancia Económica y Particularidades del Melón Cantaloupe en México.....	15
2.2 Los Hongos Fitopatógenos: Causantes de Problemas Importantes en la Agricultura y la Postcosecha.....	16
2.3 <i>Fusarium</i> , Importante Género de Fitopatógenos.....	17
2.3.1 <i>Fusarium oxysporum</i> : Características y Patogenia.....	17
2.3.2 <i>Fusarium equiseti</i> : Características y Patogenia.....	20
2.3.3 <i>Fusarium solani</i> : Características y Patogenia .....	20
2.3.4 La Fusariosis como Problema Postcosecha .....	21
2.4 Fungicidas Empleados para el Control de <i>Fusarium spp</i> y otros Hongos Fitopatógenos.....	22
2.5 Compuestos Secundarios de Plantas y su Papel en la Defensa Contra Patógenos.....	24
2.5.2 Mecanismos de Acción de los Compuestos Vegetales Bioactivos.....	27
2.5.1 Los Extractos Vegetales Bioactivos Como una Alternativa a los Fungicidas Convencionales .....	28
2.6 <i>Cucurbita foetidissima</i> como Fuente Natural de Extractos Antifúngicos .....	31
<b>3.HIPÓTESIS</b> .....	32
<b>4.OBJETIVOS</b> .....	33
4.1 Objetivo General.....	33
4.2 Objetivos Específicos .....	33
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	34
5.1 Etapa I. Determinación de la Tolerancia de las Plantas <i>Cucurbita foetidissima</i> y <i>Cucumis melo</i> frente al Hongo Fitopatógeno <i>Fusarium oxysporum</i> .....	34
5.1.1 Obtención y Crecimiento de Plántulas.....	34
5.1.2 Preparación del Inóculo .....	34
5.1.3 Inoculación de Plántulas con <i>Fusarium sp</i> .....	35
5.1.4 Determinación del Desarrollo de la Fusariosis .....	35
5.1.4.1 Crecimiento de la planta: .....	35

## CONTENIDO (continuación)

5.1.4.2 Severidad de la enfermedad: .....	36
5.2 Etapa II. Obtención y Caracterización de los Componentes del Extracto	
Bioactivo de <i>Cucurbita foetidissima</i> .....	36
5.2.1 Obtención de Extractos de la Raíz de <i>Cucurbita foetidissima</i> .....	36
5.2.2 Caracterización Espectrofotométrica de Compuestos Secundarios en la Raíz de <i>Cucurbita foetidissima</i> .....	37
5.2.2.1 Determinación de fenoles totales: .....	37
5.2.2.2 Determinación del contenido de flavonoides:.....	37
5.2.2.3 Cuantificación de terpenoides: .....	38
5.2.2.4 Cuantificación de saponinas: .....	38
5.3 Etapa III. Determinación de la Capacidad Antifúngica del Extracto Bioactivo en el Crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>F. equiseti</i> .....	38
5.3.1. Método de Vertido en Pocillo .....	39
5.4 Etapa IV. Evaluación del Potencial Antifúngico del Extracto bioactivo para el control de <i>Fusarium equiseti</i> en Melón Cantaloupe y su efecto en la Calidad del fruto bajo Condiciones de Comercialización .....	40
5.4.1 Material Vegetal .....	40
5.4.2 Aplicación de Tratamientos .....	40
5.4.3 Evaluación Microbiológica.....	41
5.4.4 Evaluación Fisiológica.....	42
5.4.4.1 Pérdida de peso fresco: .....	42
5.4.4.2 Producción de etileno y dióxido de carbono:.....	42
5.4.5 Evaluación Fisicoquímica.....	43
5.4.5.1 Sólidos solubles totales (SST): .....	43
5.4.5.2 Firmeza: .....	43
5.4.5.3 Color: .....	43
5.5 Diseño Experimental .....	44
<b>6.RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>46</b>
6.1 Susceptibilidad de <i>Cucurbita foetidissima</i> y Melón Cantaloupe a <i>Fusarium oxysporum</i> .....	46
6.1.1 Efecto de la Fusariosis en el Crecimiento Vegetal .....	47
6.2 Identificación y Cuantificación de Compuestos Químicos del Extracto de <i>Cucurbita foetidissima</i> .....	51
6.2.1 Características de los Extractos de <i>C. foetidissima</i> .....	51
6.2.2 Cuantificación de Metabolitos Secundarios Mayoritarios.....	52
6.3 Análisis de la Actividad Antifúngica del Extracto de <i>Cucurbita foetidissima</i> en el Crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Fusarium sp.</i> .....	55
6.4 Análisis del Extracto de <i>C. foetidissima</i> sobre <i>F. equiseti</i> en Melón Cantaloupe y sobre sus Características Microbiológicas, Fisiológicas y de Calidad Postcosecha.....	60
6.4.1 Efecto del Extracto en las Características Microbiológicas del Melón Cantaloupe Infectado con <i>F. equiseti</i> .....	60

## CONTENIDO (continuación)

6.4.1.1 Efecto del extracto en la apariencia general del fruto: .....	60
6.4.1.2 Efecto del extracto en el crecimiento micelial del hongo: .....	60
6.4.3 Efecto del Extracto Bioactivo en la Fisiología de los Frutos de Melón	
Cantaloupe.....	62
6.4.3.1 Efecto del extracto en la pérdida de peso:.....	62
6.4.3.2 Efecto del extracto en la producción de etileno .....	63
6.4.3.2 Efecto del extracto en la producción de CO <sub>2</sub> .....	65
6.4.4 Efecto del extracto Bioactivo en la Calidad Postcosecha del Melón	
Cantaloupe.....	66
6.4.4.1 Efecto del extracto bioactivo en la firmeza:.....	66
6.4.4.2 Efecto del extracto en el porcentaje de acidez titulable:.....	68
6.4.4.3 Efecto del extracto en el pH.....	69
6.4.4.4 Sólidos solubles totales: .....	70
6.4.4.5 Cambio de color en pulpa: .....	71
<b>7.CONCLUSIONES</b> .....	74
<b>8.RECOMENDACIONES</b> .....	75
<b>9.REFERENCIAS</b> .....	76

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Diagrama general del proceso infeccioso de <i>Fusarium</i> sp. en planta.....	20
2	Características morfológicas de <i>F. oxysporum</i> <i>Fusarium equiseti</i> , y <i>Fusarium solani</i> .....	22
3	Síntomas de la fusariosis en frutos maduros de melón.....	23
4	Diagrama del mecanismo de defensa de las plantas ante el ataque de los fitopatógenos.....	26
5	Estructuras de algunos metabolitos secundarios comúnmente encontrados en plantas.....	27
6	Células de micelo de <i>F. oxysporum</i> antes (azul) y después (verde) de aplicación de extractos de <i>Allium ursinum</i> .....	29
7	Plántulas a los 10 días posteriores a la germinación.....	48
8	Efecto de la fusariosis en el crecimiento de plantas de melón y calabacilla, durante 30 días.....	49
9	Porcentaje de la severidad de la fusariosis en plantas de melón y calabacilla, durante 30 días.....	51
10	Lesiones causadas por <i>F. oxysporum</i> en raíces de plantas de melón y calabacilla.....	52
11	Efecto de los extractos de <i>C. foetidissima</i> en la inhibición <i>in vitro</i> del crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> .....	57
12	Efecto de los extractos de <i>C. foetidissima</i> en la inhibición <i>in vitro</i> del crecimiento de <i>Fusarium equiseti</i> .....	58
13	Efecto de los extractos de <i>C. foetidissima</i> en la inhibición <i>in vitro</i> del crecimiento de <i>Fusarium solani</i> .....	59
14	Frutos de melón en el día 0 (superior) del experimento, y en el día 9 (inferior), posterior a la aplicación de los distintos tratamientos.....	61
15	Vista interior de frutos de melón al día 18 de almacenamiento a 20° C y 88 % de H.R.....	63
16	Pérdida de peso porcentual en frutos de melón cantaloupe aplicado con el extracto de <i>C. foetidissima</i> y almacenado a 20 °C, 88% H.R.....	64
17	Efecto del extracto de <i>C. foetidissima</i> en la producción de etileno ( $\mu\text{LC}_2\text{H}_4/\text{Kg.h}$ ) en frutos de melón cantaloupe a 20 °C, y 88% H.R.....	65
18	Producción de dióxido de carbono ( $\text{mL CO}_2/\text{Kg.h}$ ) en frutos de melón cantaloupe a 20 °C, y 88% H. R.....	67

## LISTA DE FIGURAS (continuación)

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
19	Efecto del extracto de <i>C. foetidissima</i> en la firmeza de frutos de Melón, almacenados a 20 °C y 88% H.R.....	68
20	Efecto del extracto de <i>C. foetidissima</i> en el % de acidez titulable de frutos de melón cantaloupe almacenado a 20 °C y 88% HR.....	70
21	Efecto del extracto de <i>C. foetidissima</i> en el pH de frutos de melón cantaloupe durante almacenamiento a 20 °C, 88% H.R.....	71

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
1	Extractos vegetales empleados para el control de hongos fitopatógenos en condiciones <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> .....	31
2	Escala para la evaluación de severidad de la fusariosis.....	37
3	Tratamientos para determinar la capacidad antifúngica <i>in vitro</i> .....	41
4	Tratamientos empleados en melón cantaloupe.....	42
5	Contenido de metabolitos secundarios en los extractos de raíz de <i>C. foetidissima</i> .....	54
6	Contenido de sólidos solubles totales (% SST) en frutos de melón cantaloupe aplicados con el extracto de <i>C. foetidissima</i> y almacenados durante 12 días a 20 °C y 88% H.R.....	72
7	Efecto del extracto de <i>C. foetidissima</i> sobre el color en pulpa de frutos de melón cantaloupe almacenado a 20 °C y 88% H.....	73

## RESUMEN

*Fusarium* sp, causa severas afectaciones durante la siembra y cosecha del melón cantaloupe, para su control se emplea fungicidas sintéticos; sin embargo, dado el interés de emplear alternativas menos contaminantes para el medio ambiente se ha buscado compuestos vegetales con actividad fungicida. Una alternativa son los metabolitos secundarios de *Cucurbita foetidissima* (calabacilla), un vegetal silvestre que ha sido utilizado por los antiguos pobladores de esta zona como medicamento, y desinfectante. Investigaciones previas señalan que *C. foetidissima* es un hospedero asintomático de *Fusarium* sp; no se han encontrado estudios que demuestren si la aparente tolerancia a la fusariosis que tiene la calabacilla pueda deberse a los metabolitos secundarios presentes en su raíz. Por lo anterior, los objetivos del presente trabajo son evaluar la tolerancia de la calabacilla frente a *Fusarium* sp, evaluar el efecto antifúngico de un extracto de *C. foetidissima* frente a éste mismo hongo en condiciones *in vitro*, y en frutos de melón cantaloupe bajo condiciones de comercialización. Se determinó que *C. foetidissima* es más tolerante a la fusariosis que el melón cantaloupe (*Cucumis melo*). Se obtuvieron extractos de sus raíces empleando etanol y metanol como solventes. Usando espectrofotometría se cuantificaron los metabolitos, observando que los extractos metanólicos presentaron mayor concentración de fenoles, terpenoides y saponinas en comparación a los extractos etanólicos; estos últimos tuvieron una mayor concentración de flavonoides únicamente. Dichos extractos tuvieron una moderada actividad fungistática *in vitro* al ser aplicado a tres especies de *Fusarium*, siendo el extracto etanólico el que presento un efecto inhibitor mayor. Finalmente se probó la capacidad de los extractos para inhibir el crecimiento de *F. equiseti* en frutos de melón reticulado almacenados a 20 °C, donde se obtuvieron resultados poco significativos. Se concluye que *C. foetidissima*, tiene una aparente tolerancia ante la fusariosis, esta puede deberse a la presencia de metabolitos secundarios en su raíz como los flavonoides, fenoles, terpenoides y saponinas, dichos compuestos tiene actividad inhibitoria en condiciones *in vitro*, pero no son efectivos al usarlos como tratamiento postcosecha.

**Palabras clave:** *Cucurbita foetidissima*, fusariosis, extractos bioactivos, cucurbitáceas, metabolitos secundarios.

## ABSTRACT

*Fusarium* sp, causes severe affectations during the sowing and harvesting of Cucurbitaceae, among them cantaloupe melon. To combat these diseases, synthetic fungicides are used; however, given the interest of using less polluting alternatives for the environment, plant compounds with fungicidal activity have been sought. An alternative is the secondary metabolites of *Cucurbita foetidissima* (calabacilla), a wild vegetable that has been used by ancient residents as a medicine, and disinfectant. Previous research indicates that *C. foetidissima* is an asymptomatic host of *Fusarium* sp, no studies have been found to show if the tolerance to fusariosis that has *C. foetidissima* can be due to the secondary metabolites present in its root. Therefore, the objectives of the present work are to evaluate the apparent tolerance of calabacilla against *Fusarium* sp, evaluate the antifungal effect of an extract of *C. foetidissima* against this same fungus under in vitro conditions, and in fruits of cantaloupe melon under marketing conditions. It was determined that *C. foetidissima* is more tolerant to fusariosis than cantaloupe melon (*Cucumis melo*). Root extracts were obtained using ethanol and methanol as solvents. Using UV-VIS spectrophotometry, the metabolites were quantified, the methanolic extracts had a higher concentration of phenols, terpenoids and saponins compared to the ethanol extracts; the latter had a higher concentration of flavonoids only. These extracts had a moderate fungistatic activity in vitro when applied to three different species of *Fusarium*, with the ethanolic extract being the one that had a greater inhibitory effect. Finally, the ability of the extracts to inhibit the growth of *F. equiseti* in cantaloupe melon fruits stored at 20°C, showed little significant results. It is concluded that *C. foetidissima*, has an apparent tolerance against infections caused by *Fusarium* sp, this tolerance may be due to the presence of secondary metabolites in its root such as flavonoids, phenols, terpenoids and saponins, and that these compounds have inhibitory activity under in vitro conditions, but they are not effective when used at low concentrations as a post-harvest treatment.

**Keywords:** *Cucurbita foetidissima*, fusariosis, bioactive extracts, cucurbits, secondary metabolites

## 1. INTRODUCCIÓN

El género de fitopatógenos *Fusarium* causa algunas de las enfermedades más severas durante la siembra y cosecha de las cucurbitáceas, entre ellas el melón reticulado (Herrera *et al.*, 2013). Aunque no se conocen datos exactos, se estima que la pérdida de frutos por enfermedades relacionadas con *Fusarium* sp asciende al 17% (De Cara y Dianez, 2005). Para combatir dichas enfermedades suelen emplearse fungicidas sintéticos, sin embargo se ha observado que éstos compuestos resultan ser contaminantes ambientales que además representan un riesgo latente para el hombre (Zhi-Feng y Guang-Guo, 2015). Por esta razón se han buscado alternativas como los metabolitos secundarios vegetales con actividad fungicida, los cuales han demostrado tener potencial para el control de los fitopatógenos y de ser menos contaminantes que los fungicidas convencionales.

Los compuestos secundarios se encuentran en una amplia variedad de especies vegetales, una de sus funciones es la de proteger al organismo de patógenos y herbívoros (Mert-Türk, 2006). Estudios realizados en plantas silvestres y cultivadas, han demostrado que existe una correlación directa entre la concentración total de compuestos secundarios como fenoles, flavonoides y saponinas y su resistencia frente a fitopatógenos bacterianos y fúngicos como *F. oxysporum* (Wu *et al.*, 2010). Ésta característica ha evidenciado la existencia de plantas productoras de estos compuestos, como es el caso de la cucurbitácea xerófita silvestre *Cucurbita foetidissima*.

La *C. foetidissima*, también conocida como calabacilla loca, es un vegetal xerófito y silvestre que se desarrolla en regiones semiáridas del norte de México y del sur de E.U.A. Dicha planta ha sido utilizada por los antiguos pobladores como alimento, medicamento y desinfectante (Granados, 1999). También, a diferencia de otras cucurbitáceas, ha sido descrita como hospedero asintomático de *Fusarium oxysporum* (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2004). Estudios previos reportan que sus propiedades medicinales podrían deberse a la alta concentración de compuestos secundarios en raíz (Gaidi *et al.*, 2000). Este trabajo está orientado en investigar el potencial de los extractos de la calabacilla loca, como una alternativa natural a los fungicidas sintéticos empleados para el control de *F. oxysporum* en frutos de melón reticulado.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Importancia Económica y Particularidades del Melón Cantaloupe en México

El melón es un importante cultivo agrícola que es consumido y cultivado a lo largo y ancho del mundo. Tan sólo durante el 2017 se produjo un total de 605,134 toneladas de éste fruto en México, convirtiéndolo en el cuarto país productor del continente y el doceavo productor de este fruto a nivel mundial (FAOSTAT, 2019). El melón mexicano representa un ingreso de \$106 millones de pesos en exportaciones. Hasta el 2016 se cultivó una superficie de 20 mil hectáreas repartidas en 22 entidades, de las cuales Coahuila y Sonora poseen juntos el 40 por ciento de la producción nacional total. El melón ocupa el octavo lugar de entre las hortalizas con mayor importancia agrícola, y es la tercer cucurbitácea más cultivada después de la calabaza y la sandía. El melón es un fruto que está compuesto casi en su totalidad por agua (89%) teniendo un bajo contenido de carbohidratos y grasas, a pesar de esto tiene características nutrimentales que resultan sobresalientes (Holland et al., 1992). Contiene varios compuestos de interés como la vitamina C (42.20 mg/ 100g), vitamina A (5.520 mg/ 100g),  $\beta$ -caroteno, fitoflueno, fitoeno, ácido gálico y catequina, además de fibra dietética soluble e insoluble (1.4 g/100g) (Horax et al., 2005).

El fruto del melón reticulado tiene un comportamiento típico climatérico caracterizado por presentar un incremento súbito en sus procesos fisiológicos durante la maduración, sin embargo algunas variedades de melón reticulado presentan una tasa de producción baja de etileno, cualidad que pone en discusión su condición como fruto climatérico (Reyes-Avalos et al., 2017). Otra característica de este fruto es su exocarpo corchoso en forma de red, éste comienza a formarse entre los 30 y 45 días después de la floración; inicia como pequeñas fisuras en la piel, las cuales se van alargando exponiendo las células epidermales. Éste tejido que se forma no es continuo ni impermeable como la cutícula, se ha señalado que esta red es una estructura que favorece el intercambio de gases contribuyendo a la pérdida de agua por transpiración, provocando así que el fruto pierda peso y además sea susceptible al ataque de fitopatógenos (Pérez et al., 2003).

## 2.2 Los Hongos Fitopatógenos: Causantes de Problemas Importantes en la Agricultura y la Postcosecha

México es uno de los países más importantes en producción agrícola a nivel mundial. Para septiembre del 2016, la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación informó que los principales productos agrícolas del país superaron las 200 millones de toneladas (SAGARPA, 2017). Algunos de los productos mayormente cultivados son: maíz, frijol, caña de azúcar, papa, tomate, trigo, sorgo, aguacate, frutos como el mango y melón entre otros. Aunque no se cuentan con estadísticas concretas, estudios previos indican que las enfermedades causadas por fitopatógenos causan pérdidas considerables en la producción vegetal durante el periodo de cultivo y de cosecha en todas las especies vegetales antes mencionadas.

Dentro de estos fitopatógenos, los hongos son considerados como los principales agentes causantes de este deterioro microbiano. La literatura señala que existe un aproximado de 8,000 especies de hongos fitopatógenos que causan afecciones más o menos severas, de entre ellas destaca la fusariosis; enfermedad que causa marchitez vascular fulminante en la planta, y que dada a la naturaleza cosmopolita de su agente causal (*Fusarium spp*) afecta a la gran mayoría de las especies con importancia agrícola en México (Ruiz-López et al., 2005).

Numerosos estudios científicos realizados en nuestro país demuestran el creciente interés para caracterizar, combatir y mitigar los efectos de ésta y otras enfermedades causadas por hongos fitopatógenos y así desarrollar estrategias y tecnologías que combatan el impacto económico y social que la pérdida de la producción agrícola trae consigo. Trabajos como el de Trigos et al., (2008) donde se realizó un monitoreo mensual durante un año, en frutas y hortalizas vendidas en diferentes negocios de la ciudad de Xalapa, Veracruz, con el objetivo de determinar la incidencia de hongos fitopatógenos en algunos de los productos agrícolas más consumidos en el país. De los 344 aislamientos que obtuvieron, caracterizaron 27 especies, de las cuales *Alternaria sp*, y *Fusarium sp*, tuvieron una mayor presencia. Cabe destacar que los hongos mencionados son también capaces de producir metabolitos tóxicos para el humano (Figueroa-Rivera et al., 2010).

La mayoría de las variedades de melón reticulado son susceptibles a las infecciones provocadas por *Fusarium* sp en etapas de pre y postcosecha. En un estudio reportado por De Cara y Dianez, (2005) aislaron y caracterizaron 31 cepas de *Fusarium* sp en cultivos de melón del estado de Colima, a pesar de que dichos suelos habían sido tratados con bromuro de metilo (fungicida) tres meses antes. Se ha identificado a *Fusarium oxysporum* como la especie más patogénica para melón en campo, mientras que en postcosecha, recientemente se ha reportado que los hongos *F. equiseti* y *F. solani* son capaces de provocar pérdidas de hasta el 60% (Nuangmek et al., 2019).

