



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA
EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA
ÁREA TEMÁTICA: BIOTECNOLOGÍA ALIMENTARIA**

TESIS

Para obtener el grado de Maestra en Ciencias Biológicas

**Efecto antifúngico de un recubrimiento de quitosano con extracto acuoso
de tallo de *Verbesina sphaerocephala* sobre *Botrytis cinerea*
en frutos de zarzamora**

P r e s e n t a:

Lic. Biotec. Sol Erandi Rodríguez Hernández

Director de Tesis:

DR. RAFAEL SALGADO GARCIGLIA

Co-Directora de Tesis:

DRA. ALEJANDRA HERNÁNDEZ GARCÍA



Mayo, 2026. Morelia, Michoacán.

OFICIO DE FIRMAS ACEPTACIÓN TESIS

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la dirección del Dr. Rafael Salgado Garciglia y de la Dra. Alejandra Hernández García.



DEDICATORIA

*Para Pepín, mi mamá, mi hermana, mis tíos y para Miguel.
Por su apoyo, por su cariño, por su comprensión <3.*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la **Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo**, por formarme desde la preparatoria, la licenciatura en biotecnología y por permitirme desarrollarme durante estos estudios de maestría.

Al **Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas**, por brindarme la oportunidad de pertenecer a su estudiantado, especialmente a Lilí, por orientarme paso a paso en la entrega oportuna de los reportes.

A los doctores del Laboratorio de Biotecnología Vegetal, el **Dr. Rafael Salgado Garciglia** y la **Dra. Alejandra Hernández García**, por apoyarme, guiarme y enseñarme la biotecnología con tanta dedicación y compromiso, desde mi inicio.

Al comité sinodal conformado por mi director de tesis, el **Dr. Rafael Salgado Garciglia**, mi codirectora, la **Dra. Alejandra Hernández García**, la **Dra. Patricia Ríos Chávez**, el **Dr. Rafael Zamora Vega** y el **Dr. José Roberto Medina Medrano**, por sus comentarios, sus observaciones y sus aportaciones durante el proyecto y la tesis.

A **mi mamá**, a **mi hermana**, a **mis abuelos**, por sus palabras y todo su apoyo.

A **Miguel Ramírez**, mi cómplice de vida, por ayudarme y acompañarme desde la primera evaluación del proyecto, también por incentivarme al conocimiento con tus preguntas.

A mis compañeros del **Laboratorio de Biotecnología Vegetal**: **Karina, Christian, Andrés, Frida, Yunuen y Erika** me hacen reír mucho, disfruto mucho comer taquitos del primo con ustedes 😊.

Al **Instituto de Investigaciones Químico Biológicas** y a todas las personas que saludo todos los días, que, aunque no he estado inscrita en él, ha sido mi casa desde hace varios años.

A mis compañeros de maestría: **Cruz, Jaqui, Noé, Andrea, Arturo, Armando, Cristina, Diana, Rosy y Mario**, el mejor equipo de Biotecnología alimentaria.