## 2.3 *Fusarium*, Importante Género de Fitopatógenos

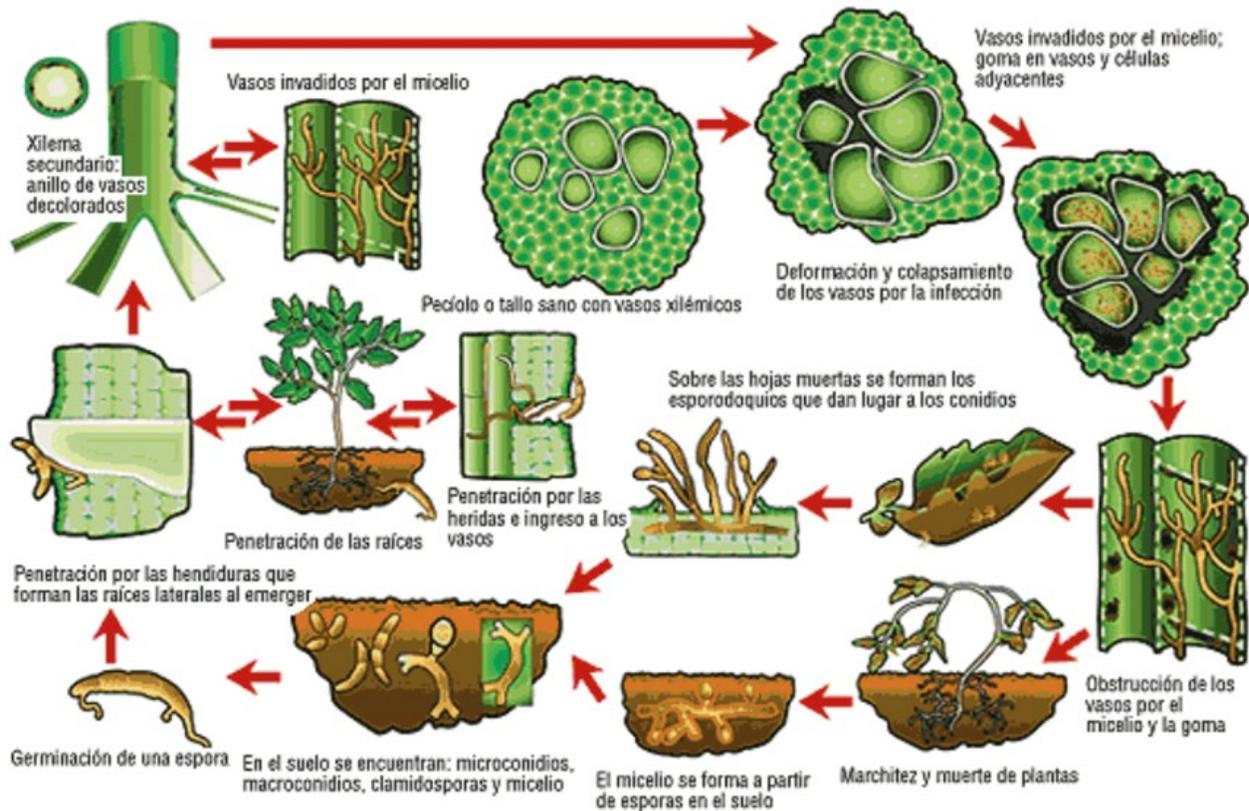
### 2.3.1 *Fusarium oxysporum*: Características y Patogenia

De las enfermedades microbianas que generan pérdidas en el cultivo y postcosecha del melón, destacan las ocasionadas por hongos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum*, hongo que ataca a la planta principalmente durante su cultivo (Zhao et al., 2011). Las prácticas agrícolas de monocultivo, la siembra de genotipos susceptibles, el daño a las plántulas durante su trasplante, factores climatológicos como el encharcamiento, y el aumento de la resistencia de los fitopatógenos ante las técnicas de control convencionales, han sido algunos de los causantes en el aumento de la gravedad en la infecciones de hongos fitopatógenos (Gava et al., 2016).

El ciclo de infección de *Fusarium oxysporum* en el melón es similar al resto de las cucurbitáceas. La infección inicial ocurre a partir de clamidosporas, éstas germinan produciendo hifas que penetran a través de la corteza de la raíz, sin embargo la enfermedad puede agudizarse más si existen heridas en las raíces. El hongo inicia colonizando la corteza de la raíz, penetrando hacia el tejido del sistema vascular (xilema) donde produce más micelio y microconidios, estos son movilizados con el flujo de agua y nutrientes hacia las hojas.

Una vez colonizado el haz xilemático, los síntomas de la fusariosis se agravan, provocando en pocos días la muerte de la planta (Figura 1). Si se ha producido la infección por *F. oxysporum* el hongo generalmente emerge solo después de la muerte de la planta (Larkin y Hopkins, 1990). Uno de los principales síntomas observables en la planta durante la infección de *F. oxysporum* es la presencia de manchones marrones en el cuello de la raíz, con una decoloración en el resto del tejido circundante reconocible en la sección longitudinal o transversal de las raíces y tallos. En sandía y melón es también visible en el exterior una raya necrótica de coloración marrón que se extiende a lo largo del tallo inferior y se desvanece superficialmente a lo largo de la enredadera.

*Fusarium oxysporum* generalmente produce marchitamientos más severos en suelos ligeros, arenosos y ligeramente ácidos cuando las temperaturas están entre los 25 y 27 °C, se ha observado que temperaturas más altas mitigan la infección, retardando el marchitamiento de la planta (Evert et al., 2014). Una vez establecida la infección fúngica en el xilema la planta responde produciendo tilosas en un intento de contener al hongo. Las tilosas son invaginaciones de células de parénquima que impiden el flujo del agua por el sistema vascular. Las tilosas deben formarse antes de que el hongo logre colonizar por completo el xilema, y detener la infección.



**Figura 1.** Diagrama del proceso infeccioso de *Fusarium* sp. en planta. Imagen del sitio web: <http://enfermedadesdeltomate1.blogspot.mx/2014/10/podredumbre-seca.html>

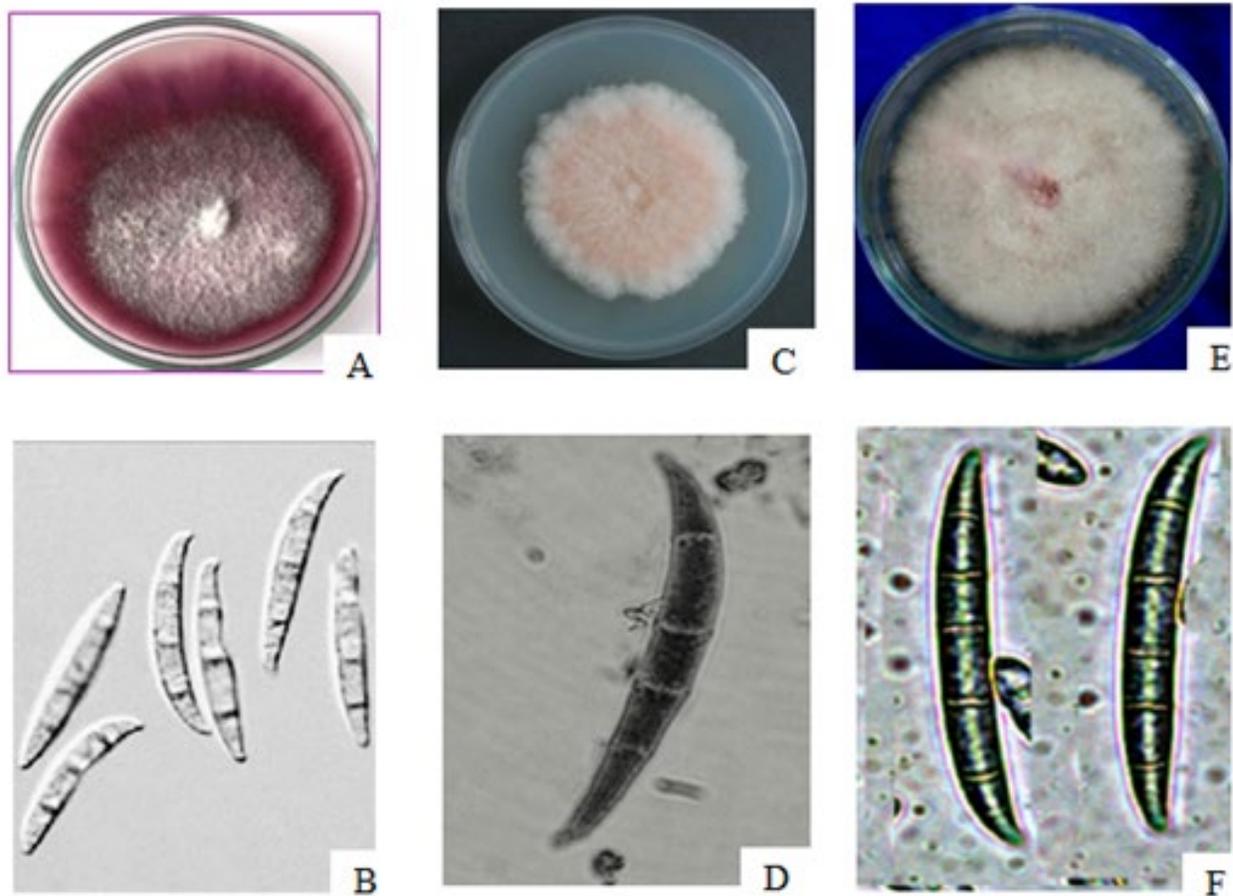
Sin embargo, en plantas susceptibles las tilosas se forman más lentamente permitiendo la propagación sistémica de la infección, esto a su vez desencadena una mayor producción de tilosas las cuales terminan restringiendo por completo el flujo del agua provocando el marchitamiento total del vegetal. Es aún desconocido hasta qué punto las toxinas fúngicas están involucradas en la patogénesis (Everts y Himmelstein, 2015). En condiciones *in vitro* produce micelio abundante de color blanco-rosado que adquiere una coloración morada más intensa con el tiempo. Esta especie forma macroconidias de entre 25 a 120  $\mu\text{m}$  de longitud con 5 o 6 septos (Figura 2 A-B).

### **2.3.2 *Fusarium equiseti*: Características y Patogenia**

Los frutos de melón no están exentos a sufrir el ataque de patógenos, una de las especies más devastadoras dentro del género *Fusarium*, es *F. equiseti*. Este fitopatógeno se desarrolla inicialmente en el exocarpo del melón, generando una lesión redondeada, con micelio de consistencia algodonosa de color blanquecino que posteriormente, se torna salmón (Figura 2 C-D). Mientras sucede la infección superficial, el apresorio del hongo penetrarán el exocarpo para comenzar a colonizar el interior del fruto (Ruiz-López et al., 2005). *F. equiseti* se desarrolla en áreas semiáridas como hongo saprófito, su rango óptimo de temperaturas para desarrollarse va de los 13 a 30 °C. En condiciones *in vitro* produce micelio abundante de color blanco-grisáceo que adquiere una coloración salmón con el tiempo. Esta especie forma macroconidias de entre 25 a 120 µm de longitud con 5 o 7 septas. Este hongo también ha sido descrito como formador de fumonisinas como la beauvericina, nivalenol o *equisetina*, las cuales han mostrado actividad anti-linfoblástica por lo cual son consideradas tóxicas para el ser humano (Leslie y Summerell, 2008).

### **2.3.3 *Fusarium solani*: Características y Patogenia**

Es una especie cosmopolita, que ha sido descrita como patogénica para una gran cantidad de especies vegetales, como los cítricos, las leguminosas y las cucurbitáceas. Es a menudo confundido con *F. oxysporum* dada la similitud en la morfología de ambos hongos, así como por crecer en suelos tropicales o de alta humedad. En condiciones *in vitro* produce micelio abundante de color blanco-grisáceo que puede adquirir coloraciones moradas o marrones a través del tiempo (Figura 2 E-F). Forma macroconidias de manera abundante, su forma es curvada con 3 o 7 septos (Leslie y Summerell, 2008)). Se ha descrito como capaz de degradar fitoalexinas (compuestos de defensa) como las kievitina y tomatina, esto lo hace capaz de infectar algunos cultivares de plantas de tomate y avena que podrían ser resistentes a otras especies de *Fusarium* (Défago y Kern, 1983; Páez, et al., 2008).



**Figura 2.** Características morfológicas de algunas especies de *Fusarium* sp: (A-B) *Fusarium oxysporum* Colonia *in vitro* y macroconidias (Dinler, y Benlioglu, 2016; Fourie et al., 2011), (C-D) *Fusarium equiseti* Colonia *in vitro* y macroconidias (Leslie y Summerell, 2008; Mahmood et al., 2012), (E-F) *F solani*. Colonia *in vitro* y macroconidias (Gogoi et al., 2017; Chehri et al., 2011).

### 2.3.4 La Fusariosis como Problema Postcosecha

La pudrición de frutos de melón causada por los fitopatógenos del género *Fusarium*, es una de las afectaciones económicas más importantes en México. Las especies asociadas con la enfermedad son: *F oxysporum*, *F. roseum*, *F. moniliforme*, *F. semitectum*, *F. acumminatum*, y *F. solani* (Guerrero-Ruiz, 2012). Prácticamente todas las variedades de melón reticulado muestran cierto nivel de susceptibilidad a la fusariosis; otros factores como la presencia de heridas, magulladuras

y los factores ambientales como la temperatura, encharcamientos, y los altos niveles de humedad favorecen el desarrollo de micelio, y consiguientemente de la enfermedad.

Las lesiones se presentan en cualquier parte del fruto maduro, sin embargo suelen ser más comunes en las áreas de contacto del melón con el suelo, así como en el extremo basal del mismo. Los daños que causa el patógeno suelen presentarse como: hundimientos, deshidratación de tejido (pérdida de peso), y pudrición en la pulpa. También puede existir una infestación del hongo internamente en la planta que después pase al fruto a través del sistema vascular. En casos así no se observa micelio en la parte exterior mientras el daño interno sigue avanzando infectando toda la pulpa, este puede apreciarse al momento de cortar el fruto como manchas de coloración blanquecina o rojiza claramente delimitada del tejido sano. (Everts y Himmelstein, 2015). Finalmente la pérdida de calidad del fruto aumenta notablemente conforme el paso del tiempo (Figura 3).



**Figura 3.** Síntomas de la fusariosis en frutos de melón. (A) Corte transversal de melón donde se observa una herida con pigmentación rojiza en el tejido infectado causada por *F. acuminatum*. (B) Corte longitudinal con lesión causada por *F. equiseti*. (C) Infección de *F. oxysporum f. sp. melonis* (Bruton y Duthie, 1996).

#### 2.4 Fungicidas Empleados para el Control de *Fusarium spp* y otros Hongos Fitopatógenos

La fusariosis no es un problema reciente, durante las últimas décadas ha crecido el interés por el control de esta enfermedad. Además de su considerable patogenicidad, *F. oxysporum* puede estar presente en el suelo durante varias temporadas de cultivo. Una vez que el fitopatógeno se introduce

en una parcela resulta complicado deshacerse de él, ya que su espora puede seguir viable por hasta un máximo de 20 años (Peñuelas-Rubio et al., 2017). El manejo de los fitopatógenos en el suelo es complicado; el control químico es la práctica más extendida, ya que es relativamente económica, sencilla de aplicar y eficaz en comparación a la rotación de cultivos, la solarización o el control biológico. Sin embargo para que el control químico tenga una efectividad fungitóxicas, dependerá de la concentración empleada, las condiciones ambientales, y el momento de la aplicación (se utiliza como tratamiento preventivo), así como de la biología del hongo en cuestión (Rubio-Reque et al., 2008).

Durante la segunda mitad del siglo XX y hasta principios del XXI se empleó de manera continua el fumigante y desinfectante de suelos Bromuro de metilo, para combatir la fusariosis en las cucurbitáceas. La elevada toxicidad del fungicida elimina otros organismos fitopatógenos como nematodos y malezas. Sin embargo es esta misma toxicidad la que ha impactado de manera negativa a la biodiversidad de hongos micorrízicos y demás organismos benéficos en el suelo. Así mismo la alta volatilización del Bromuro de metilo (hasta en un 95%), contamina la atmósfera y afecta directamente la capa de ozono. Además de éstos riesgos hay que agregar su peligrosidad para los operarios que lo aplican (Carrasco, 2008).

Otros compuestos empleados para el control de los hongos fitopatógenos son el 1,3-Dicloropropeno y el Isotiocianato de metilo, ambos suelen emplearse en forma de mezcla; sin embargo su alta volatilidad y su carácter de acción preventivo hace que su uso sea algo complicado y limitado. Además el 1,3-Dicloropropeno ha sido catalogado como carcinogénico y altamente tóxico para organismos acuáticos (Colla, 2012). Debido a las estrictas regulaciones ambientales impuestas a los fumigantes anteriormente mencionados, se han comenzado a utilizar compuestos que no fueron originalmente concebidos como fungicidas para la agricultura, algunos como el Benomilo, Bromuconazil, Carbendazim y Thiram (Wightwick et al., 2010). El Benomilo es un fungicida sistémico que impide el proceso mitótico de la célula, los otros tres se consideran fungicidas de contacto. Éstos afectan directamente las estructuras celulares del patógeno en la superficie de la planta. Dichos compuestos tienen un efecto preventivo y curativo limitado, y no están exentos de generar resistencia a los fitopatógenos.

Ésta resistencia aparece como respuesta al uso continuo de un mismo tipo de fungicida, y es heredada dentro de la población. En un estudio publicado por Rubio et al., (2008) se observó que los hongos *F. oxysporum* y *Rhizoctonia solani* no fueron inhibidos al utilizar 1500 y 3500 ppm de benomilo, respectivamente. El creciente interés en prácticas agrícolas más seguras y amigables con el medio ambiente, así como la presencia de cepas fúngicas resistentes a los fungicidas convencionales, ha despertado el interés en la investigación para el desarrollo de metodologías alternativas para el control de fitopatógenos. Una de las más promisorias son el uso de extractos bioactivos, o metabolitos secundarios con la capacidad de eliminar o atenuar a los hongos fitopatógenos.

## 2.5 Compuestos Secundarios de Plantas y su Papel en la Defensa Contra Patógenos

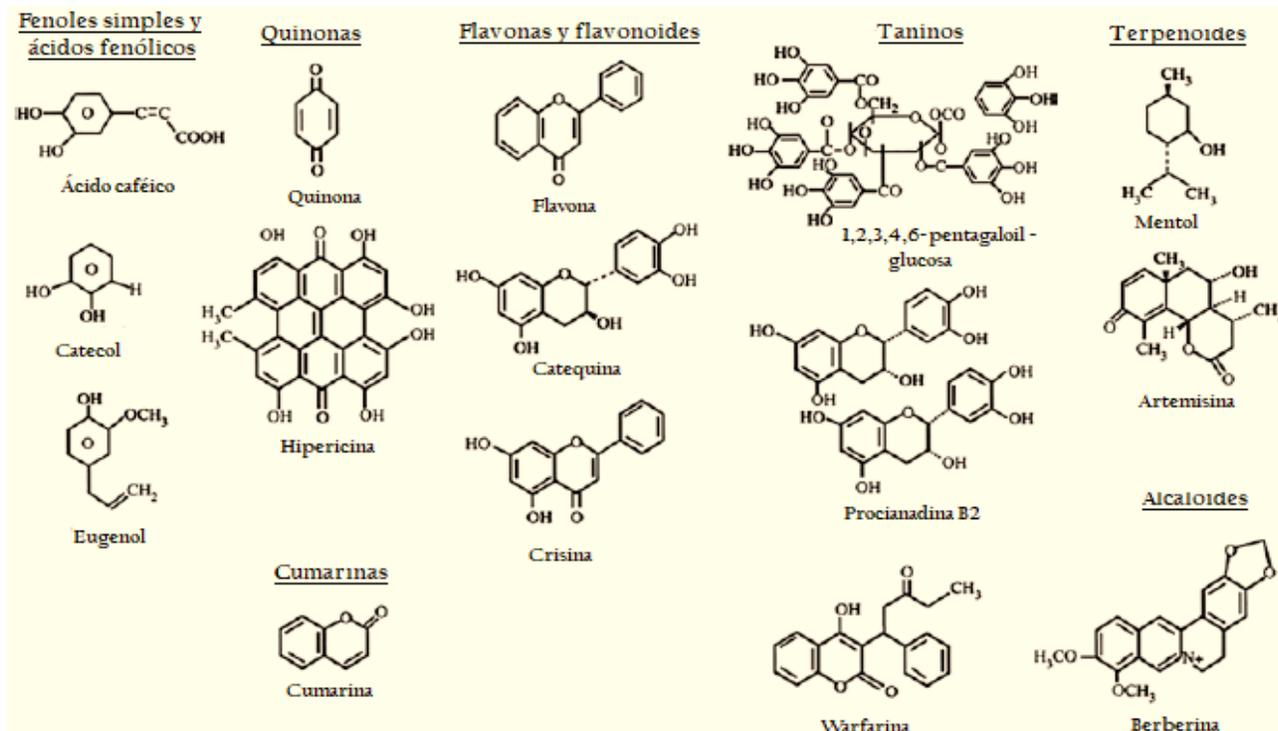
Como se ha mencionado a lo largo del escrito, todas las plantas son constantemente atacadas por organismos patógenos como; insectos, nematodos, bacterias, y hongos. Para combatirlos, los organismos vegetales han desarrollado una vasta cantidad de mecanismos de defensa físicos y bioquímicos, clasificados de acuerdo a su naturaleza de aparición: Constitutivas o Preformadas, Inducibles y Sistémicas Figura 4 (Villa-Martínez, 2015).

La primera línea defensiva vegetal frente a los patógenos es la defensa constitutiva. Ésta consta en su mayoría de defensas físicas, como las ceras epicuticulares, tricomas y la cutina, las cuales normalmente se encuentran en la superficie de hojas, tallos y frutos. La función de éstas es impedir la adherencia y germinación de esporas. Los mecanismos de lignificación, formación de calosas y suberización suelen estar antes del ataque de algún patógeno, o bien formarse al inicio del proceso infeccioso (Montes, 2009). El siguiente mecanismo de defensa en las plantas es de naturaleza química y bioquímica, éstos compuestos presentan una fuerte actividad tóxica o inhibidora, dichas sustancias se conocen como metabolitos secundarios. Se les denomina de esa manera ya que son sintetizados a partir de compuestos del metabolismo primario como azúcares, lípidos y aminoácidos, además de no estar involucrados en el desarrollo fisiológico del organismo (Rosado-Álvarez et al., 2014).



**Figura 4:** Diagrama general del mecanismo de defensa de las plantas ante el ataque de los fitopatógenos.

Se estima que aproximadamente entre el 1 al 10% del peso seco total en los vegetales está compuesto por metabolitos secundarios sintetizados para la defensa contra los depredadores (Tiku, 2018). Así mismo se ha reportado que las plantas sintetizan una gran variedad (varias decenas de miles) de metabolitos, como: lignina, fenoles, antocianinas, terpenoides, flavonoides, taninos, lectinas, glucosinolatos, saponinas, entre otros (Figura 5) (Goyal et al., 2012). Estos compuestos suelen encontrarse en concentración suficiente para eliminar o inhibir el desarrollo de los fitopatógenos. Tal es el caso de los fenólicos carvacrol y eugenol encontrados en bulbos de *Lilium sp*, los cuales son capaces de inhibir el desarrollo micelial *in vitro* de *Fusarium sp*. (Iturbide-Zuñiga et al., 2017). También se ha observado que las saponinas del azafrán (*Crocus sativus*) tiene la capacidad para inhibir en un 70% el crecimiento de las hifas de *Bipolaris spicifera* y *F. oxysporum* (Rubio-Moraga et al., 2013).



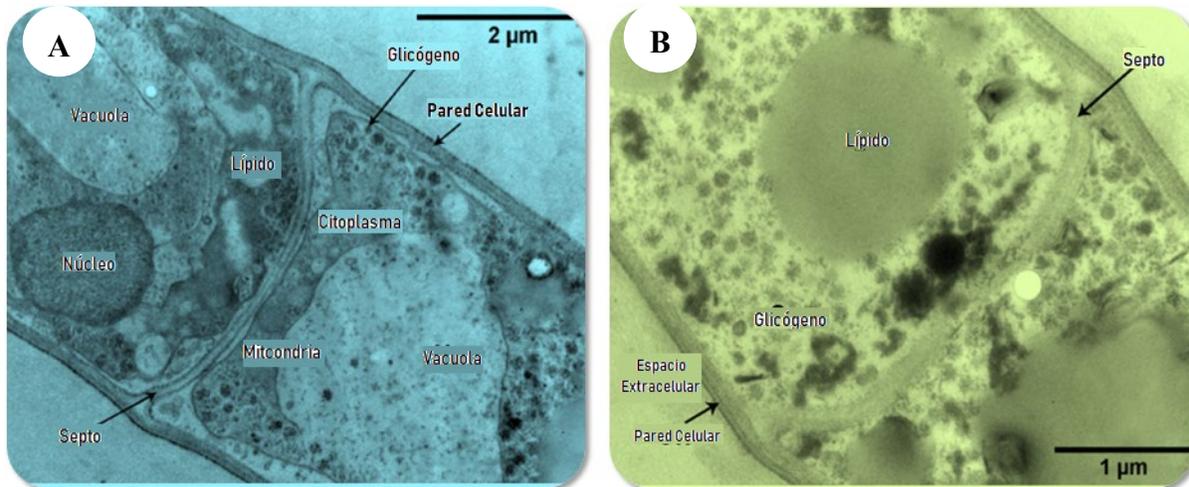
**Figura 5.** Estructuras de algunos metabolitos secundarios comúnmente encontrados en plantas. Tomado de Tiku (2018).

En el caso de la defensa inducida, esta es activada cuando ocurre el ataque de patógenos; consiste en una respuesta de señalización una vez que se ha reconocido el proceso infectivo. En éste mecanismo participan los elicitores, sustancias químicas que actúan en forma de inductores metabólicos de las fitoalexinas, las cuales desencadenan una respuesta bioquímica en las células atacadas (Wiesel et al., 2014). Algunas de las consecuencias que se desencadenan son: generación de especies reactivas de oxígeno (EROs), transducción de proteínas hidrolíticas como las quitinasas y glucanasas. Posteriormente la lignificación de la pared celular, la activación transcripcional de genes para la síntesis de moléculas defensivas como los taninos y las fitoalexinas, por último la activación de mensajeros secundarios como el etileno, ácido jasmónico, y salicílico que desencadenan una respuesta de defensa sistémica. Así como también la hipersensibilidad y muerte celular en el sitio de infección (INTAGRI, 2017).

### 2.5.2 Mecanismos de Acción de los Compuestos Vegetales Bioactivos

Dado que existe una inmensa variedad de compuestos descritos como antifúngicos y antimicrobianos, además de que poseen estructuras muy distintas entre sí, no se han dilucidado por completo los mecanismos de acción que los vuelven tóxicos para ciertos microorganismos, cabe destacar también que las plantas suelen tener un arsenal químico muy variado que les sirve para defenderse de distintos tipos de fitopatógenos. En la Figura 6 se aprecian dos micrografías de células de micelio de *F. oxysporum*, antes y después de haberseles aplicado extractos etanólicos de ajo silvestre a una concentración de 106 µg /ml, en ellas se aprecia cómo los organelos de la célula parecieran desaparecer mezclándose con el líquido intracelular.

Estudios como el de Osbourn, (1996) han propuesto que el mecanismo primario de acción de saponinas triterpénicas y de agliconas subyace en la interacción e éstos compuestos con las membranas de hongos. Estos compuestos actuarían de forma similar a los antibióticos poliénicos secuestrando los esteroides de las membranas de los hongos produciendo la disrupción del organelo y posteriormente lisis. Otros compuestos como flavonoides, rutina, quercetina, y kampferol han demostrado que pueden formar complejos con proteínas solubles extramembranales, causando disrupción en la membrana. Fenoles como el ácido gálico, el metil galiato y eugenol es capaz de inhibir el sistema enzimático P450, así como también interfiere en la ruta metabólica de la adenil-ciclasa (Rodriguez-Maturino et al., 2015).



**Figura 6.** Micrografías a 100x de micelio de *F. oxysporum* antes (A) y después (B) de la aplicación de extractos de *Allium ursinum* (Parvú et al., 2011) .

### 2.5.1 Los Extractos Vegetales Bioactivos Como una Alternativa a los Fungicidas Convencionales

El empleo de extractos vegetales para el control de plagas en plantas no es nada nuevo, antes del surgimiento de los agroquímicos se empleaban como plaguicidas polvos y extractos de crisantemo, rotenona, tabaco, gobernadora, entre otros (Villa-Martínez, 2015). Después del establecimiento de la industria agroquímica, la atención se volteó hacia los plaguicidas sintéticos. Sin embargo, sus implicaciones ambientales negativas, su peligrosidad en la salud humana, sus costos de producción elevados y su cada vez mayor ineficacia ha despertado nuevamente el interés en los compuestos de fuentes vegetales, como los aceites esenciales y extractos bioactivos. Dichas sustancias han demostrado su eficacia contra los fitopatógenos y cuentan con el soporte de numerosas investigaciones realizadas en gran parte de los países del mundo.

Un extracto vegetal bioactivo es la mezcla de metabolitos secundarios que tienen actividad biológica, como la capacidad de afectar a patógenos a una concentración específica (Goyal et al., 2012). Como ya se mencionó en apartados anteriores, éstos compuestos son en su mayoría aceites

esenciales, terpenoides, compuestos fenólicos y saponinas. Se encuentran de manera natural en tejidos como raíz, tallo, hoja, tubérculo y fruto sin madurar.

En el Cuadro 1 se presentan evidencias del uso de extractos vegetales para el control de diversas enfermedades causadas por hongos fitopatógenos. Los extractos vegetales bioactivos han demostrado ser un recurso novedoso y útil para el aprovechamiento de subproductos de frutas y hortalizas cultivadas, y también de plantas sin utilidad comercial, o que solían considerarse como plagas como es el caso de la *Cucurbita foetidissima*. Trabajos como el de Tequida-Meneses et al., (2002) donde se investigaron diversas plantas silvestres del desierto Sonorense demuestran que existe un potencial oculto en la biodiversidad de especies vegetales disponibles en los ecosistemas de México y del mundo entero.

Cuadro 1. Extractos vegetales empleados para el control de hongos fitopatógenos en condiciones *in vivo* e *in vitro*.

Hongo fitopatógeno	Compuestos bioactivos Tipo de extracto	Especie vegetal	Resultados obtenidos	Referencia
<i>F. oxysporum</i> y <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	Compuestos fenólicos	<i>Larrea tridentata</i>	El extracto MeOH de 4000 ppm permitió la <i>supervivencia</i> del 60% de plantas inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> en invernadero.	(Chaparro-Encinas, 2017)
<i>F. oxysporum</i> y <i>Colletotrichum gloesporoides</i>	Saponinas esteroideas	<i>Crocus sativus</i>	Extracto a 1500 ppm inhibió a <i>C. gloesporoides</i> hasta un 80% y a <i>F. oxysporum</i> un 52 %, ambos <i>in vitro</i> .	(Rubio-Moraga et al., 2013)
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> y <i>Meloidogyne incognita</i> (nematodo)	Polvo de semilla.	<i>Azadirachta indica</i>	El polvo funcionó como nematocida y fungicida, además de promover el crecimiento de la planta de tomate.	(Hadian et al., 2011)
<i>F. oxysporum</i>	Saponinas	<i>Chenopodium quinoa</i>	Inhibió <i>in vitro</i> el crecimiento del hongo en medio PDA hasta un 50%.	(Tenorio et al., 2010)

## 2.6 *Cucurbita foetidissima* como Fuente Natural de Extractos Antifúngicos

La calabacilla loca (*Cucurbita foetidissima*) es una planta xerofítica silvestre que crece comúnmente en zonas semiáridas (precipitación menor a 250 mm anuales) del Noroeste mexicano y el Suroeste de los Estados Unidos. La calabacilla loca se ha asociado a los grupos indígenas recolectores-cazadores los cuales consumían sus semillas como alimento, y de sus raíces y hojas empleaban extractos como medicamento y desinfectante (Granados y López, 1999). A pesar de no haber sido domesticada, la calabacilla presenta características deseables que le confieren la potencialidad de ser un cultivo aprovechable para las poblaciones que habitan en zonas donde el suelo suele ser considerado improductivo. De entre las características deseables de la planta, la resulta más importante para este estudio son los metabolitos secundarios procedentes de la raíz, como es el caso de las saponinas triterpénicas, entre éstas destacan los foetidissimósidos; grupo de compuestos que poseen una actividad antimicrobiana, antifúngica y citotóxica considerable (Jian et al., 2005).

Durante el siglo XX la calabacilla gozó de cierta popularidad en la comunidad científica, debido a sus características nutrimentales; sus semillas presentan un alto contenido de aceite; hasta un 30% en contenido total, (hasta un 63% es de ácido linoleico), contenido de proteína de hasta 31%, en sus raíces hasta un 60% de peso seco de almidón (Khoury et al., 1982). También Gaidi et al., (2000) aislaron tres saponinas triterpénicas únicas procedentes de la raíz de la planta. Esto puede sugerir el potencial fitoquímico que ésta cucurbitácea puede tener. Además de las características nutrimentales, la calabacilla loca es un vegetal que por su naturaleza xerofítica es resistente a la sequía y a los suelos salinos, también posee una tolerancia moderada a nemátodos como *Meloidogyne incognita*. Se ha reportado que es un hospedero asintomático de *F. oxysporum* (Apodaca-Sánchez et al., 2004). Sin embargo, aún no se han realizado estudios que documenten el potencial antifúngico de los extractos de ésta planta. Esto nos lleva a formular las siguientes preguntas de investigación ¿La calabacilla loca tendrá en sus tejidos compuestos con capacidad antifúngica? y siendo así el caso, ¿Al extraer dichos compuestos de la planta mantendrán su capacidad antifúngica al aplicarse en la cáscara de frutos de melón cantaloupe?

### 3. HIPÓTESIS

Los extractos de *C. foetidissima* tendrán un efecto antifúngico sobre *Fusarium* sp. *in vitro* y en frutos de melón cantaloupe, prolongando así su vida de anaquel bajo condiciones de comercialización.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo General

Evaluar el potencial antifúngico de extractos de *C. foetidissima*, sobre el fitopatógeno *Fusarium* sp. y su efecto en la calidad de frutos de melón, bajo condiciones de comercialización.

### 4.2 Objetivos Específicos

1. Determinar la tolerancia de *Cucurbita foetidissima* frente al hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum*.
2. Obtener y caracterizar los componentes mayoritarios de extractos de *Cucurbita foetidissima*.
3. Determinar la capacidad antifúngica de extractos de *C. foetidissima* en el crecimiento *in vitro* de *Fusarium* sp.
4. Evaluar el potencial antifúngico del extracto, en la calidad del melón cantaloupe, infectado con *Fusarium* sp., bajo condiciones de comercialización.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en laboratorio de Biotecnología Vegetal y Postcosecha de la Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal, del Centro de Investigación en Alimentación y desarrollo A.C, en Hermosillo, Sonora. El trabajo se realizó en cuatro etapas; cada una enfocada en cumplir los objetivos planteados en el apartado anterior.

### 5.1 Etapa I. Determinación de la Tolerancia de las Plantas *Cucurbita foetidissima* y *Cucumis melo* frente al Hongo Fitopatógeno *Fusarium oxysporum*

#### 5.1.1 Obtención y Crecimiento de Plántulas

Para la realización de éste experimento se utilizaron semillas de *C. foetidissima* (calabacita loca) adquiridas con un proveedor especializado en plantas silvestres (Strictly Medicinal Seeds, LLC, USA). Como control positivo se utilizaron semillas de melón (*Cucumis melo*) cantaloupe var. ‘Primo’ obtenidas de un fruto comprado en un supermercado local. Las semillas fueron lavadas, desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio al 6%, posteriormente sembradas en sustrato estéril tipo turba, e incubadas en una cámara de crecimiento con condiciones controladas de luz y temperatura (25°C, fotoperiodo de 16 h luz/ 8 h de oscuridad). Veinticinco días después de la germinación, las plántulas fueron trasplantadas a bolsas negras con sustrato preparado a una concentración 1:2:1, arena, turba y perlita, respectivamente (Aguilar-Gastélum et al., 2016).

#### 5.1.2 Preparación del Inóculo

De manera paralela, se obtuvo un inóculo de esporas de *Fusarium oxysporum* la cual se aisló previamente de plantas de melón y conservadas bajo refrigeración en el laboratorio de

Biotecnología Vegetal y Postcosecha. Para su resiembra se emplearon discos de micelio (5 mm de diámetro) que se colocaron sobre medio PDA. El hongo se incubó a una temperatura de 26 °C durante un total de 10 días. Posteriormente se preparó una suspensión de esporas de *F. oxysporum* siguiendo la metodología establecida por Camacho et al., (2012). Los conidios de *Fusarium* se colectaron raspando la placa de cultivo, empleando una solución de Tween 80 al 0.02% en agua destilada estéril. La suspensión se ajustó a una concentración de  $10^6$  conidios/mL.

### **5.1.3 Inoculación de Plántulas con *Fusarium* sp**

Las plantas de calabacilla y melón se infectaron 15 días posteriores al trasplante (aproximadamente de 22 a 25 días posteriores a la germinación). Para la inoculación con *F. oxysporum* se procedió a sumergir limpiar y después sumergir las raíces de las plantas en una suspensión de esporas  $1 \times 10^8$  durante un total de 10 minutos, siguiendo la metodología de Aguilar-Gastélum et al. (2016) con las modificaciones en tiempo y concentración de esporas. Inmediatamente después del proceso de inoculación las plantas fueron transferidas a un sustrato de tierra negra, turba y perlita (2:1:1), y colocadas en un estante iluminado y ventilado. Las plántulas se conservaron a  $27 \pm 5$  °C y 60% H.R., durante 30 días, con un ciclo de luz/oscuridad de 16:8h.

### **5.1.4 Determinación del Desarrollo de la Fusariosis**

La evaluación de la tolerancia a la fusariosis se hizo por medio de la comparación del desarrollo de la enfermedad entre las plantas de *C. foetidissima* y *C. melo* inoculadas con *F. oxysporum*, respecto al grupo control que no fue inoculado. Se emplearon 5 plantas por tratamiento, y se evaluaron los siguientes parámetros durante los 30 días que duró éste experimento.

5.1.4.1 Crecimiento de la planta: empleando una regla métrica se midió el largo de la planta, partiendo del cuello de la raíz hasta la punta de la rama apical.

5.1.4.2 Severidad de la enfermedad: se calculó empleando la escala hedónica reportada por Adorada et al., (2000) con modificaciones. Esta escala consta de 5 niveles, donde se asigna un valor de acuerdo al número de hojas cloróticas de la planta (Cuadro 2). Las plantas se revisaron cada 72 h durante 30 días; la severidad se expresó por medio de un porcentaje, el cual se determinó mediante la siguiente fórmula.

$$(1) \quad \text{Severidad}(\%) = \left[ \frac{\sum(\text{grado de sintomatología de plantas afectadas})}{\text{Número de plantas}} \right] * 100$$

Cuadro 2. Escala para la evaluación de los síntomas de la fusariosis.

Escala	Descripción de síntomas
0	Sin síntomas visibles
1	1 - 10% de hojas cloróticas
2	>10 - 25 % de hojas cloróticas
3	>25 - 50% de hojas cloróticas
4	>50 - 75% de hojas cloróticas
5	>75 - 100% hojas cloróticas o muerte de la planta

Fuente: Adorada et al., (2000).

## 5.2 Etapa II. Obtención y Caracterización de los Componentes del Extracto Bioactivo de *Cucurbita foetidissima*

### 5.2.1 Obtención de Extractos de la Raíz de *Cucurbita foetidissima*

Se recolectaron raíces de plantas de *C. foetidissima* silvestres, procedentes de zonas suburbanas de

Ciudad Cuauhtémoc, Chihuahua. El proceso de extracción es una adaptación al protocolo reportado por Chapagain et al., (2007). Las raíces fueron limpiadas con agua corriente para retirarles la tierra, y posteriormente fueron desinfectadas con  $\text{NaClO}_3$  al 6%. Las raíces se cortaron en trozos pequeños, éstos fueron secados empleando una estufa de convección de aire forzado, a  $60\text{ }^\circ\text{C}$  durante 72 h, la materia seca obtenida se pulverizó en un molino eléctrico. El polvo se maceró con dos solventes distintos (metanol y etanol) a una proporción de 1:3 p/v. Posteriormente se realizó una agitación continua a 120 rpm durante 8 días. El extracto se obtuvo empleando filtración al vacío, y se concentró hasta sequedad, como lo describe la metodología de Treviño et al. (2012). El pellet resultante se reconstituyó en un volumen conocido de metanol o etanol según sea el caso y después se almacenó a  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  en tubos revestidos con aluminio para su posterior análisis.

## **5.2.2 Caracterización Espectrofotométrica de Compuestos Secundarios en la Raíz de *Cucurbita foetidissima***

La caracterización parcial de cada uno de los extractos se realizó con base a los componentes mayoritarios comúnmente reportados en la literatura: fenoles totales, flavonoides, terpenoides y saponinas (Goyal et al., 2012).

5.2.2.1 Determinación de Fenoles Totales: La concentración de fenoles totales se midió de acuerdo al método reportado por Singleton et al., (1999). En la reacción se empleó el reactivo de Folin-Ciocalteu el cual es reducido por los compuestos fenólicos presentes en la solución; esto genera un compuesto colorimétrico que puede medirse por espectrofotometría UV-VIS. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 765 nm, y se cuantificó mediante una curva de calibración ( $r^2=97\%$ ) con un estándar de ácido gálico. Los resultados se reportaron como meq de ácido gálico/g de extracto en peso seco (p.s.).

5.2.2.2 Determinación del Contenido de Flavonoides: Éstos se calcularon mediante el ensayo espectrofotométrico de Zhishen y colaboradores (1999). Los flavonoides reaccionan con  $\text{AlCl}_3$

formando un complejo que puede absorber la luz a una longitud de onda de 415 nm. Los flavonoides se cuantificaron mediante una curva de calibración ( $r^2=98\%$ ) usando un estándar de quercetina. Los resultados se expresaron como meq de quercetina g de extracto (p.s.).

5.2.2.3 Cuantificación de Terpenoides: Se empleó la técnica espectrofotométrica de Ghorai, (2012) con algunas modificaciones. En ésta reacción los terpenoides en la solución reaccionan con  $H_2SO_4$  concentrado formando un complejo de color rojo-marrón el cual precipita con cloroformo. Finalmente se midió la absorbancia a una longitud de onda de 538 nm. La concentración de terpenoides en la muestra se cuantificó mediante una curva de calibración ( $r^2=98\%$ ) usando como estándar linalol. Los resultados se expresaron en mg de linalol/ g de extracto (p.s.).

5.2.2.4 Cuantificación de Saponinas: Se empleó la metodología espectrofotométrica descrita por Helaly et al., (2001). La reacción consiste en la formación de un complejo colorimétrico sapogenina – vainillina, en presencia de  $H_2SO_4$  concentrado. La reacción fue medida por medio de la absorbancia a una longitud de onda 435 nm. El contenido de saponinas en la muestra se calculó por medio de una curva de calibración ( $r^2=97\%$ ) usando como estándar ácido oleanólico y los resultados se reportaron como mg equivalentes de Ac. Oleanólico / g de extracto (p.s.).

Todas las determinaciones descritas en esta sección fueron cuantificadas empleando un espectrofotómetro UV-VIS marca “HACH” modelo DR 5000.

### 5.3 Etapa III. Determinación de la Capacidad Antifúngica del Extracto Bioactivo en el Crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* y *F. equiseti*

La capacidad de los extractos bioactivos de *C. foetidissima* para inhibir, eliminar, o retardar el crecimiento de *Fusarium* sp se evaluó sobre el crecimiento micelial *in vitro*. Con el fin de determinar la capacidad antifúngica de los extractos sobre el crecimiento micelial, se utilizó el método de pocillo.