ÍNDICE GENERAL

Página

ÍNDICE DE CUADROS.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	iv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	4
2.1. Zarzamora.....	4
2.1.1. <i>Rubus fruticosus</i> cv. Tupy.....	5
2.1.2. Afectaciones en la producción de zarzamora.....	6
2.2. Moho gris en frutos de zarzamora.....	7
2.2.1 Control de moho gris en el cultivo de zarzamora.....	9
2.2.2 Alternativas de tratamientos en frutos poscosecha de zarzamora.....	12
2.3. Recubrimientos comestibles de frutos poscosecha.....	13
2.3.1. Recubrimientos de quitosano en frutos poscosecha.....	14
2.4. Extractos vegetales antifúngicos como aditivos en recubrimientos de frutos.....	16
2.4.1 Mecanismos de acción antifúngica.....	17
2.5. Género <i>Verbesina</i> L. (Asteraceae, 1753 (Species Plantarum)).....	19
2.5.1. <i>Verbesina sphaerocephala</i> A. Gray (Proc. Amer. Acad. Arts 22: 428, 1887).....	19
3. JUSTIFICACIÓN.....	22
4. HIPÓTESIS.....	23
5. OBJETIVOS.....	24
5.1. Objetivo general.....	24
5.1.1. Objetivos específicos.....	24
6. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.....	25
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
7.1. Material biológico.....	26
7.1.1. Tallos de <i>V. sphaerocephala</i>	26
7.1.2. Cepa de <i>Botrytis cinerea</i>	27
7.1.3. Obtención del extracto acuoso de tallo de <i>V. sphaerocephala</i>	27
8. RESULTADOS.....	29
8.1. Capítulo 1. Determinación de la actividad antifúngica <i>in vitro</i> del extracto acuoso de tallo de <i>Verbesina sphaerocephala</i> y quitosano, sobre <i>Botrytis cinerea</i>	29
Resumen.....	29
Materiales y métodos.....	29
Actividad antifúngica <i>in vitro</i> del EATVs y del quitosano sobre <i>B. cinerea</i>	29
Caracterización fisicoquímica del EATVs.....	30
Análisis estadístico.....	31
Resultados y discusión.....	31
Actividad antifúngica <i>in vitro</i> del EATVs.....	31
Actividad antifúngica <i>in vitro</i> del quitosano.....	34
Caracterización fisicoquímica del EATVs.....	37
Conclusión.....	37
8.2. Capítulo 2. Determinación del efecto antifúngico sobre <i>Botrytis cinerea</i> de recubrimientos de quitosano adicionados con el extracto acuoso de tallo de <i>Verbesina sphaerocephala</i> en frutos poscosecha de zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i> cv. Tupy).....	38

Resumen	38
Materiales y métodos	38
Frutos de zarzamora.	38
Pruebas de Patogenicidad.....	39
Determinación del tiempo de inmersión y de secado del recubrimiento de quitosano en frutos de zarzamora cv. Tupy.	39
Efecto antifúngico en frutos de zarzamora cv. Tupy con recubrimientos, inoculados con <i>B. cinerea</i>	40
<i>En frutos recubiertos con quitosano solo</i>	40
<i>En frutos recubiertos con quitosano con la CI₁₀₀ del extracto acuoso de tallo de V. sphaerocephala</i>	41
Análisis estadístico	41
Resultados y discusión	41
Pruebas de patogenicidad.....	41
Determinación del tiempo de inmersión y secado en frutos recubiertos con quitosano.....	43
Determinación antifúngica en frutos recubiertos de quitosano.....	44
Conclusión	48
8.3. Capítulo 3. Análisis de las propiedades mecánicas, el contenido de polifenoles y actividad antioxidante en frutos poscosecha de zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i> cv. Tupy) recubiertos con quitosano solo o adicionado con la CI₁₀₀ del extracto acuoso de tallo de <i>Verbesina sphaerocephala</i>	49
Resumen	49
Materiales y métodos	49
Frutos de zarzamora.....	49
Evaluación del peso, firmeza y contenido de sólidos solubles en los frutos de zarzamora poscosecha recubiertos con quitosano y EATVs.	49
Pérdida de peso.....	50
Firmeza.....	50
Sólidos solubles totales (SST).....	50
Obtención de los extractos de frutos de zarzamora poscosecha.....	51
Determinación del contenido de compuestos totales.....	52
Determinación del contenido total de ácidos fenólicos.	52
Determinación del contenido total de flavonoides.....	52
Determinación del contenido total de antocianinas.....	53
Determinación de la actividad antioxidante <i>in vitro</i>	54
Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH*.....	54
Determinación de la actividad antioxidante por el método de ABTS•+.....	55
Análisis estadístico	56
Resultados y discusión	56
Pérdida de peso, firmeza y sólidos solubles en los frutos de zarzamora poscosecha recubiertos con quitosano y EATVs.	56
Pérdida de peso.....	56
Firmeza.....	57
Sólidos solubles totales (SST).	59
Determinación del contenido de compuestos totales.....	61
Determinación del contenido total de ácidos fenólicos.	61
Determinación del contenido total de flavonoides.....	62