### 5.3.1. Método de Vertido en Pocillo

En el método de vertido en pocillo, los extractos se vertieron en 5 pozos de 6 mm de diámetro ubicados a 23 mm del centro en una placa de Petri de 85 mm con medio PDA. En el centro de la placa se colocaron discos de micelio (6 mm de diámetro) de colonias de *F. oxysporum*, *F. equiseti* y *F. solani*. Se evaluaron dos concentraciones distintas de ambos extractos etanólicos y metanólicos de raíz, un control negativo con H<sub>2</sub>O destilada estéril, así como un control positivo con solvente (etanol o metanol a la misma concentración de los extractos) para comparación. Se realizaron 3 repeticiones por cada uno de los tratamientos, éstos se especifican en el Cuadro 3. Finalmente la capacidad inhibitoria de los extractos se determinó midiendo el diámetro del crecimiento del micelial de cada uno de los hongos cada 24 horas, y durante un total 10 días. La capacidad inhibitoria se expresó en porcentaje, y se obtuvo comparando el diámetro del crecimiento micelial en los tratamientos con respecto al control negativo (0%), empleando la fórmula propuesta por Chapagain et al. (2007).

$$(2) \quad \text{Capacidad inhibitoria (\%)} = \left[ \frac{DC}{dt} \right] \times 100$$

Dónde:

DC = Promedio del diámetro control

dt = Diámetro individual del tratamiento

Cuadro 3. Tratamientos para determinar la capacidad antifúngica *in vitro*

Código	Tratamiento
E.E.A	Extracto etanólico a una concentración de 17.3 µg/mL
E.E.B	Extracto etanólico a una concentración de 13.0 µg/mL
T.E.A	Testigo con etanol a una concentración de 33 µL/mL

T.E.B	Testigo con etanol a una concentración de 25µL/mL
M.E.A	Extracto metanólico a una concentración de 21.3 µg/mL
M.E.B	Extracto metanólico a una concentración de 16.0 µg/mL
T.M.A	Testigo con metanol a una concentración de 33 µL/mL
T.M.B	Testigo con metanol a una concentración de 25µL/mL

---

#### 5.4 Etapa IV. Evaluación del Potencial Antifúngico del Extracto bioactivo para el control de *Fusarium equiseti* en Melón Cantaloupe y su efecto en la Calidad del fruto bajo Condiciones de Comercialización

##### 5.4.1 Material Vegetal

Se emplearon frutos de melón cantaloupe (*Cucumis melo L.*) variedad “larga vida” de un huerto ubicado en la costa de Hermosillo, Sonora, el productor no nos especificó el cultivar de melón. Los frutos se seleccionaron solo si cumplían con las siguientes características: Exocarpo uniforme y sin daños visuales, estado de madurez dos (éste consiste en un desprendimiento de  $\frac{3}{4}$  del pedúnculo al jalar suavemente el fruto). Los frutos se lavaron y desinfectaron con una solución de 200 ppm de hipoclorito de sodio durante 3 minutos, finalmente se secaron para la aplicación de los tratamientos.

##### 5.4.2 Aplicación de Tratamientos

Los frutos desinfectados y secados se dividieron en cinco tratamientos, tal cómo se muestra en el Cuadro 4. Los frutos se inocularon sumergiendo la zona peduncular del fruto en una suspensión de esporas de *Fusarium equiseti* a una concentración de  $1 \times 10^7$  UFC durante 3 minutos. Una hora posterior a su inoculación, los frutos se sumergieron dentro de un recipiente con extracto etanólico

o metanólico (se eligió uno dependiendo de su capacidad inhibitoria *in vitro*) durante 2 minutos. Como tratamiento control se empleó el fungicida comercial Captan® a la concentración señalada por el fabricante. Los frutos se colocaron en una cámara de refrigeración a una temperatura de 20 °C y 88% H.R., durante 18 días. Éste estudio se dividió en tres categorías: Microbiológicas donde se evaluó los daños causados por el hongo fitopatógeno, Fisiológicas; donde se midieron los cambios en la producción de CO<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> y pérdida de peso, y Fisicoquímicos: Donde se evaluaron los cambios en la calidad postcosecha en el fruto.

Cuadro 4. Tratamientos empleados en melón cantaloupe.

<b>Código</b>	<b>Tratamiento</b>
T	Fruto de melón sin extracto, ni fitopatógeno
TI	Fruto de melón inoculado con fitopatógeno
IF	Fruto de melón inoculado con fitopatógeno y atomizado con fungicida Captan a una concentración de 1.0 g/L
IE	Fruto de melón inoculado con fitopatógeno extracto etanólico a concentración de 52 mg/mL
TE	Fruto de melón con extracto etanólico a concentración de 52 mg/mL

### 5.4.3 Evaluación Microbiológica

Cinco frutos por tratamientos se examinaron diariamente durante un total de 18 días para evaluar el progreso y la severidad de las lesiones causadas por el fitopatógeno, así como también la efectividad antifúngica del extracto. Se midió la lesión provocada por el fitopatógeno en la superficie del fruto con ayuda de un vernier. Los resultados se reportan como porcentaje de efectividad, mediante la siguiente fórmula:

$$(3) \quad \%Efectividad = 100 - \left[ \frac{DLFT * 100}{DLFI} \right]$$

Dónde:

DLFT: Diámetro de lesión del fruto tratado

DLFI: Diámetro de lesión del fruto inoculado (control negativo)

#### 5.4.4 Evaluación Fisiológica

5.4.4.1 Pérdida de peso fresco: Diariamente los frutos se pesaron en una balanza granataria. El peso perdido se expresó como porcentaje, y se obtuvo calculando respecto al peso del mismo fruto al inicio del experimento. Se emplearon un total de cinco frutos por tratamiento los cuales se evaluaron por un total de 12 días.

5.4.4.2 Producción de etileno y dióxido de carbono: Se determinó por medio de cromatografía de gases, empleando el método reportado por Martiñon et al., (2014). Se colocó cada fruto individualmente en un recipiente de plástico de 4 L de capacidad y se incubó durante 1h con el recipiente cerrado herméticamente, se tomó una muestra de 1 mL de los gases del espacio de cabeza con ayuda de una jeringa hipodérmica. El gas se inyectó en un cromatógrafo de gases Varian Star 3400cx, equipado con una columna Hayasep N; se emplearon dos detectores, uno de conductividad térmica para la detección de CO<sub>2</sub>, y otro de ionización de flama para la detección de etileno. Se utilizó N<sub>2</sub> como gas acarreador con un flujo de 25 mL/min. Para éste estudio se emplearon dos frutos por tratamiento. La producción de ambos compuestos se calculó de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$(4) \quad mL \ CO_2 \ Kg^{-1}h^{-1} = \frac{Apm * Cs * V}{Aps * Pm * t}$$

$$(5) \quad \mu L C_2H_4Kg^{-1}h^{-1} = \frac{Apm * Cs * V}{Aps * Pm * t}$$

Dónde:

Apm: Área del pico de la muestra

Cs: Concentración de estándares (CO<sub>2</sub>: 0.05 mL/L; etileno: 1 μL/L)

V: Volumen del espacio de cabeza (L)

Aps: Área del pico del estándar

Pm: peso de la muestra (kg)

#### 5.4.5 Evaluación Físicoquímica

5.4.5.1 Sólidos solubles totales (SST): La pulpa se maceró para liberar sus jugos, éstos se filtraron usando una tela de organza. El jugo filtrado se midió directamente colocando unas gotas en el lector de un refractómetro digital Atago PR-100SA, previamente calibrado con agua destilada. Los resultados se expresan en grados Brix de acuerdo al método reportado por Pérez y colaboradores (2003). La medición se realizó por triplicado empleando 3 frutos por tratamiento.

5.4.5.2 Firmeza: Como paso previo a la medición, a cada melón se le retiró un área pequeña de cáscara. La firmeza en la pulpa se determinó en la zona ecuatorial del fruto por medio de un penetrómetro digital Chatillon Force, NC 27409 equipado con un punzón cónico de 10 mm de diámetro. Se tomaron dos lecturas por fruto y se midieron 3 frutos por tratamiento. Los datos se expresan en Newtons según lo reportado en la metodología de Meza-Velázquez et al., (2013).

5.4.5.3 Color: El color del endocarpo de melón se midió por medio de un colorímetro Minolta CR 300. Se tomó la lectura en cuatro secciones de cada melón. Los parámetros que se midieron fueron: L (luminosidad), a\* y b\*. Los valores de Cromo y ángulo Hue° se calcularon empleando la siguiente ecuación según lo reportado por Zambrano-Zaragoza et al., (2017).

$$(6) \quad \text{Croma} = \sqrt{(a \cdot)^2 + (b \cdot)^2}$$

$$(7) \quad \text{ángulo Hue} = \tan^{-1} \frac{(b^*)}{(a^*)}$$

## 5.5 Diseño Experimental

Se empleó un diseño experimental distinto de acuerdo a cada uno de los objetivos. Para el primer objetivo se empleó un diseño estadístico factorial A x B, donde el factor A son los tratamientos con 4 niveles (Plantas de melón y calabacilla inoculadas, y plantas de melón y calabacilla testigos), y el factor B es el tiempo con 6 niveles (0, 6, 12, 18, 24, 30 de acuerdo a los días de muestreo). Las variables de respuesta fueron; el porcentaje de severidad de la fusariosis, y el tamaño de la planta. Para su análisis se empleó un ANOVA con una comparación de medias por medio de una prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza del 95%.

En el segundo objetivo se empleó estadística descriptiva, y también un diseño experimental completamente al azar de una sola vía para cada uno de los tratamientos (etanol y metanol). La variable de respuesta fue la concentración de cada uno de los cuatro compuestos analizados (fenoles, flavonoides, terpenoides y saponinas) Para su análisis se empleó un ANOVA con una comparación de medias por medio de una prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza del 95%.

En el caso del tercer objetivo se empleó un diseño experimental por bloques, donde la variable de bloqueo es el tiempo, la variable de respuesta es el porcentaje de la capacidad antifúngica del extracto a su respectiva la concentración. Nuevamente para su análisis se realizó un ANOVA con una comparación de medias por medio de una prueba de Tukey-Kramer con un nivel de confianza del 95%.

Para el cuarto objetivo, el diseño experimental empleado fue un completamente al azar con arreglo factorial A x B donde el factor A son los tratamientos con 5 niveles (TA, TE TI, IF, IE, IS), y el factor B es el tiempo de muestreo con 6 niveles (0, 3, 6, 9, 12, 15 días). Finalmente para su análisis se empleó un ANOVA con una prueba de rangos múltiples de Tukey-Kramer para la comparación de medias, con un nivel de confiabilidad del 95%. Los datos de todos los experimentos se analizaron empleando el software estadístico NCSS 2011, las gráficas se crearon usando Microsoft Excel 2010.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Susceptibilidad de *Cucurbita foetidissima* y Melón Cantaloupe a *Fusarium oxysporum*

Se determinó la susceptibilidad a la fusariosis causada por *F. oxysporum* en plantas de *C. foetidissima* (calabacilla) y melón. La Figura 7 muestra los brotes de melón y calabacilla a los 10 días de germinación. Las plantas de melón presentaron un porcentaje de germinación del 89%; mientras que en el caso de las plantas de calabacilla solamente germinó un 42%. A pesar de que germinaron menos de la mitad de las semillas, este porcentaje fue mayor en comparación con otra cucurbitácea silvestre; *Melothria pendula* (pepinillo silvestre), donde en condiciones de sustrato (tierra y arena) y temperatura similar (30° C) su porcentaje de germinación fue del 35% (Arzate-Fernández, 2002).

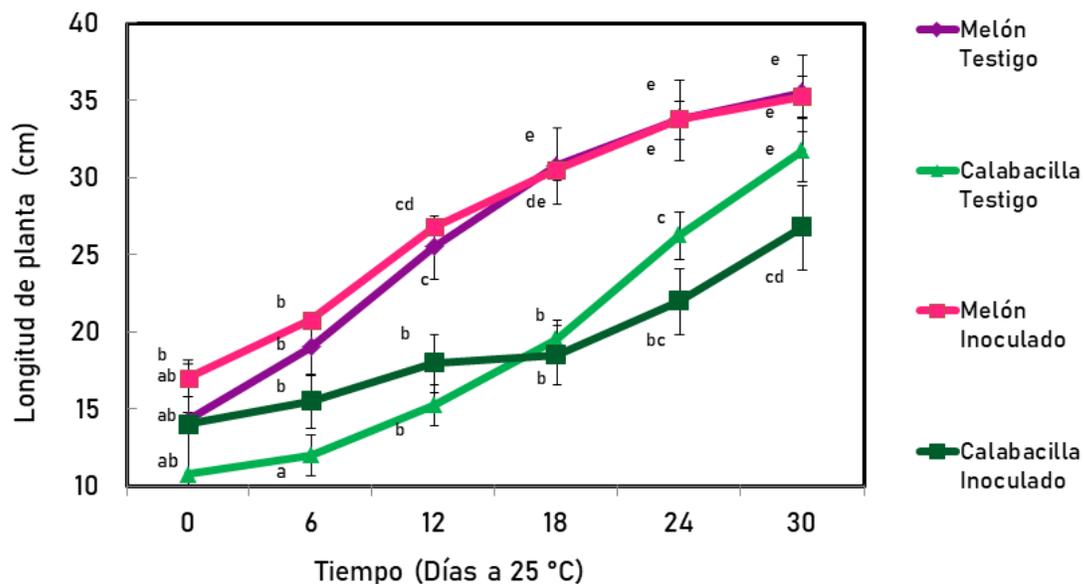
Las plantas silvestres generalmente tienen una tasa de germinación considerablemente menor a plantas similares cultivables. Puesto que la polinización, el desarrollo de los frutos y por consiguiente de los embriones suele estar menos controlado, esto causa que muchas de las semillas sean inviables para su germinación en comparación de las plantas cultivadas. También las semillas pueden necesitar de condiciones especiales de pH, cambios en la temperatura, o un proceso previo de escarificación para que las semillas puedan romper con la dormancia, y puedan así germinar (Bemis et al., 1978).



**Figura 7.** Plántulas a los 10 días posteriores a la germinación. (A) Plántulas de melón, (B) las plántulas de calabacilla.

### 6.1.1 Efecto de la Fusariosis en el Crecimiento Vegetal

El crecimiento vegetal de las plantas de melón y calabacilla inoculadas con *F. oxysporum* se determinó durante un total de 30 días. En términos generales, las plantas de melón presentaron mayor crecimiento con respecto a las plantas de calabacilla. Al final del experimento (día 30) no se encontraron diferencias significativas en la longitud de las plantas inoculadas con el fitopatógeno, respecto a las plantas testigo ( $p>0.05$ ) (Figura 8). Las plantas de melón tuvieron un crecimiento promedio mayor (testigo  $26.54\pm 4.23$  cm, inoculado  $27.45\pm 2.05$  cm) en comparación al de la calabacilla (testigo  $18.9\pm 4.61$  cm, inoculado  $18.9\pm 6.28$  cm). Esta diferencia puede ser debida al ciclo fenológico más acelerado del melón, ésta al ser una planta domesticada y anual tiene un crecimiento mayor al de la calabacilla que es silvestre y xerófita (Granados, 1999).



**Figura 8.** Efecto de la fusariosis en el crecimiento de plantas de melón y calabacilla durante 30 días. Literales distintas significan diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ,  $n=5$ ).

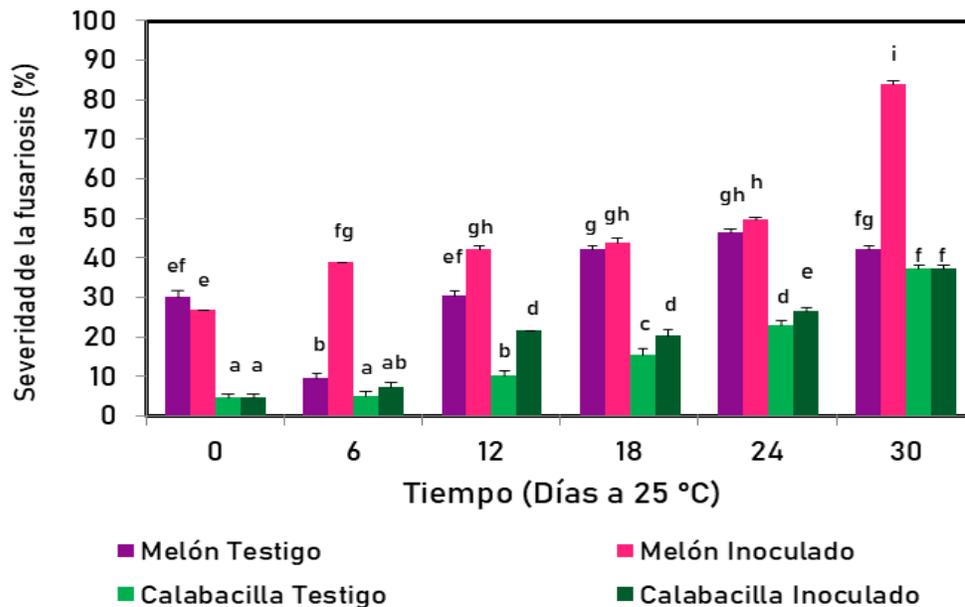
Uno de los síntomas más comunes de la fusariosis es un menor crecimiento vegetativo en las plantas inoculadas respecto a las sanas; éste efecto es provocado por la colonización del hongo en el tejido parenquimatoso del cuello de la raíz, y suele presentarse en estados avanzados de la enfermedad (Salas-Gómez, 2013). Al final del experimento se observó una ligera diferencia entre el tamaño de la planta de calabacilla inoculada respecto a la planta de calabacilla testigo, éste fenómeno no fue observado en las plantas de melón, donde ambos tratamientos tuvieron el mismo tamaño al final del experimento. Sin embargo éste síntoma no se pudo observar en el experimento probablemente porque sus treinta días de duración no fueron suficientes para apreciar una diferencia. En otros estudios como los de Sagitov (2011), y Aguilar-Gastélum (2016), quienes realizaron estudios de 49 días de duración en plantas de tomate, pudo apreciarse como a partir de la cuarta semana las deficiencias en el crecimiento vegetativo de las plantas inoculadas respecto a las sanas fueron estadísticamente significativas, dicho efecto fue más severo conforme pasó el tiempo.

### 6.1.2 Desarrollo y Severidad de la Fusariosis

La evaluación de la severidad de la enfermedad provocada por *Fusarium oxysporum* en las plantas de melón y calabacilla se realizó durante 30 días. En todas las plantas inoculadas con el fitopatógeno se observaron síntomas característicos de la fusariosis, como son la marchitez de las hojas y la defoliación, y lesiones necróticas en el cuello de la raíz (Figura 9).

El tratamiento que resultó más afectado fue el de las plantas de melón inoculadas, éstas mostraron síntomas visibles a partir de la primera semana del experimento, donde todas las plantas del tratamiento presentaron una severidad de la fusariosis del 50%, el cual continuó incrementándose hasta el final del experimento, donde la severidad fue cercana al 100%. Éste comportamiento fue similar al descrito por Miao et al., (2019) quienes observaron un repunte de la enfermedad de la fusariosis en plantas de melón a partir de la segunda semana. Esto sugiere que la prontitud en la aparición de los síntomas en nuestro experimento fue debido al método de inoculación, el cual consistió en la inmersión total de las raíces en la suspensión de esporas, mientras que en el estudio citado se realizó una inoculación indirecta, vertiendo un volumen de suspensión de esporas en el sustrato donde estaba la planta.

En el caso de las plantas de calabacilla presentaron en menor medida los síntomas de la fusariosis. La severidad de la enfermedad no superó el 33% en ambos tratamientos al menos hasta el día 30 del experimento, mostrando así una aparente tolerancia de la calabacilla a la fusariosis.



**Figura 9.** Porcentaje de severidad de la fusariosis en plantas de melón y calabacilla por 30 días. Literales distintas significan diferencias entre tratamientos ( $p < 0.05$ ,  $n = 5$ ).

Las plantas tanto de calabacilla como de melón, presentaron el desarrollo de hojas cloróticas, síntoma que puede ser debido a otros factores, por lo que se analizó el tallo de las plantas para confirmar que los daños observados en las plantas fueron causados por *F. oxysporum*. Para ello, el último día del experimento a todas las plantas de melón y calabacilla se les extrajo la raíz, se desinfectaron externamente y se cortaron transversalmente para observar la presencia de lesiones color marrón en los haces xilemáticos (Figura 10). Éstas lesiones son un síntoma clásico de la enfermedad de la fusariosis, puesto que es el primer tejido que el fitopatógeno infesta (Nuangmek et al., 2019). Finalmente las raíces se sembraron en medio PDA e incubaron durante 72 horas, y así observar la presencia del fitopatógeno. Se observaron machones marrones en el cuello de las raíces de las plantas de melón inoculadas, mientras que en el resto de tratamientos no se observó dicho síntoma. Después de las 72 horas de incubación hubo crecimiento de micelio en todos los medios, el cual al observarse al microscopio se constató la presencia de *F. oxysporum* en aquellos tratamientos donde se había inoculado el hongo.



**Figura 10.** Lesiones causadas por *F. oxysporum* en raíces de plantas de melón y calabacilla. (A) Melón Testigo. (B) Melón Inoculado, (C) Calabacilla Testigo, (D) Calabacilla Inoculado.

Los hallazgos encontrados en este bioensayo son importantes, ya que no pudimos encontrar publicaciones donde se demuestre explícitamente la tolerancia de *C. foetidissima* a las infecciones causadas por *F. oxysporum*. El único estudio reciente que sirvió como precedente para éste experimento fue el publicado por Apodaca-Sánchez et al. (2004), donde encontraron que en huertos de tomate infestados con *Fusarium* la *C. foetidissima* era capaz de desarrollarse con normalidad. Dicha investigación es la única publicada hasta el momento donde se infiere la posibilidad de que *C. foetidissima* sea un hospedero asintomático de *Fusarium* sp. esa información se corroboró con los resultados obtenidos en este experimento.

## 6.2 Identificación y Cuantificación de Compuestos Químicos del Extracto de *Cucurbita foetidissima*

### 6.2.1 Características de los Extractos de *C. foetidissima*

Se emplearon etanol y metanol como solventes para la extracción de los compuestos secundarios de raíz de la calabacilla. Posterior al proceso de roto-evaporación, la fracción resultante fue un material resinoso de coloración ámbar, que fue disuelto nuevamente en un volumen conocido de

etanol o metanol respectivamente. Se obtuvo un rendimiento promedio del 4.6% de extracto metanólico (1 g de extracto por cada 21.30 g de tejido seco). Para el caso de la extracción etanólica, el rendimiento promedio fue de 2.6% (1 g de extracto por cada 37.8 g de tejido seco). Se emplearon éstos solventes debido a su capacidad para extraer compuestos distintos de acuerdo a su diferencia en la polaridad, además de ser económicos y fácilmente volatilizables (Rodríguez-Pedroso et al., 2012).

Las pruebas presuntivas realizadas revelaron la presencia de los metabolitos secundarios fenoles, flavonoides, terpenoides, y saponinas, los cuales han sido descritos como antimicrobianos. Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Macías et al. (2009), quienes encontraron la presencia de fenoles, terpenoides, y saponinas en hojas y frutos de *C. foetidissima*. Otros investigadores como Gaidi et al. (2004) y Macías et al. (2009) encontraron en las raíces, hojas y frutos de esa misma planta, compuestos triterpénicos como las Cucurbitacinas, y otros similares como las saponinas.

## **6.2.2 Cuantificación de Metabolitos Secundarios Mayoritarios**

En el Cuadro 5 se muestran las concentraciones de los compuestos secundarios que se cuantificaron mediante métodos espectrofotométricos. El solvente extractor donde se observó una mayor concentración de la mayoría de los metabolitos fue el metanol. Los extractos etanólicos en cambio, tuvieron menores concentraciones de los distintos metabolitos secundarios, a excepción de flavonoides; en éstos últimos se encontraron en mayor cantidad.

**Cuadro 5.** Contenido de metabolitos secundarios en los extractos de raíz de *C. foetidissima*.

Estándar empleado	Metabolito secundario	Secado en estufa de aire forzado (60 °C, 72 h)	
		Solvente	
		Metanol (meq/g p.s.)*	Etanol (meq/g p.s.)
Ac. Gálico	Fenoles	92.39 ± 11.36 <sup>a</sup>	79.96 ± 5.02 <sup>a</sup>
Quercetina	Flavonoides	283.24 ± 11.79 <sup>b</sup>	621.62 ± 75.60 <sup>a</sup>
Linalol	Terpenoides	42.61 ± 3.41 <sup>a</sup>	38.87 ± 0.59 <sup>a</sup>
Ac. Oleanólico	Saponinas	888.20 ± 43.10 <sup>a</sup>	456.29 ± 20.33 <sup>b</sup>

Literales diferentes entre filas significan medias diferentes ( $p < 0.05$ ,  $n = 6$ ).

\*meq /g p.s.: miligramos equivalentes sobre gramos de peso seco.

Por cada gramo de tejido seco de raíz de *C. foetidissima* se obtuvo un total de 92.39 mg de fenoles libres (meq de ácido gálico/g de tejido seco), concentración considerablemente mayor a la obtenida en un estudio reportado por Salazar et al., (2008), donde usando como solvente de extracción metanol, obtuvieron un total de 8 mg eq de catecol/g de tejido seco. La diferencia entre ambas concentraciones de fenoles libres puede deberse a que el catecol podría ser un compuesto fenólico más escaso en el extracto, en comparación al ácido gálico utilizado como estándar en el presente estudio. En comparación con otras cucurbitáceas Chekroun et al. (2015) mostraron que los extractos butanólicos de la raíz de *Bryonia dioica*, presentan una concentración de 541 mg equivalentes de ácido gálico/g de tejido seco, por lo cual se podría considerar que el solvente *n*-butanol es un mejor extractor de los compuestos fenólicos, o bien, que este extracto tiene una concentración de compuestos fenólicos inferior con respecto a otras cucurbitáceas.

El extracto etanólico de *C. foetidissima* presentó un contenido de flavonoides de 621 mg eq de quercetina/g p.s. (Cuadro 5). En el mismo estudio de Chekroun et al., (2015) obtuvieron una concentración de flavonoides de 229 mg de catequina/g de tejido seco en la raíz de *B. dioica*, usando *n*-butanol como solvente extractor, concentración menor a la obtenida en el presente

estudio. La presencia de flavonoides como la quercetina en el extracto de raíz de *C. foetidissima* podría sugerir una actividad antifúngica. De acuerdo al estudio reportado por Steinkellner et al., (2007), el crecimiento micelial de *F. oxysporum* fue inhibido hasta en un 80 % durante 5 días empleando una concentración de 30.22 mg/L de quercetina pura. Los metabolitos encontrados en menor concentración en los extractos etanólicos y metanólicos de calabacilla fueron los terpenoides (siendo menor a 50 meq de linalol/g p.s.). Hasta el momento, no se han encontrado estudios científicos que reporten el contenido de otros monoterpenos en calabacilla, sin embargo Chao-Chen et al., (2005), han reportado la presencia de compuestos triterpénicos como las cucurbitacinas.

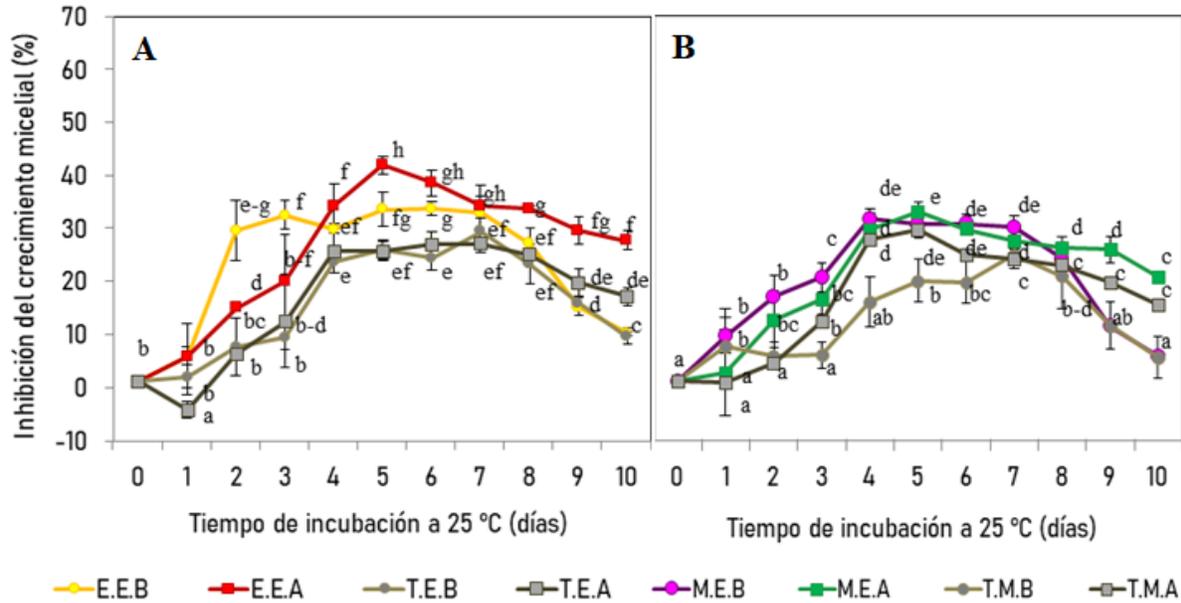
Las saponinas fueron los compuestos más abundantes para el caso de los extractos metanólicos y los segundos más abundantes en los extractos etanólicos. Investigadores anteriormente citados, como Chao-Chen et al., (2005), y Gaidi et al., (2004) describen a la planta de calabacilla como una planta altamente productora de saponinas y otros compuestos triterpénicos como las cucurbitacinas. Éstos compuestos han sido relacionados con el sabor marcadamente amargo presente en los frutos, hojas y raíz de *C. foetidissima* y otra cucurbitáceas silvestres. Asimismo, se ha reportado que están involucradas en la defensa de las plantas contra depredadores; además estos compuestos han sido descritos como antimicrobianos debido a que poseen una naturaleza citotóxica (Aeri et al., 2015).

Con base en los resultados mencionados anteriormente, se puede sugerir que la presencia de metabolitos secundarios como terpenoides, flavonoides, fenoles y saponinas en la raíz de *C. foetidissima* podrían estar involucradas en la aparente tolerancia de la planta frente a la enfermedad de la fusariosis. La evidencia reportada por otros investigadores sugiere que la naturaleza antimicrobiana de los flavonoides y saponinas, juegan un papel importante en la defensa de la planta frente a los fitopatógenos. Por lo anterior, es posible que los extractos metanólicos y etanólicos de la calabacilla puedan tener un efecto antifúngico al ser aplicados directamente sobre *Fusarium* sp.

### 6.3 Análisis de la Actividad Antifúngica del Extracto de *Cucurbita foetidissima* en el Crecimiento *in vitro* de *Fusarium sp.*

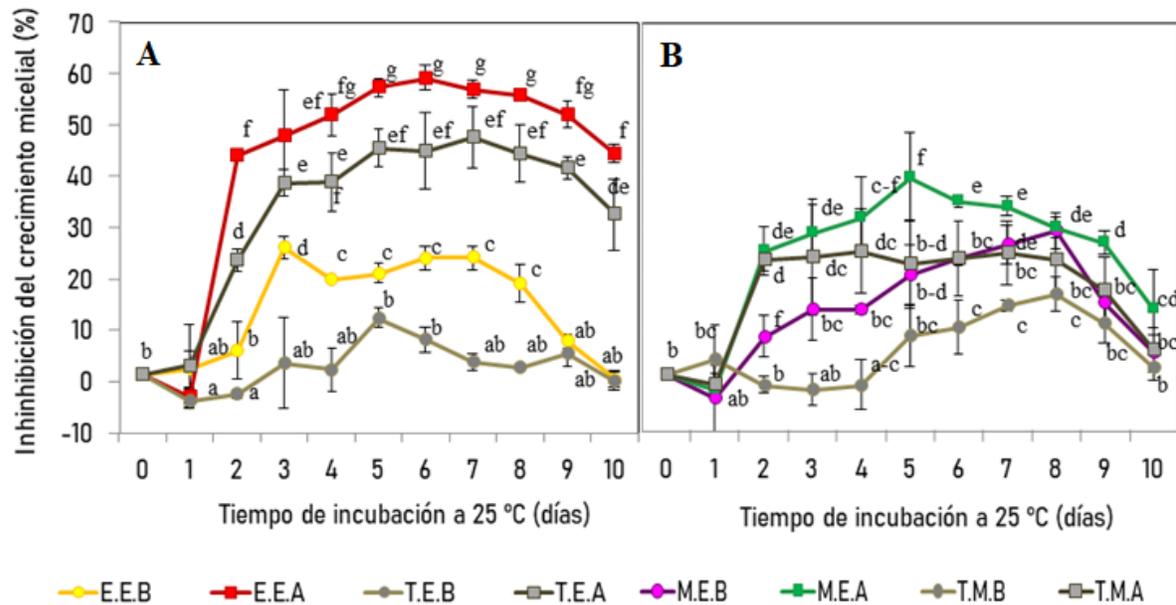
En la Figura 11 se muestra el efecto de los extractos de *C. foetidissima* en el porcentaje de inhibición de *F. oxysporum* en condiciones *in vitro*. Los extractos etanólicos y metanólicos presentaron su máxima inhibición en *F. oxysporum* al día 5 del experimento, siendo los etanólicos con la concentración más alta de extracto (E.E.A., 17.3 µg/mL ) los que presentaron mayor capacidad inhibitoria (41.94 %), 8.95% más en comparación al extracto metanólico de mayor concentración (M.E.A., 21.3 µg/mL). Posterior al quinto día, el efecto inhibitorio fue en detrimento, (Figura 11). Es notable resaltar cómo los extractos etanólicos a pesar de tener una concentración ligeramente menores a los metanólicos tuvieron mayor capacidad inhibitoria. El tratamiento de metanol a su concentración más alta presenta un efecto inhibitorio ligeramente menor que (M.E.A.), por lo cual podríamos suponer que el solvente presente en el extracto esté influyendo también en la capacidad inhibitoria del mismo.

*F. oxysporum* ha sido descrito como un fitopatógeno capaz de degradar fitoalexinas y otros compuestos defensivos como los avenacósidos (saponinas), empleando enzimas específicas que le permiten asimilar éstos compuestos (Bednarek y Osbourn, 2009) , esto es debido a su naturaleza altamente patogénica para las plantas y su alta capacidad para adaptarse a una gran variedad de hospederos específicos (*formae speciale*) (Páez et al., 2008).



**Figura 11.** Efecto de los extractos de *C. foetidissima* en la inhibición *in vitro* del crecimiento de *F. oxysporum*: (A) extracto etanólico. (B) extracto metanólico. Literales distintas significan diferencias entre tratamientos ( $p < 0.05$ ,  $n = 3$ ).

En *F. equiseti*, se presentó un efecto inhibitorio similar a *F. oxysporum*, teniendo un máximo de inhibición al día 5 para (M.E.A. 21.3  $\mu\text{g/mL}$ ) y al día 6 para (E.E.A 17.3  $\mu\text{g/mL}$ ), siendo nuevamente el extracto etanólico a la concentración más alta el que presentó inhibición significativamente mayor (59.32 %) ( $p < 0.05$ ) respecto al resto de tratamientos. (Figura 12). Nuevamente puede apreciarse cómo el etanol posee por si solo un efecto inhibitorio, y que quizás esté influyendo en la capacidad inhibitoria del extracto. Los extractos metanólicos nuevamente tuvieron una capacidad inhibitoria inferior, incluso en su concentración más alta (39.68 %). *F. equiseti* es un hongo de naturaleza saprófita que prefiere vivir en frutos antes que en plantas y que suele aparecer ya en etapas de maduración avanzadas, lo anterior supone que posiblemente no tiene un sistema enzimático capaz de degradar compuestos de defensa de las plantas (Nuangmek et al., 2019).

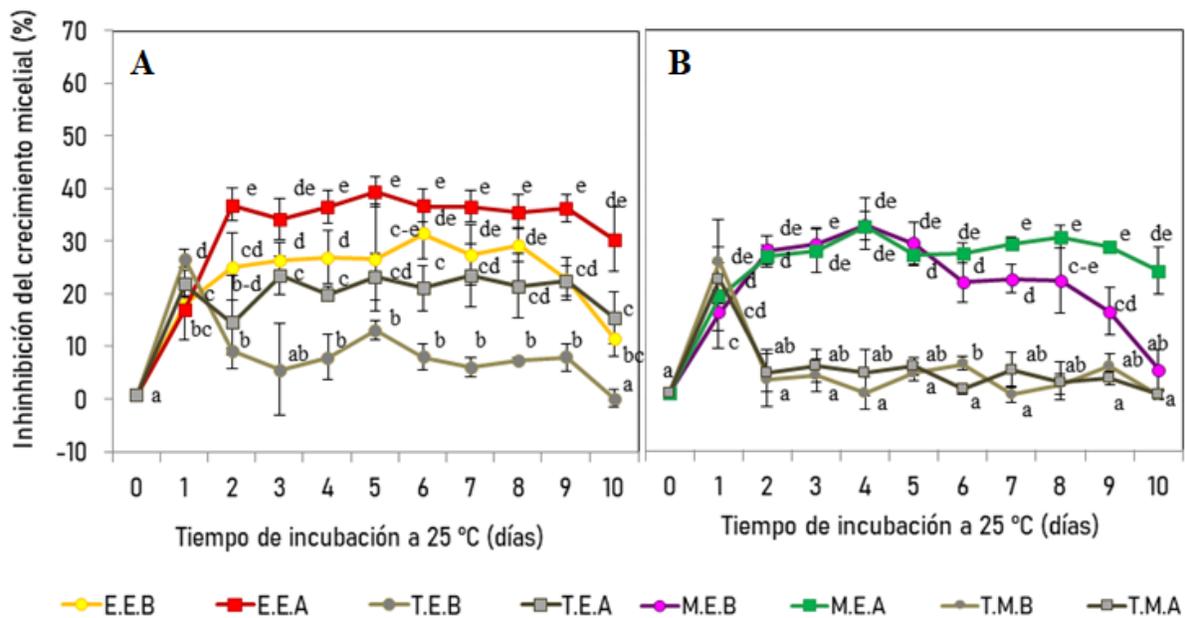


**Figura 12.** Efecto de los extractos de *C. foetidissima* en la inhibición *in vitro* del crecimiento de *F. equiseti*: (A) extracto etanólico. (B) extracto metanólico. Literales distintas significan diferencias entre tratamientos ( $p < 0.05$ ,  $n = 3$ ).

Los extractos tuvieron la menor capacidad inhibitoria en *F. solani*, en comparación a las otras dos especies; siendo la máxima inhibición del 39.49% con extracto etanólico de mayor concentración (E.E.A. 21.3  $\mu\text{g/mL}$ ) al día 5 del experimento (Figura 13). Los tratamientos con solventes tuvieron una nula capacidad para inhibir éste fitopatógeno, lo cual sugiere que la actividad inhibitoria en éste caso fue únicamente debida al extracto. *F. solani* al igual que *F. oxysporum* han sido descritos como fitopatógenos capaces de degradar compuestos secundarios de defensa, debido a que ambos son patógenos que infectan las raíces de las plantas, poseen una gama de enzimas especializadas para esta tarea (Páez et al., 2008).

En las tres especies de hongos se presentó un efecto fungistático moderado, siendo los extractos etanólicos del tratamiento E.E.A, los que tuvieron una inhibición significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) respecto a los extractos metanólicos y testigos con solventes. Es notorio cómo los extractos etanólicos a pesar de estar en menor concentración fueron los que presentaron una mayor capacidad inhibitoria. Citando el segundo objetivo de ésta investigación, el compuesto encontrado en mayor concentración en los extracto etanólicos, fueron los flavonoides; esto hace suponer que

quizás la mayor capacidad inhibitoria puede deberse a estos compuestos. De la misma manera la aparente menor capacidad inhibitoria de los extractos metanólicos, los cuales presentaron una mayor concentración de fenoles y saponinas, sugiere que en los extractos de *C. foetidissima*, éstos compuestos no fueron los que tuvieron la mayor actividad fungistática. Sin embargo aseverar que esa es la razón principal es un tanto aventurado, ya que los extractos etanólicos podrían tener otros compuestos que no hayan sido cuantificados y que también tengan actividad antifúngica.



**Figura 13:** Efecto de los extractos de *C. foetidissima* en la inhibición *in vitro* del crecimiento de *F. solani*: (A) extracto etanólico. (B) extracto metanólico. Literales distintas significan diferencias entre tratamientos ( $p < 0.05$ ,  $n = 3$ ).

Todos los tratamientos presentaron un pico máximo de inhibición entre el día 5, 6 o 7, presentando una caída en su capacidad inhibitoria los días posteriores. En *F. oxysporum* y *F. equiseti* los tratamientos testigos presentaron un efecto inhibitorio ligeramente menor a los tratamientos con extractos, mientras que en *F. solani*, los solventes presentaron una mínima (<20%) o nula inhibición en comparación de los extractos E.E.A. (17.3  $\mu\text{g/mL}$ ) y M.E.A. (21.3  $\mu\text{g/mL}$ ). Ese comportamiento donde existe un pico máximo seguido de una disminución en la inhibición puede deberse a la fotolabilidad de los compuestos presentes en los extracto, como es el caso de los fenoles, los cuales pueden degradarse en presencia de luz UV (Dang et al., 2016).

La actividad de los extractos de *C. foetidissima* sobre las tres diferentes especies de *Fusarium* sp. se considera como fungistática, ya que solamente detuvo el crecimiento de los hongos y no eliminó por completo al microorganismo (Curifuta et al., 2012). La actividad inhibitoria del extracto fue menor en comparación a extractos de otras plantas como la *Lippia origanoides*. Sanabria et al. (2006) observaron que los extractos etanólicos procedentes de las hojas y tallos de la planta de orégano inhibieron el crecimiento de *F. oxysporum* hasta el 90%, a una concentración de 2.5% v/v. En otro experimento, Rodríguez Pedroso et al. (2012) observaron que un extracto hidroalcohólico de hojas de *Acacia farnesiana*, fue capaz de inhibir hasta en un 94% del crecimiento micelital de *F. oxysporum*, sólo que a una concentración de aproximadamente el 20% v/v. En ambos estudios se explica que la capacidad inhibitoria de los extractos puede ser debida a la presencia de flavonoides, taninos, fenoles y alcaloides, entre otros.

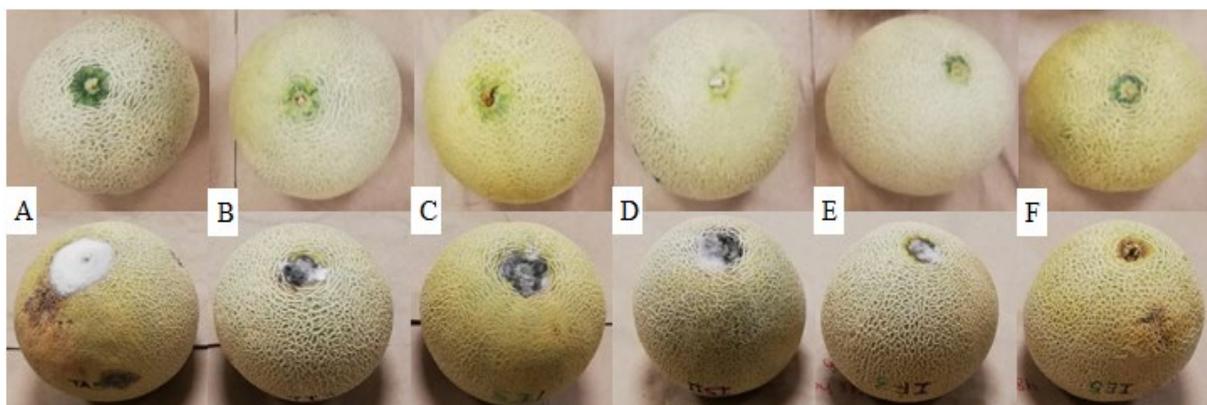
Experimentos previos como los de Ncube et al. (2011); Peñuelas-Rubio et al. (2017) demuestran que los extractos vegetales tienen una capacidad inhibitoria ante *F. oxysporum* eficaz al ser aplicados en condiciones *in vitro* y también *in vivo*. Dichos autores señalan que los compuestos fenólicos y las saponinas son los que podrían ser más tóxicos para el hongo, debido a su capacidad para secuestrar los esteroides de la membrana celular, produciendo lisis. Steinkellner et al. (2007), encontraron en su experimento que la quercetina a una concentración de 30.22 mg/L es capaz de inhibir el crecimiento micelial de *F. oxysporum*, hasta el quinto día.