Determinación de la actividad antioxidante <i>in vitro</i>	65
Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH*.....	65
Determinación de la actividad antioxidante por el método de ABTS•+.....	67
Conclusión	68
9. DISCUSIÓN GENERAL	69
Actividad antifúngica <i>in vitro</i> del EATVs y quitosano.....	69
Efecto antifúngico en frutos poscosecha de zarzamora cv. Tupy recubiertos.....	69
Propiedades mecánicas y conservación de compuestos bioactivos.....	69
Capacidad antioxidante y sinergia entre el quitosano con EATVs.....	70
Posibles mecanismos de acción antifúngica y antioxidante.....	71
Preservación estructural durante la vida de anaquel de los frutos cubrimientos.....	72
10. CONCLUSIONES GENERALES	73
11. PERSPECTIVAS	74
12. LITERATURA GENERAL CITADA	75
13. ANEXOS	91

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Fungicidas químicos sintéticos utilizados para controlar enfermedades de zarzamora.	11
Cuadro 2. Efectividad antifúngica de recubrimientos de quitosano adicionados con extractos vegetales.....	17
Cuadro 3. Porcentajes de inhibición in vitro del extracto acuoso de tallo de <i>V. sphaerocephala</i> sobre <i>Botrytis cinerea</i> , a los 7 días del cultivo.....	32
Cuadro 4. Propiedades organolépticas del extracto acuoso de tallo de <i>V. sphaerocephala</i> a 1 y 10 mg/mL.....	37
Cuadro 5. Tratamientos en frutos de zarzamora cv. Tupy utilizados para la determinación del tiempo óptimo y de secado del recubrimiento por quitosano al 2.5 %.	43
Cuadro 6. Porcentajes de infección e índices de severidad (IS) en frutos de zarzamora cv. Tupy, a los 5 días después de la inoculación con 1×10^3 esporas/mL por el método de aspersión	45
Cuadro 7. Determinación de tiempo de inmersión en quitosano y tiempo de secado en área estéril de frutos de zarzamora cv. Tupy.....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Morfología de la zarzamora.....	6
Figura 2. Fase anamorfa o asexual de <i>Botrytis cinerea</i>	8
Figura 3. Fase teleomórfica de <i>Botryotinia fuckeliana</i>	8
Figura 4. Frutos de zarzamora.....	9
Figura 5. Mecanismos de acción de fungicidas.....	18
Figura 6. <i>Verbesina sphaerocephala</i>	20
Figura 7. Recolección, confirmación de especie y obtención de tallo pulverizado de <i>Verbesina sphaerocephala</i>	26
Figura 8. Crecimiento micelial de <i>Botrytis cinerea</i> en medio PDA, a los 8 días de cultivo.....	27
Figura 9. Obtención del Extracto Acuoso de Tallo de <i>Verbesina sphaerocephala</i> (EATVs).....	28
Figura 10. Curva de inhibición de concentraciones del extracto acuoso de tallo de <i>V. sphaerocephala</i> para la determinación de la CI ₁₀₀ sobre <i>B. cinerea</i> en condiciones <i>in vitro</i>	33
Figura 11. Porcentajes de inhibición de quitosano <i>in vitro</i> sobre <i>B. cinerea</i>	35
Figura 12. Porcentajes de inhibición <i>in vitro</i> de quitosano.....	36
Figura 13. Imágenes representativas de la prueba de patogenicidad por <i>B. cinerea</i> en frutos de zarzamora.....	45
Figura 14. Imágenes representativas de la determinación de tiempo de inmersión/tiempo de secado del quitosano en frutos de zarzamora cv. Tupy.....	47
Figura 15. Porcentajes de inhibición en frutos de zarzamora cv. Tupy recubiertos con quitosano e inoculados con <i>B. cinerea</i>	48
Figura 16. Imágenes representativas de los frutos de zarzamora cv. Tupy recubiertos con quitosano e inoculados con <i>B. cinerea</i> , después de la incubación por 7 días a 10°C y después por 5 días a 25°C.....	49
Figura 17. Porcentajes de inhibición en frutos de zarzamora cv. Tupy recubiertos con quitosano adicionado con el extracto acuoso de tallo de <i>Verbesina sphaerocephala</i> e inoculados con <i>B. cinerea</i> , después de la incubación por 7 días a 10°C y después por 5 días a 25°C.....	50
Figura 18. Imágenes representativas de los frutos de zarzamora recubiertos con quitosano con extracto acuoso de tallo de <i>V. sphaerocephala</i> , inoculados con <i>B. cinerea</i>	50
Figura 19. Pérdida de peso (g) en frutos de zarzamora cv. Tupy frescos (Día 0) y almacenados por 7 días a 10 °C y después por 5 días a 25 °C.....	62