Finalmente, puede suponerse que empleando una mayor concentración de extractos de *C. foetidissima*, podría verse aumentada su capacidad inhibitoria, o incluso tener un efecto fungicida. Debido a que los extractos etanólicos fueron los que tuvieron una mayor capacidad inhibitoria, y de igual manera una mayor concentración de flavonoides, se puede sugerir que éste compuesto es más fungicida que el resto de los metabolitos detectados en la raíz de la calabacilla. Rodríguez-Maturino et al. (2015) señala que uno de los mecanismos de acción de los flavonoides es por medio de la formación de complejos con las proteínas solubles extracelulares, generando disrupción de su pared celular y posteriormente la lisis, o bien, podrían actuar inactivando proteínas esenciales en el metabolismo, como el citocromo P450 interrumpiendo la transferencia de electrones y frenando el ciclo de krebs.

## 6.4 Análisis del Extracto de *C. foetidissima* sobre *F. equiseti* en Melón Cantaloupe y sobre sus Características Microbiológicas, Fisiológicas y de Calidad Postcosecha

### 6.4.1 Efecto del Extracto en las Características Microbiológicas del Melón Cantaloupe Infectado con *F. equiseti*

6.4.1.1 Efecto del extracto en la apariencia general del fruto: En la figura 14, puede observarse cómo los melones a los que se les aplicó el extracto de *C. foetidissima* presentaron una coloración más amarillenta y brillante que el resto de los tratamientos. Este efecto pareció modificar el olor del fruto y su sensación al tacto, puesto que los frutos presentaban una textura aceitosa y un ligero aroma amargo. La coloración amarillenta continuó durante los 18 días que duró el experimento con una ligera pérdida de intensidad.



**Figura 14.** Frutos de melón en el día 0 (superior) del experimento, y en el día 9 (inferior), posterior a la aplicación de los distintos tratamientos: (A): Testigo, (B): Testigo- Inoculado, (C): Testigo- Extracto, (D): Inoculado- Solvente, (Etanol). (E): Inoculado- Fungicida, (F) Inoculado- Extracto.

6.4.1.2 Efecto del extracto en el crecimiento micelial del hongo: El efecto del extracto en el control de la infección causada por *Fusarium equiseti* no pudo ser medido de la manera establecida en la sección de materiales y métodos. Esto debido a que no se desarrollaron colonias características del fitopatógeno en la superficie del fruto (micelio algodonoso de color blanco-salmón). Aunque hubo

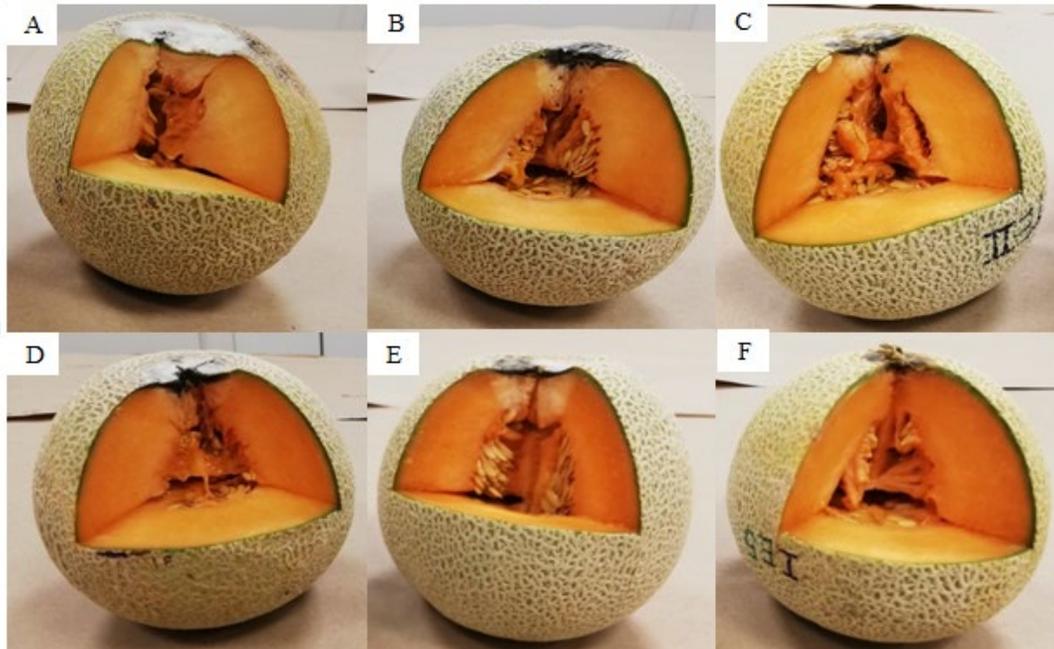
aparición de dos tipos de micelio, uno de color negruzco y de apariencia aplanada, otro blanquecino- grisáceo y de apariencia algodonosa, pero parecía corresponder a *Fusarium*, al observar sus estructuras microscópicas de éste bajo el microscopio, no se observaron microconidias o macroconidias características para este hongo. Sin embargo, se observaron esporas correspondientes a otros hongos. El hecho de que no se observó el desarrollo de *Fusarium equiseti* en la superficie de los frutos de melón puede deberse a la variedad utilizada, la cual podría ser una variedad particularmente resistente al desarrollo de *Fusarium* sp.

La aparición de micelio se hizo presente desde el día 9 en todos los frutos, alrededor de la zona del pedúnculo. A este tiempo también empezó a apreciarse la aparición de hundimientos en distintas zonas de la superficie del melón, además del pedúnculo. Cabe resaltar que algunos frutos a los que se les aplicó el extracto presentaron crecimiento de micelio y hundimiento en zonas cercanas al ápice que no estaban cubiertas por el extracto, sin embargo a partir del noveno día empezaron a presentarse brotes de micelio en la zona peduncular. Esto último nos hace suponer que el extracto pudiese dificultar el desarrollo de los hongos en las zonas donde fue aplicado.

Al día 18, el último correspondiente a éste bioensayo, los frutos se cortaron para observar si había infestación fúngica en su pulpa. En la Figura 15 puede observarse la aparición de lesiones en la pulpa del melón, las cuales se muestran cómo manchones de color negro, y otros de color blanquecino, éstos últimos son similares a las lesiones típicamente encontradas en frutos infestados con *Fusarium* sp. Cabe destacar que en todos los tratamientos con excepción del Testigo las lesiones internas se limitaron al tejido colindante con la zona peduncular. Y que en el caso de los tratamientos donde se aplicó el extracto, las lesiones visualmente fueron menores al resto de tratamientos. Esto último sugiere que el extracto si tuvo un efecto inhibitorio en el hongo, y al retrasar la infección alrededor de 6 días más, prolongó la vida de anaquel del fruto.

El pedúnculo al ser una herida, es la zona más susceptible del fruto para sufrir infecciones por parte de los fitopatógenos, por eso no es extraño que en todos los frutos haya sido la zona con las lesiones internas más evidentes. Finalmente, las colonias fúngicas desarrolladas en el exterior de los frutos de melón se analizaron con base a las características de las colonias y de sus estructuras microscópicas, las cuales se compararon con lo reportado en la literatura (Weir et al., 2012; Woudenberg et al., 2013). Con base en las características observadas, las colonias fueron identificadas preliminarmente como *Colletotrichum* sp y *Alternaria* sp. El desarrollo de lesiones fúngicas en los tratamientos donde se utilizó el extracto de *C. foetidissima* y también en el tratado

con el fungicida comercial hace suponer que ni los extractos ni el Captan son capaces de inhibir totalmente el crecimiento de micelio en el melón cantaloupe.



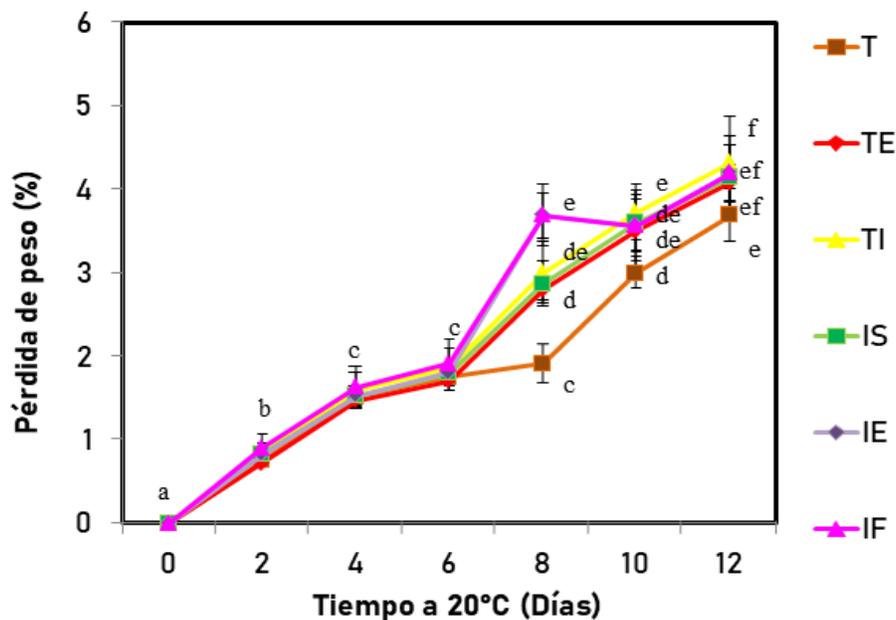
**Figura 15.** Vista interior de frutos de melón al día 18 de almacenamiento a 20° C y 88 % de H.R. Los tratamientos corresponden a: (A) Testigo, (B) Testigo Inoculado, (C) Testigo Extracto, (D) Inoculado Etanol, (E) Inoculado Extracto, (F) Inoculado Fungicida.

### 6.4.3 Efecto del Extracto Bioactivo en la Fisiología de los Frutos de Melón Cantaloupe

6.4.3.1 Efecto del extracto en la pérdida de peso: Los frutos de melón presentaron una disminución de peso entre el 3.6 y el 4.19% a los 12 días a 20 °C. Tal y como se observa en la Figura 16, la pérdida de peso fue en aumento conforme avanzó el tiempo de almacenamiento. Sin embargo no se apreciaron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) en la pérdida de peso entre los frutos a los que se les aplicó el extracto de *C. foetidissima* respecto a los testigos. Así mismo los frutos inoculados con *Fusarium equiseti* tampoco presentaron una disminución de peso mayor en comparación a los testigos. Estos valores son considerablemente menores a los reportados por Reyes-Avalos et al. (2017), quienes reportaron que los melones control tuvieron una pérdida de peso mayor al 20% al día 7 del experimento. Cabe destacar que en el estudio citado los investigadores emplearon una

variedad distinta de melón, así también emplearon otras temperaturas de almacenamiento (5 °C, 95% H.R.).

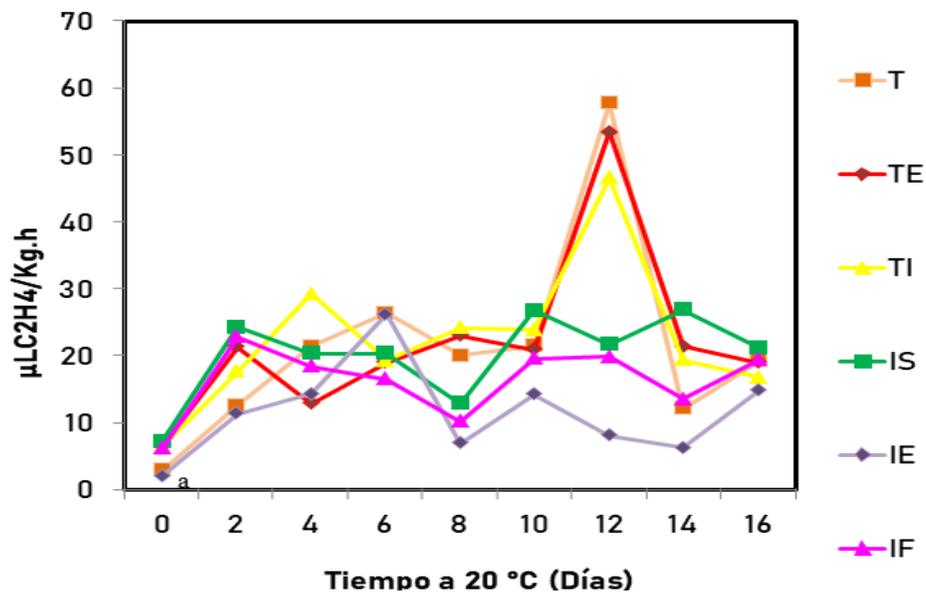
El característico epicarpio suberizado convierte a los melones cantaloupe en frutos muy susceptibles a la pérdida de peso. Kader (2013) menciona que las condiciones ideales de almacenamiento para evitar la pérdida de agua por transpiración es a una temperatura de 3 °C y 92% H.R., la variedad de melón empleada en el experimento permaneció con un peso más o menos estable a condiciones promedio de 20 °C y 92% H.R. durante los 15 días que duró el experimento. Por lo tanto, se podría considerar que la humedad relativa juega un papel preponderante en la disminución de la transpiración del melón cantaloupe y consiguientemente en su calidad postcosecha.



**Figura 16.** Pérdida de peso porcentual en frutos de melón cantaloupe aplicado con el extracto de *C. foetidissima* y almacenado a 20 °C, 88% H.R. Literales distintas significan diferencias entre tratamientos ( $p < 0.05$ ,  $n = 5$ ).

6.4.3.2 Efecto del extracto en la producción de etileno: En la figura 17 se presentan los resultados de la producción de etileno en los frutos de melón, almacenados durante 15 días a una temperatura de 20 °C y 88% H.R. Como se puede apreciar, los melones testigo y a los que se les aplicó el extracto presentaron un comportamiento muy similar en la producción de etileno. Tanto los frutos

aplicados como el testigo y el testigo inoculado presentaron su máxima producción de etileno ( $46.67 - 57.75 \mu\text{LC}_2\text{H}_4/\text{Kg.h}$ ), a los 12 días de almacenamiento, por lo que el extracto no tuvo un efecto en la producción de etileno. Sin embargo, se observó un comportamiento distinto en los melones inoculados y aplicados con el extracto con respecto a los no inoculados. Los frutos de melón tratados con etanol, captan o bioextracto no presentaron una máxima en su producción de etileno permaneciendo más o menos constante entre los  $10- 30 \mu\text{LC}_2\text{H}_4/\text{Kg.h}$ . Este comportamiento es similar al descrito por Reyes-Avalos et al., (2017) el cual describe un incremento en la concentración de etileno de  $65.90 \mu\text{LC}_2\text{H}_4/\text{Kg.h}$  al día 16. En el experimento la producción máxima de etileno fue  $10 \mu\text{L}$  menor ( $57 \mu\text{LC}_2\text{H}_4/\text{Kg.h}$ ). Esta ligera diferencia pudo deberse a la variedad del fruto



**Figura 17.** Efecto del extracto de *C. foetidissima* en la producción de etileno ( $\mu\text{LC}_2\text{H}_4/\text{Kg.h}$ ) en frutos de melón cantaloupe a  $20\text{ }^\circ\text{C}$ , y  $88\%$  H.R. Tratamientos: (TA) Testigo, (TE) Testigo extracto, (TI) Testigo inoculado, (IS) Inoculado solvente, (IE) Inoculado extracto, e (IF) Inoculado fungicida.

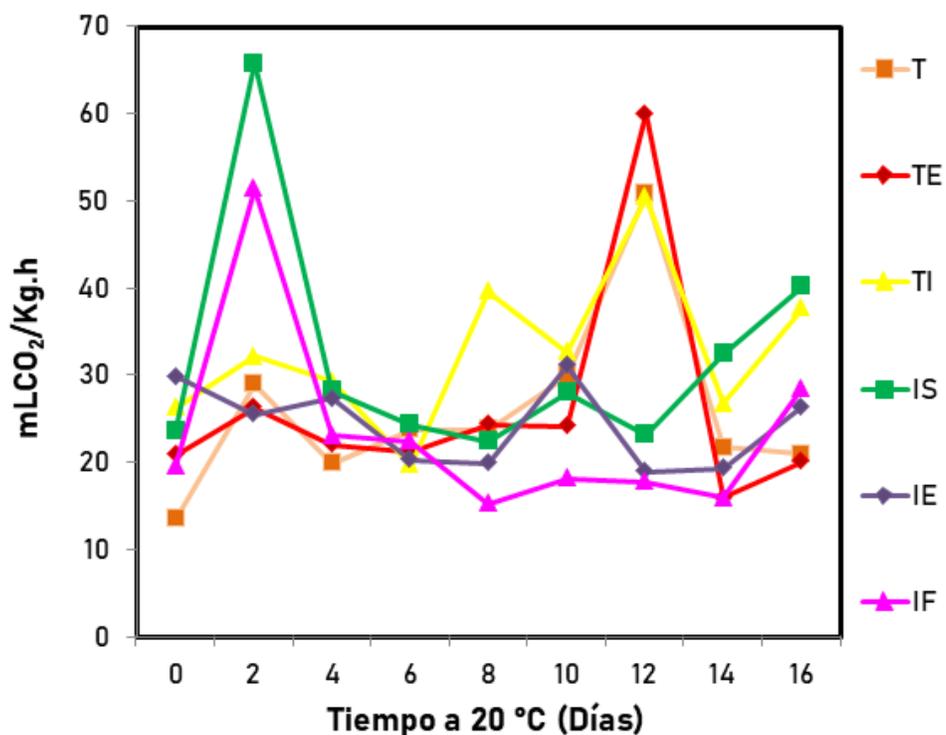
Ninguno de los compuesto en el extracto de *C. foetidissima* fue capaz de alterar la permeabilidad de la pared celular disminuyendo el intercambio gaseoso entre el fruto y el exterior, así como modificar la atmósfera interna retrasando los procesos metabólicos asociados con la maduración y

senescencia. Es interesante observar como los frutos que fueron tratados con etanol, captan ó el bioextracto no presentaron una producción de etileno tan pronunciada como los testigos.

6.4.3.2 Efecto del extracto en la producción de CO<sub>2</sub>: En la Figura 18 se presentan los resultados de la producción de dióxido de carbono en frutos de melón almacenados durante 15 días, a una temperatura de 20 °C y 88% H.R. El comportamiento en la producción de dióxido de carbono fue similar entre los melones testigo (T, TE y TI), observándose la máxima producción de CO<sub>2</sub> (59.97 mL CO<sub>2</sub>/Kg.h) al día 12 del experimento. En cambio, en los frutos inoculados y tratados, presentaron un comportamiento diferente a los no inoculados, particularmente en los tratamientos inoculado-Etanol, e inoculado-fungicida, los cuales presentaron el pico de producción de CO<sub>2</sub> (65.70 mL CO<sub>2</sub>/Kg.h) al día 2 del experimento. Éstos valores son ligeramente menores a los 72.97 mL CO<sub>2</sub>/Kg.h reportados por García-Robles et al., (2016). Además, los autores reportaron la máxima producción de CO<sub>2</sub> al día 2 del experimento, lo cual coincide para los tratamientos inoculado etanol e inoculado fungicida.

Los frutos que fueron aplicados con los extractos de *C. foetidissima* y también inoculados con *F. equiseti* presentaron los valores más bajos de CO<sub>2</sub> (31.13 mL CO<sub>2</sub>/Kg.h) con respecto al resto de tratamientos. Dichos frutos tampoco presentaron un máximo respiratorio durante los 15 días que duró el experimento. Este comportamiento es interesante, y nos hace suponer que ambos tratamientos (extracto e inóculo) redujeron la producción de dióxido de carbono en el fruto de melón.

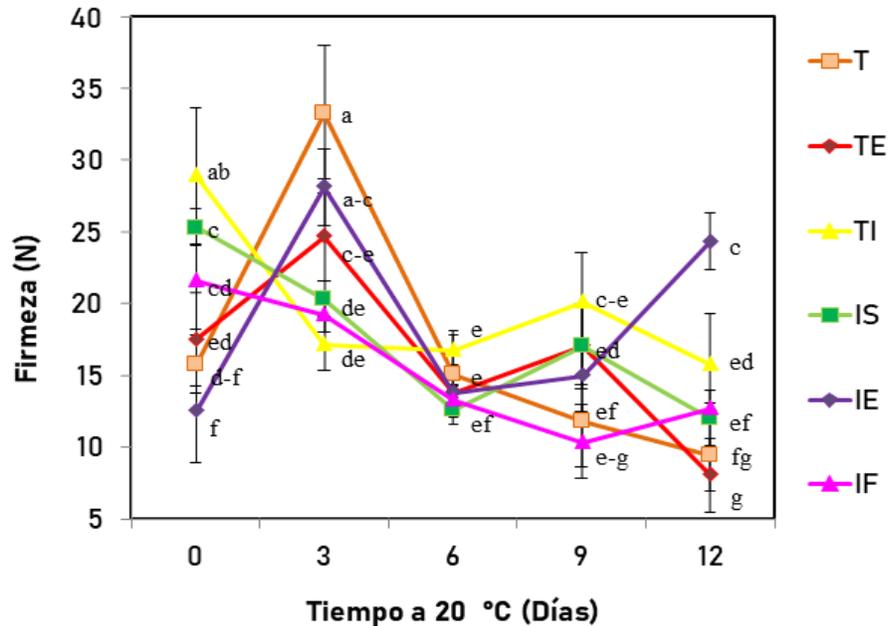
El aumento en la tasa respiratoria a los 12 días, y en la concentración de etileno a los 12 días en los frutos de melón testigos, coincide con el desarrollo de micelio del hongo. Estos resultados también coincide con lo reportado por Watkins, (2002) quien describe que el incremento en la tasa respiratoria está invariablemente relacionada con una respuesta al estrés ambiental (temperatura, golpes durante su manipulación, microorganismos), lo cual desencadena la producción de etileno, y la consiguiente senescencia del fruto.



**Figura 18.** Producción de dióxido de carbono (mLCO<sub>2</sub>/Kg.h) en frutos de melón cantaloupe a 20 °C, y 88% H. R. Tratamientos: (TA) Testigo, (TE) Testigo extracto, (TI) Testigo inoculado, (IS) Inoculado solvente, (IE) Inoculado extracto, (IF) Inoculado fungicida.

#### 6.4.4 Efecto del Extracto Bioactivo en la Calidad Postcosecha del Melón Cantaloupe

6.4.4.1 Efecto del extracto bioactivo en la firmeza: En la Figura 19 se presentan los resultados del efecto del extracto en la firmeza de los frutos de melón durante el almacenamiento a 20 °C y 88% H.R. Como se puede observar, la firmeza en los frutos testigo, inoculados etanol, e inoculado fungicida, tendió a disminuir conforme avanzó el tiempo de almacenamiento a 20 °C. En cambio, en los frutos aplicados con el extracto e inoculados, no se observa un comportamiento claro en la variable firmeza. Al cabo del día 12, la firmeza de este tratamiento fue significativamente mayor (25.3 N) ( $p < 0.05$ ) en comparación al primer día del experimento (12.2 N). Dicho tratamiento mantuvo también la mayor firmeza con respecto a los testigo: 15.2 N (testigo inoculado), 9.4 N (testigo) y 8.3 N (testigo extracto), a ese mismo tiempo de evaluación.



**Figura 19.** Efecto del extracto de *C. foetidissima* en la firmeza de frutos de melón, almacenados a 20 °C y 88% H.R. Tratamientos: (TA) Testigo, (TE) Testigo extracto, (TI) Testigo inoculado, (IS) Inoculado solvente, (IE) Inoculado extracto, e (IF) Inoculado fungicida. Las barras representan la media  $\pm$  desviación estándar (n=3). Literales diferentes son diferentes significativamente ( $p < 0.05$ ).

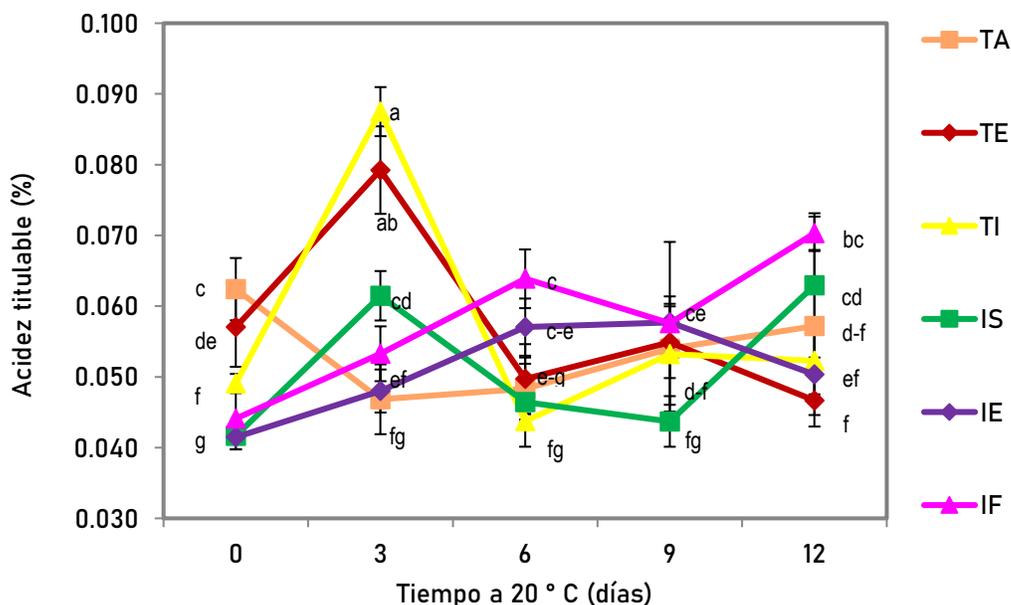
Los frutos tratados con el extracto únicamente presentaron una pérdida de firmeza más pronunciada que el tratamiento inoculado y con extracto. Esto puede deberse a que debido a la característica destructiva de la prueba para determinar la firmeza, en cada tiempo de medición se utilizaron diferentes frutos, los cuales pudieron encontrarse en estado de maduración muy diferentes entre sí. Al final del experimento ciertos tratamientos presentaron una disminución en su firmeza de hasta un 40%; de 28.9 a 15.8 N (testigo inoculado), y de 17.50 a 8.3 N (testigo extracto) en comparación al primer día de evaluación, lo cual puede deberse a su proceso de maduración normal del melón. En nuestro experimento los extractos de *C. foetidissima* no pareciera que fueran efectivos para mantener la firmeza de los frutos a lo largo del tiempo de evaluación.

La pérdida de firmeza de los frutos es un factor importante para la calidad postcosecha, ya que lo hace susceptible a daños mecánicos durante su transporte y almacenamiento, comprometiendo su vida de anaquel (Bianchi et al., 2016). Éste fenómeno de ablandamiento está relacionado con la

degradación de la pared celular en el mesocarpio del fruto, o por el proceso de transpiración (Ma et al., 2016).

6.4.4.2 Efecto del extracto en el porcentaje de acidez titulable: Los resultados del efecto del extracto bioactivo en el porcentaje de acidez titulable en melón cantaloupe, se presentan en la Figura 20. Los frutos testigo presentaron un % de ácido cítrico que varió entre 0.047 – 0.062% durante los primeros 12 días del experimento. La aplicación del extracto e inóculo indujo un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) en el % de acidez titulable a los 3 días de almacenamiento, registrándose valores de 0.079 y 0.088%, respectivamente.

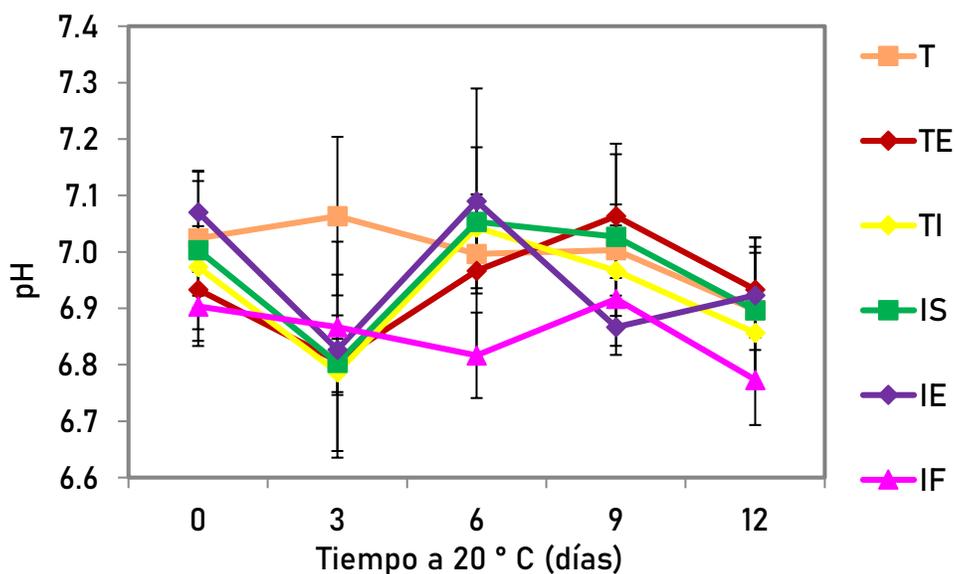
Posteriormente, el % de acidez disminuyó registrando valores similares a los registrados en los frutos testigo extracto, y testigo inoculado, en los días restantes de la evaluación. A pesar de la fluctuación en los resultados, los frutos tratados con los extractos de *C. foetidissima*, mantuvieron un porcentaje de ácido cítrico menor al resto de tratamientos al día 12 del experimento (0.047% testigo extracto, 0.050% inoculado extracto) puesto que los ácidos orgánicos no tendieron a disminuir como podría esperarse dentro de un proceso normal de maduración o de un proceso de proliferación de microorganismos (Mazuela, 2012; Famiani et al., 2015). Quizás algún o algunos compuestos presentes en los extractos esté afectando el metabolismo del ciclo de Krebs en las células del mesocarpio favoreciendo la síntesis de ácidos orgánicos (Muñoz-Villa et al., 2014).



**Figura 20.** Efecto del extracto de *C. foetidissima* en el % de acidez titulable de frutos de melón cantaloupe almacenado a 20 °C y 88 % HR. (TA) Testigo, (TE) Testigo extracto, (TI) Testigo inoculado, (IS) Inoculado solvente, (IE) Inoculado extracto, e (IF) Inoculado fungicida. Barras verticales representan desviación estándar, literales diferentes son diferentes significativamente ( $P < 0.05$ ) ( $n=3$ ).

6.4.4.3 Efecto del extracto en el pH: En las Figura 21 se presentan los resultados del efecto del extracto en el pH de los frutos de melón cantaloupe a 20 °C, 88% H.R. Se puede apreciar que los tratamientos mostraron una disminución generalizada del pH al día 12 del almacenamiento. A este tiempo, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ ). Estos resultados coinciden a los reportados por Bianchi et al. (2016), quienes obtuvieron un promedio de 6.53, en frutos de melón cantaloupe al día 9 posterior a la cosecha.

El tratamiento correspondiente a inoculado con extracto, presentó la disminución más acentuada de pH, (7.07 a 6.91) en comparación al resto de los tratamientos. Nuevamente no se pudo observar que el extracto tuviera un efecto en mitigar la disminución del pH en los frutos. Los valores de pH en los frutos de melón están relacionados con el cambio de los potenciales iónicos celulares del mesocarpio, así como en el fenómeno de maduración del fruto y capacidad de proliferación microbiana; valores bajos de pH pueden permitir una vida de anaquel más amplia (Almeida y Huber, 2002).



**Figura 21.** Efecto del extracto de *C. foetidissima* en el pH de frutos de melón cantaloupe durante almacenamiento a 20 °C, 88% H.R. (TA) Testigo, (TE) Testigo extracto, (TI) Testigo inoculado, (IS) Inoculado solvente, (IE) Inoculado extracto, e (IF) Inoculado fungicida. Barras verticales representan desviación estándar. Resultados no significativos (n=3).

6.4.4.4 Sólidos solubles totales: En el Cuadro 6 se presentan los resultados obtenidos de sólidos solubles totales (SST%) de los frutos de melón aplicados con el extracto bioactivo y almacenados durante 12 días a 20 °C y 88% H.R. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0.05$ ), por lo que el extracto no tuvo un efecto en esta variable. Nuevamente el comportamiento errático de los frutos no permitió apreciar una tendencia a aumentar o disminuir el contenido de azúcares de los frutos respecto al tiempo. Esta variabilidad podría deberse a que la técnica utilizada para determinar los SST es una técnica destructiva por lo que para cada tiempo de muestreo se utilizaron distintos frutos, y posiblemente los frutos de los diversos tratamientos se encontraban en etapas diferentes de maduración.

**Cuadro 6.** Contenido de sólidos solubles totales (% SST) en frutos de melón cantaloupe aplicados con el extracto de *C. foetidissima* y almacenados durante 12 días a 20 °C y 88% H.R.

Tiempo (Días)	Tratamientos					
	T	TE	TI	IS	IE	IF
0	16.02±1.3	15.62±0.3	11.32±1.2	13.32±2.0	10.97±0.6	11.87±1.3
3	11.67±0.9	14.20±1.3	13.32±1.3	11.17±1.3	13.77±0.3	12.57±1.3
6	12.27±1.6	12.27±0.2	11.75±0.4	12.47±1.2	12.45±1.8	14.07±1.4
9	12.55±0.4	12.27±0.7	14.25±1.7	13.90±1.8	9.32±1.2	11.20±1.5
12	12.75±1.4	10.07±1.4	13.05±1.9	12.00±1.4	11.32±1.1	12.50±1.2

\*Los datos representan la media de cuatro repeticiones (n=4), más desviación estándar. Resultados no significativos (N.S.).

Obando-Ulloa et al. (2008) mencionan que el fruto de melón no contiene almidón, así que la máxima acumulación de azúcares en su pulpa será dada por el tiempo que el fruto esté unido a la planta. La concentración de SST fue mayor a lo marcado por la NMX-FF-076-1996, (9% SST), éste es un indicador de que los frutos tienen un sabor bastante dulce y son de primera calidad. Los valores de SST% encontrados en nuestros frutos son similares a los reportados por Menchaca-Ceja et al., (2018) donde melones cantaloupe tuvieron un valor promedio de SST de 12.38.

6.4.4.5 Cambio de color en pulpa: En el Cuadro 7 se presentan los resultados de saturación (Croma) y ángulo de tono (° Hue) de la pulpa de frutos de melón aplicados con el extracto de *C. foetidissima* y almacenados durante 12 días a 20 °C y 88% H.R. Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los diferentes tratamientos. Puede apreciarse una disminución de la saturación en todos los tratamientos para el día 12 del experimento; siendo los tratamientos Testigo e IE, los que tuvieron una mayor disminución en éste parámetro. Estos resultados son similares a los reportados por Ochoa-Meza et al. (2017). La saturación mide la intensidad en el color de la pulpa, una menor intensidad en la saturación está relacionada con la degradación de sustancias como los carotenos (compuesto que dan color naranja-salmón a la pulpa del melón), y consiguientemente con el proceso de senescencia (Greene et al., 2011).

Los frutos con el tratamiento TE presentaron la menor disminución de la saturación de color de su pulpa; mientras que el tratamiento TI, no presentó ninguna disminución en su saturación. Lo anterior hace suponer que el extracto aplicado en el melón no inoculado no afectó la saturación de color; así mismo el comportamiento anormal de TI nos hace pensar que la infección causada por los fitopatógenos aún no afectaba el interior de la fruta al día 12 del experimento. Las infecciones causadas por *Fusarium equiseti* modifican el color de la pulpa de los frutos; es muy evidente observar las zonas afectadas puesto que poseen coloraciones blanquecinas claramente delimitadas (Bruton y Duthie, 1996). Éste síntoma pudo ser observado en los frutos seleccionados para el análisis microbiológico al día 18, el último correspondiente a esa prueba, sin embargo ese parámetro no pudo ser medido e incluido en este apartado.

**Cuadro 7.** Efecto del extracto de *C. foetidissima* sobre el color en pulpa de frutos de melón cantaloupe almacenado a 20 °C y 88% H.R.

Tiempo (Días)	Saturación (Croma)					
	T	TE	TI	IS	IE	IF
0	40.3±0.3 <sup>a</sup>	34.7±0.6 <sup>d</sup>	33.0±1.0 <sup>d</sup>	35.2±0.5 <sup>c</sup>	35.5±1.6 <sup>c</sup>	37.3±0.8 <sup>bc</sup>
3	38.9±0.5 <sup>b</sup>	37.6±1.4 <sup>b</sup>	33.8±1.0 <sup>d</sup>	35.9±3.3 <sup>a-c</sup>	38.1±0.6 <sup>b</sup>	36.8±1.3 <sup>bc</sup>
6	35.5±1.8 <sup>c</sup>	33.9±4.0 <sup>b-d</sup>	33.9±1.4 <sup>cd</sup>	31.6±2.2 <sup>de</sup>	28.7±2.2 <sup>a</sup>	32.4±0.9 <sup>e</sup>
9	35.5±1.5 <sup>c</sup>	38.7±1.1 <sup>b</sup>	36.1±0.6 <sup>c</sup>	39.1±1.2 <sup>ab</sup>	34.6±1.0 <sup>cd</sup>	34.6±1.4 <sup>cd</sup>
12	30.3±1.6 <sup>e</sup>	33.6±1.4 <sup>d</sup>	33.5±0.9 <sup>c</sup>	31.5±1.2 <sup>a</sup>	28.0±1.7 <sup>f</sup>	31.5±3.7 <sup>c-e</sup>
	Ángulo de tono (° Hue)					
0	78.06±0.3	79.77±0.6	82.00±1.0	80.99±0.5	79.47±1.5	79.61±0.7
3	78.50±0.5	79.42±1.4	79.13±0.9	82.22±3.3	79.12±0.5	79.71±1.3
6	76.52±1.8	79.48±3.9	77.73±1.4	76.09±2.1	77.00±2.2	78.24±0.8
9	79.04±1.5	78.44±1.0	79.12±0.6	78.09±1.2	78.87±0.9	79.81±1.4
12	77.05±1.5	76.66±1.3	78.35±0.9	76.58±1.2	79.40±1.6	77.24±3.6

\*Los datos representan una media (n=6), más desviación estándar. (° Hue) sin diferencias significativas

En cuanto al ángulo de tono ( $^{\circ}$  Hue), los frutos de los distintos tratamientos presentaron valores similares, no encontrándose diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre ellos. Estos resultados sugieren que la aplicación del extracto de *C. foetidissima*, así como la inoculación con *F. equiseti*, el fungicida comercial y el solvente, no afectaron el color en la pulpa del melón. Los valores de ángulo de tono obtenidos en el presente estudio, son muy similares a los reportados por Ochoa-Meza et al. (2017).

## 7. CONCLUSIONES

*Cucurbita foetidissima* presenta una menor afectación a la enfermedad de la fusariosis, puesto que síntomas como la defoliación, la clorosis y el marchitamiento fueron menos severos en comparación a los síntomas que presentaron las planta de melón.

En los extractos etanólicos y metanólicos de las raíces de *C. foetidissima*, se encontraron los metabolitos secundarios fenoles, flavonoides, terpenoides y saponinas. El extracto metanólico presentó una mayor concentración de fenoles, terpenoides y saponinas; mientras que el extracto etanólico presentó mayor concentración de flavonoides.

Los extractos etanólicos y metanólicos de la raíz poseen capacidad fungistática moderada (59%) para inhibir el crecimiento micelial *in vitro* de *Fusarium equiseti*, (42%) *Fusarium oxysporum*, y (39 %) *Fusarium solani*, y. En estos dos últimos, también fue del 59%?

El extracto etanólico de *C. foetidissima* tuvo la capacidad de disminuir el deterioro causado por *F. equiseti*, sin afectar las características fisiológicas y de calidad postcosecha del melón cantaloupe.

## 8. RECOMENDACIONES

Continuar con el estudio de los metabolitos secundarios de *Cucurbita foetidissima*, para lo cual se recomendaría un estudio de cromatografía líquida para la identificación de sus compuestos secundarios de interés.

Reforzar el estudio de inhibición *in vitro*; se recomendaría hacer un experimento para determinar si los extractos de *C. foetidissima* son capaces de inhibir la germinación de macroesporas de *Fusarium*, así como un estudio de inhibición con algunos de los compuestos identificados, esto para determinar si alguno posee una mayor actividad fungitóxica que el resto.

Finalmente sería interesante realizar un experimento para observar si los extractos tienen la capacidad de mitigar los síntomas de la fusariosis en las plantas de melón, ésta prueba sería similar a la plantada en el primer objetivo, con la variante de que se agregaría un tratamiento con extractos.

## 9. REFERENCIAS

- Adorada, D. L., Billes, C. M., Liddell, S., Pvia-Fernandez, O., y Waugh, M. E. 2000. Susceptibility of wounded pepper roots to *Phytophthora capsici*. *Plant Pathol.*, 49, 719–726.
- Aeri, V., Kaushik, U., y Mir, S. 2015. *Cucurbitacins* - An insight into medicinal leads from nature. *Pharmacognosy Reviews*, 9(17), 12. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.156314>
- Aguilar-Gastélum, I., Vargas-Arispuro, I., Martínez-Tellez, M., y Arellano-Gil, M. 2016. Inducción del sistema de defensa en plantas de tomate por un extracto hidroalcohólico de ajo para el control de *Fusarium oxysporum*. Centro de Investigación en Alimentación y desarrollo, A.C.
- Almeida, D., y Huber, D. 2002. Apoplastic pH and inorganic ion levels in tomato fruit: A potential means for regulation of cell wall metabolism during ripening. *Physiologia Plantarum*, 105(3), 73–78.
- Apodaca-Sánchez, M. Á., Zavaleta-Mejía, E., Osada-Kawasoe, S., y García-Espinoza, R. 2004. Hospedantes Asintomáticos de *Fusarium oxysporum* Schlechtend . f . sp . radicis - lycopersici. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 22(1), 7–13.
- Arzate-Fernández, A. M Cascales, G. N. 2002. Contribución al conocimiento del pepinillo silvestre (*Melothria pendula* L.). *CIENCIA ergo-sum*, 9(1), 78–86.
- Bednarek, P., y Osbourn, A. 2009. Plant-Microbe Interactions: Chemical Diversity in Plant Defense. *Science*, 324(5928), 746–748.
- Bemis, W. P, Curtis, L. D, C. W., Weber, J., B. 1978. The Feral Buffalo Gourd, *Cucurbita foetidissima*. *Economic Botany*, 32, 87–95.
- Bett-Garber, K. L., Greene, J. L., Lamikanra, O., Ingram, D. A., y Watson, M. A. 2011. Effect of storage temperature variations on sensory quality of fresh-cut cantaloupe *melon*. *Food Quality*, 34, 19–29. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2010.00362.x>
- Bianchi, T., Guerrero, L., Gratacós-cubarsí, M., Claret, A., Argyris, J., Garcia-mas, J., y Hortós, M. 2016. Textural properties of different *melon* (*Cucumis melo* L ) fruit types : Sensory and physical-chemical evaluation. *Scientia Horticulturae*, 201, 46–56. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.01.028>
- Bruton, B., y Duthie, J. 1996. *Fusarium* fruit rot. En T. Zitter, D. Hopkins, y C. Thomas (Eds.), *Compendium of cucurbit diseases* (pp. 50–55). St. Paul. Minnesota: APS Pres.
- Camacho, A., Giles, A., Ortégón, M., Palao, B., y Serrano, B. 2012. *Técnicas para el análisis microbiológico de alimentos*. (Segunda Ed). Ciudad de México: Facultad de Química. UNAM.
- Carrasco, J. A. 2008. Alternativas al Bromuro de Metilo para la Desinfección de Suelos en Tomate y Pimiento. *Boletín INIA* (Chile), 88.
- Chao-Chen, J., Hua-Chiu, M., Lin-Nie, R., Cordel, G. A., y Qiuz, S. X. 2005. *Cucurbitacins* and *Cucurbitane* glycosides: Structures and biological activities. *Natural Product Reports*, 22(3), 386–399. <https://doi.org/10.1039/b418841c>

- Chapagain, B. P., Wiesman, Z., y Tsrer Lahkim, L. 2007. *In vitro* study of the antifungal activity of saponin-rich extracts against prevalent phytopathogenic fungi. *Industrial Crops and Products*, 26(2), 109–115. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2007.02.005>
- Chaparro-Encinas, L., y Hernández-Rodríguez, S. 2017. *Larrea tridentata* extracts as an ecological strategy against *Fusarium oxysporum radicis-lycopersici* in tomato plants under greenhouse conditions. *Patología*, 3, 360–376.
- Chehri, K., Salleh, B., Yli-Mattila, T., Reddy, K. R. N., y Abbasi, S. 2011. Molecular characterization of pathogenic *Fusarium* species in cucurbit plants from Kermanshah province, Iran. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18(4), 341–351. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2011.01.007>
- Chekroun, E., Benariba, N., Adida, H., Bechiri, A., Azzi, R., y Djaziri, R. 2015. Antioxidant activity and phytochemical screening of two *Cucurbitaceae*: *Citrullus colocynthis* fruits and *Bryonia dioica* roots. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(8), 632–637. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(15\)60903-3](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(15)60903-3)
- Colla, P. G. 2012. A review and critical analysis of the European situation of soilborne disease management in the vegetable sector. *Phytoparasitica*, 40, 515–523.
- Curifuta, M., Vidal, J., Sánchez-venegas, J., Salazar, L. A., y Alvear, M. 2012. The *in vitro* antifungal evaluation of a commercial extract of *Chilean propolis* against six fungi of agricultural importance. *Crop protection*, 39(2), 347–359.
- Dang, T. T. T., Le, S. T. T., Channei, D., Khanitchaidecha, W., y Nakaruk, A. 2016. Photodegradation mechanisms of phenol in the photocatalytic process. *Research on Chemical Intermediates*, 42(6), 5961–5974. <https://doi.org/10.1007/s11164-015-2417-3>
- De Cara, M., y Dianez, F. 2005. Presencia del patotipo 1 de *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* en suelos cultivados con melón en el Estado de Colima ( México ), (May 2014).
- Défago, G., y Kern, H. 1983. Induction of *Fusarium solani* mutants insensitive to tomatine, their pathogenicity and aggressiveness to tomato fruits and pea plants. *Physiological Plant Pathology*, 22(1), 29–37. [https://doi.org/10.1016/s0048-4059\(83\)81035-2](https://doi.org/10.1016/s0048-4059(83)81035-2)
- Dinler, H., Dinler, H., Benlioglu, S., y Benlioglu, K. 2016. Occurrence of fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* on strawberry transplants in Aydın province in Turkey. *Australasian Plant Disease Notes*, 11(1), 11–13. <https://doi.org/10.1007/s13314-016-0196-3>
- Everts, K. L., Egel, D. S., Langston, D., y Zhou, X. G. 2014. Chemical management of Fusarium wilt of watermelon. *Crop Protection*, 66, 114–119. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.09.003>
- Everts, K. L., y Himmelstein, J. C. 2015. *Fusarium* wilt of watermelon: Towards sustainable management of a re-emerging plant disease. *Crop protection*, (99), 73–93.
- Everts, K. L., y Himmelstein, J. C. 2015. *Fusarium* wilt of watermelon: Towards sustainable management of a re-emerging plant disease. *Crop Protection*, 73, 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.02.019>
- Figen Mert-Türk. 2006. Saponins versus plant fungal pathogens. *Journal of Cell and Molecular Biology*, (5), 13–17.

- Figuerola-Rivera, M., Rodríguez-Guerra, R., Guerrero-Aguilar, B., González-Chavira, M., Pons-Hernández, J., Jiménez-Bremont, J., Mendoza-Elos, M. 2010. Caracterización de Especies de *Fusarium* Asociadas a la Pudrición de Raíz de Maíz en Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28(2), 124–134.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2019. FAOSTAT statistics database. Recuperado de <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Fourie, G., Steenkamp, E. T., Ploetz, R. C., Gordon, T. R., y Viljoen, A. 2011. Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum* formae specialis cubense within the *Fusarium oxysporum* complex. *Infection, Genetics and Evolution*, 11(3), 533–542. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.01.012>
- Gaidi, G., Marouf, A., Hanquet, B., Bauer, R., Correia, M., Chauffert, B., y Lacaille-Dubois, M. A. 2000. A new major triterpene saponin from the roots of *Cucurbita foetidissima*. *Journal of Natural Products*, 63(1), 122–124. <https://doi.org/10.1021/np9902800>
- García-Robles, M. J., Quintero-ibarra, M., Mercado-Ruiz, N. J., y Báez-Sañudo, R. 2016. Conservación postcosecha de melón cantaloupe mediante el uso de cera comestible y 1-metilciclopropeno. *Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 17(1), 79–85.
- Gava, C., y Pinto, J. 2016. Biocontrol of melon wilt caused by *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *melonis* using seed treatment with *Trichoderma* spp. and liquid compost. *Biological Control*, 97, 1049–9644.
- Ghorai, N. C. 2012. Terpenoids concentration in plant tissues using a monoterpene, Linalool as standard reagent. *Protocol exchange*, (10), 1038.
- Gogoi, M., Sarmah, D. K., y Ali, S. 2017. Cultural and Morphological Variations of *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. Causing Root Rot of Patchouli in Assam, India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(11), 1889–1901. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.225>
- Goyal, S., Lambert, C., Cluzet, S., Merillon, J., y Ramawat, K. 2012. Secondary Metabolites and Plant Defence. *Plant Defence: Biological Control*. (Springer,). [https://doi.org/DOI.10.1007/978-94-007-1933-0\\_5](https://doi.org/DOI.10.1007/978-94-007-1933-0_5),
- Granados, D. 1999. Un recurso forestal de zonas áridas: Calabacilla loca (*Cucurbita foetidissima* H. B. K.). *Universidad Autónoma Chapingo*, 5(1943), 35–40.
- Guerrero-Ruiz, J. C. 2012. Prevenir la pudrición por *Fusarium* en melón. Willoughby. Recuperado de <http://www.hortalizas.com/protección-de-cultivos/prevén-la-pudrición-por-Fusarium-en-melón>
- Hadian, S., Rahnama, K., y Jamali, S. 2011. Comparing Neem extract with chemical. *Advances in Environmental Science*, 5, 2052–2057.
- Helaly, F. M., Soliman, H. S., Soheir, A. D., y Ahmed, A. A. 2001. Controlled release of migration of molluscicidal saponin from different types of polymers containing *Calendula officinalis*. *Journal of the Polymer Processing Institute*, 20(4), 305–311.
- Herrera, F., Rivera Saúl, U. E., Ruíz José, G. C., y Puente Edgar, R. O. 2013. Producción y protección de cultivos Bajo un escenario de cambio climático hongos fitopatógenos asociados a pudriciones de raíz y cuello en sandía en la costa de Hermosillo, Sonora., 566–570.

- Holland, B., Unwin, I., y Buss, D. 1992. *Fruit and Nuts. The Composition of Foods*. (5th ed.). Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- Horax, R., Hettiarachchy, N., y Islam, S. 2005. Total Phenolic Contents and Phenolic Acid Constituents in 4 Varieties of Bitter Melons (*Momordica charantia*) and Antioxidant Activities of their Extracts. *Food Science*, 70, 275–280.
- INTAGRI. (2017). La Inducción de Defensa en las Plantas a través de Elicitores. Artículo. Artículos Técnicos de INTAGRI, 92–98.
- Iturbide-Zuñiga, A. S., Colinas-León, M. T., Lozoya-Saldaña, H., Medina-Moreno, S. A., y Ayala-Arreola, J. 2017. Evaluación *in vitro* de extractos del género *Lilium* para el control de *Fusarium oxysporum*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(3), 611–622.
- Kader, A. A. 2013. Postharvest technology of horticultural Crops- An Overview from Farm to Fork. *Ethiopian Journal of Applied Technology*, (1), 1–8.
- Khoury, N. N., Dagher, S., y Sawaya, W. 1982. Chemical and physical characteristics, fatty acid composition and toxicity of buffalo gourd oil, *Cucurbita foetidissima*. *International Journal of Food Science y Technology*, 17(1), 19–26. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1982.tb00155.x>
- Larkin, D. L., Hopkins, F. N., y Martin, J. D. 1990. Vegetative compatibility within *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* and its relationship to virulence, aggressiveness, and race. *Canadian journal of microbiology*, 36, 352–358.
- Leslie, John F., Summerell, B. A. 2008. *The Fusarium Laboratory Manual* (Second Ed.). Ames, Iowa: Blackwell.
- Ma, Q., Zhang, Y., Critzer, F., Davidson, P. M., y Zhong, Q. 2016. Quality attributes and microbial survival on whole cantaloupes with antimicrobial coatings containing chitosan, lauric arginate, cinnamon oil and ethylenediaminetetraacetic acid. *International Journal of Food Microbiology*, 235, 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.07.030>
- Macías S., K. L., Juárez Flores, B. I., Cárdenas O, N. C., Aguirre R., J. R., y Jasso P., Y. (2009). Evaluación de plantas tradicionalmente utilizadas en la desinfección de heridas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 40(2), 5–10.
- Mahmood, M. A., Kumar, A., Baruah, S., y Dutta, J. 2012. Microbial Pathogen Inactivation Using Heterogeneous Photocatalysis. En *Environmental Chemistry for a Sustainable World* (Vol. 2, pp. 1–546). <https://doi.org/10.1007/978-94-007-2439-6>
- Martiñon, M. E., Moreira, R. G., Castell-Perez, M. E., y Gomes, C. 2014. Development of a multilayered antimicrobial edible coating for shelf-life extension of fresh-cut cantaloupe (*Cucumis melo* L.) stored at 4 C. *LWT-Food Science and Technology*, 56(2), 341–350.
- Menchaca-Ceja, F., Partida-Ruvalcaba, L., García-López, Alejandro Manelik, E., Rodríguez-González, R., Ruiz-Alvarado, C., y Cruz-Villegas, M. 2018. *Cucumis melo Cucumis melo* Establecimiento experimental. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 5(14), 171–179. <https://doi.org/10.19136/era.a5n14.1397>
- Meza-Velázquez, J., Alanís-Guzmán, G., García-Díaz, C., Fortis-Hernandez, M., Rangel, P., y Esparza-Rivera, J. 2013. Efecto de una película de hidroxipropilmetil celulosa-parafina en melón Cantaloupe (*Cucumis melo*) almacenado en frío. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 4(2), 259–271.

- Miao, G. peng, Han, J., Zhang, K. gui, Wang, S. chang, y Wang, C. Run. 2019. Protection of *melon* against *Fusarium* wilt-root knot nematode complex by endophytic fungi *Penicillium brefeldianum* HS-1. *Symbiosis*, 77(1), 83–89. <https://doi.org/10.1007/s13199-018-0565-0>
- Montes, B. R. 2009. Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Revista mexicana de micología*, 29, 73–82.
- Muñoz-Villa, A., Sáenz-Galindo, A., López-López, L., y Cantú-Sifuentes, L. 2014. Ácido Cítrico : Compuesto Interesante. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 6(12), 18–23.
- Ncube, B., Ngunge, V. N. P., Finnie, J. F., y Van Staden, J. 2011. A comparative study of the antimicrobial and phytochemical properties between outdoor grown and micropropagated *Tulbaghia violacea* Harv. plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 134(3), 775–780. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.01.039>
- Nuangmek, W., Aiduang, W., Suwannarach, N., Kumla, J., Kiatsiriroat, T., y Lumyong, S. 2019. First report of fruit rot on cantaloupe caused by *Fusarium equiseti* in Thailand. *Journal of General Plant Pathology*, 1–6. <https://doi.org/10.1007/s10327-019-00841-1>
- Obando-Ulloa, J., y Fernández-Trujillo, J. P. 2008. Identification of *melon* fruit quality quantitative trait loci using near-isogenic lines. *Journal of the American Society for Horticultural Science.*, 133, 139–151.
- Ochoa-Meza, L. C., Troncoso-Rojas, R., Soto-Váldez, H., Madera-Santana, J., y Sánchez-Estrada, A. 2017. *Conservación de melón cantaloupe con un recubrimiento de alginato/carboximetilcelulosa adicionado con alil-isotiocianato*. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo.
- Osborn, A. 1996. Saponins and plant defence a soap story . *Trends in Plant Science*, 1(1), 4–9.
- Páez, A. R., Carrillo, R. G., Barbosa, J. F., Meza, C. L., y Valero, N. O. 2008. *Trichoderma harzianum* Rifai *in vitro* antagonism against *Fusarium solani* ( Mart .) Sacc ., associated to withering in passion fruit. *Revista Colombiana de Biotecnología*, X(2), 35–43.
- Peñuelas-Rubio, O., Arellano-Gil, M., Verdugo-Fuentes, A., Chaparro-Encinas, L., Hernández-Rodríguez, S., Martínez-Carrillo, J., y Vargas-Arispuro, I. 2017. Extractos de *Larrea tridentata* como una estrategia ecológica contra *Fusarium oxysporum* radialis-lycopersici en plantas de tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 35(3), 360–376. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1703-3>
- Pérez, B., Bringas, E., Cruz, L., y Báez-Sañudo, R. 2003. Aplicación de cera comestible en mango. Parte I: Efecto en las características físico-químicas durante el almacenamiento comercial. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 5(2), 140–147.
- Pérez, B., Bringas, E., Veloz, C., y De Villavicencio, M. 2003. Efecto del uso de cera comestible en las características físico-químicas del melón cantaloupe.
- Retamal, C. A., y Mazuela, A. P. 2012. Efecto de la transformación geométrica del fruto de melón ( *Cucumis melo* L ) sobre su calidad bajo cultivo sin suelo. *IDESIA*, 30(3), 65–70.
- Reyes-Avalos, M. C., Mijares-Fuentes, R., Esparza-Rivera, J. R., Contreras-, J. C., César, J., y Sáenz, M. 2017. Calidad de melón cantaloupe ( *Cucumis melo* ) cubierto con una película comestible de alginato. *Nova Scientia*, 9(18), 222–238.

- Rodríguez-Maturino, A., Troncoso-Rojas, R., Sánchez-Estrada, A., Zamora-Bustillos, R., Ceceña-Duran, C., Aviles-Marin, M., y Grimaldo-Juárez, O. 2015. Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) en *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(1), 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2014.12.005>
- Rodríguez Pedroso, A. T., Ramírez Arrebato, M. A., Bautista Baños, S., Cruz Triana, A., y Rivero, D. 2012. Actividad antifúngica de extractos de *Acacia farnesiana* sobre el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Revista Científica UDO Agrícola*, 12(1), 91–96.
- Rosado-Álvarez, C., Molinero-Ruiz, L., Rodríguez-Arcos, R., y Basallote-Ureba, M. J. 2014. Antifungal activity of asparagus extracts against phytopathogenic *Fusarium oxysporum*. *Scientia Horticulturae*, 171, 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.03.037>
- Rubio-Moraga, Á., Gómez-Gómez, L., Trapero, A., Castro-Díaz, N., y Ahrazem, O. 2013. Saffron corm as a natural source of fungicides: The role of saponins in the underground. *Industrial Crops and Products*, 49, 915–921. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.06.029>
- Rubio-Reque, G., Baltodano-Sánchez, F., Abanto-Campos, L., Wilson-Krugg, J., y Muñoz-Ríos, M. (2008). Resistencia *in vitro* de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* a los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai-WP. *Revista Biológica de la Universidad de Trujillo*, (28), 33–36.
- Ruiz-López, L., Troncoso-Rojas, R., Sánchez-Estrada, A., Aguilar, V. F. A., Guerrero, R. C., y Garza, O. S. 2005. Tratamiento postcosecha contra *Fusarium roseum* en melón reticulado (*Cucumis melo* L.). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 6(2), 110–116.
- SAGARPA. 2017. Aumenta producción de melón mexicano más de 21 mil toneladas en un año. Recuperado de [www.gob.mx/sagarpa/prensa/aumenta-produccion-de-melon-mexicano-mas-de-21-mil-toneladas-en-un-anoysa](http://www.gob.mx/sagarpa/prensa/aumenta-produccion-de-melon-mexicano-mas-de-21-mil-toneladas-en-un-anoysa)
- Sagitov, A. O., El-Habba, G. M., y El-Fiki, I. A. 2011. Studies on tomato wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in Kazakhstan. 1B: Effect of exogenous application of garlic and black pepper extracts as resistance inducer treatments on the wilt disease incidence and some plant growth parameters. *Исследования Результаты*, 1(49), 113–119.
- Salas-Gómez, A. L. 2013. Efecto del extracto de *Jatropha dioica* Sessé en el control de *Fusarium oxysporum* en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buena Vista, Saltillo, Coahuila.
- Salazar, R., Pozos, M. E., Cordero, P., Perez, J., Salinas, M. C., y Waksman, N. 2008. Determination of the antioxidant activity of plants from northeast Mexico. *Pharmaceutical Biology*, 46(3), 166–170. <https://doi.org/10.1080/13880200701498952>
- Sanabria, M. E., Rodríguez, J. L., y Rodríguez, D. 2006. *Inhibición de hongos fitopatogenos con extractos de Lippia oreganoides (HBK) y Phyllanthus niruri L.* Zaragoza.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., y Lamuela-Raventós, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent.". *Methods in enzymology*, 299, 152–178.

- Steinkellner, S., y Mammerler, R. 2007. Effect of flavonoids on the development of *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. *Journal of Plant Interactions*, 2(1), 17–23. <https://doi.org/10.1080/17429140701409352>
- Tenorio, R., Terrazas, E., Alvarez, M., Vila, J., y Mollinedo, P. 2010. Concentrados de saponina de *Chenopodium quinoa* y de *Caiphora andina*: alternativas como biocontroladores de hongos fitopatógenos. *Revista Boliviana de Química*, 27–33.
- Tequida-Meneses, M., Cortez-Rocha, M., Rosas-, E. C., y Corrales-Maldonado, S. L.-S. C. 2002. Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 01(19), 84–88.
- Tiku, A. 2018. Antimicrobial Compounds and Their Role in Plant Defense. En *Molecular Aspects of Plant-Pathogen Interaction* (pp. 283–307). Singapore: Singh I Springer.
- Treviño, N., Rodríguez, G., Verde S, M., Morales, R., Garza, P., Rivas, M., y Oranday, A. 2012. Actividad antifúngica de *Stenocereus pruinosus* y *Echinocereus stramineus*. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 43(1), 42–48.
- Trigos, A., Ramírez, K., y Salinas, A. 2008. Presencia de hongos fitopatógenos en frutas y hortalizas y su relación en la seguridad alimentaria. *Revista mexicana de micología*, 28, 125–129.
- Villa-Martínez, A. 2015. Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*, 64(2), 194–205.
- Watkins, C. B., y Michael, K. 2002. Ethylene synthesis, mode of action, consequences and control. En *Fruit Quality and its Biological Basis* (pp. 180–224). Sheffield, Reino Unido: Sheffield Academic Press.
- Wiesel, L., Newton, A. C., Elliott, I., Booty, D., Gilroy, E. M., Birch, P. R., y Hein, I. 2014. Molecular effects of resistance elicitors from biological origin and their potential for crop protection. *Frontiers in plant science*, 5, 655.
- Wightwick, A., Walters, R., Allinson, G., Reichman, S., y Menzies, N. 2010. Environmental Risks of Fungicides Used in Horticultural Production Systems. *In Tech*, 273–279. <https://doi.org/10.5772/13032>
- Wu, H., Zheng, S., Bi, Y., y Zhu, Y. 2010. Saponins: A possible relation with *Fusarium oxysporum* f.sp. lili resistance in lilies (*Lilium L.*). *Acta Horticulturae*, 855, 295–298.
- Zambrano-Zaragoza, M. L., Quintanar-Guerrero, D., Del Real, A., Piñon-Segundo, E., y Zambrano-Zaragoza, J. F. 2017. The release kinetics of  $\beta$ -carotene nanocapsules/xanthan gum coating and quality changes in fresh-cut melon (cantaloupe). *Carbohydrate polymers*, 157, 1874–1882.
- Zhao, Q., Dong, C., Yang, X., Mei, X., Ran, W., Shen, Q., y Xu, Y. 2011. Biocontrol of *Fusarium* wilt disease for *Cucumis melo melon* using bio-organic fertilizer. *Applied Soil Ecology*, 47(1), 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.09.010>
- Zhi-Feng, C., y Guang-Guo, Y. 2015. Occurrence, fate and ecological risk of five typical azole fungicides as therapeutic and personal care products in the environment: A review. *Environment International*, 142–143.

Zhishen, J., Mengcheng, T., y Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555–559.