		Pág.
Figura 20.	Firmeza en frutos de zarzamora cv. Tupy frescos (Día 0) y almacenados por 7 días a 10 °C y después por 5 días a 25 °C.....	63
Figura 21.	Sólidos solubles totales en frutos de zarzamora cv. Tupy frescos (Día 0) y almacenados por 7 días a 10 °C y después por 5 días a 25 °C.....	65
Figura 22.	Contenido total de ácidos fenólicos (mg Equivalentes de Ácido Gálico/g peso seco) en frutos de zarzamora cv. Tupy frescos (Día 0) y almacenados por 7 días a 10 °C y después por 5 días a 25 °C.....	66
Figura 23.	Contenido de flavonoides totales (mg Equivalentes de Quercetina/g peso seco) en frutos de zarzamora cv. Tupy frescos (Día 0) y almacenados por 7 días a 10 °C y después por 5 días a 25 °C.....	68
Figura 24.	Contenido total de antocianinas (mg/L) en frutos de zarzamora cv. Tupy frescos (Día 0) y almacenados por 7 días a 10 °C y después por 5 días a 25 °C.....	70
Figura 25.	Determinación de actividad antioxidante mediante el método DPPH• en frutos de zarzamora cv. Tupy frescos (Día 0) y almacenados por 7 días a 10 °C y después por 5 días a 25 °C, EATVs.....	71
Figura 26.	Determinación de actividad antioxidante mediante el método ABTS•+, en frutos de zarzamora cv. Tupy frescos (Día 0) y almacenados por 7 días a 10 °C y después por 5 días a 25 °C.....	72

RESUMEN

Se evaluó la actividad antifúngica *in vitro* e *in vivo* del extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (EATVs) combinado con quitosano para el control de *Botrytis cinerea* en frutos de zarzamora (*Rubus fruticosus* cv. Tupy). El EATVs se obtuvo mediante infusión (90 °C) y maceración en agua:etanol (1:1, v/v) y para la determinación de su efecto antifúngico, se realizaron ensayos *in vitro* con el método de difusión en pozo probando concentraciones de (0-0.9 mg/mL) del EATVs y de quitosano (1-3%). En la fase *in vivo*, se utilizaron frutos de zarzamora desinfectados e inoculados con una suspensión de esporas (1×10^3 esporas/mL) de *B. cinerea*. Los frutos fueron recubiertos por inmersión (5 min) y almacenados en frío (10 °C/7 días) y en simulación de vida de anaquel (25 °C/5 días) para determinar el índice de severidad (IS). Mediante los ensayos *in vitro*, la Concentración Letal Total (CI₁₀₀) calculada del EATVs fue de 1.01 mg/mL, mientras que el quitosano al 2.5% alcanzó un 88% de inhibición. No obstante, con la combinación de ambos (CI₁₀₀ de EATVs + 2.5% quitosano) se logró una inhibición total (100%) del crecimiento micelial. En las pruebas con frutos, este mismo recubrimiento combinado mostró un 100% de eficacia, eliminando los síntomas de infección por *B. cinerea* durante el periodo de evaluación a 25 °C. Con la adición del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala*, se potenciaron las propiedades antifúngicas del quitosano. Esta formulación sinérgica constituye una alternativa viable para prolongar la vida de anaquel de la zarzamora, manteniendo la calidad del fruto y ofreciendo una protección integral contra el moho gris.

Palabras clave: Antifúngico, *Botrytis cinerea*, extracto, *Verbesina*, quitosano, zarzamora

ABSTRACT

The *in vitro* and *in vivo* antifungal activity of the aqueous extract of *Verbesina sphaerocephala* stem (EATVs) combined with chitosan was evaluated for the control of *Botrytis cinerea* in blackberry fruits (*Rubus fruticosus* cv. Tupy). The EATVs was obtained by infusion (90 °C) and maceration in water:ethanol (1:1, v/v) and for the determination of its antifungal effect, *in vitro* assays were performed with the well diffusion method testing concentrations of (0-0.9 mg/mL) of the EATVs and chitosan (1-3%). In the *in vivo* phase, blackberry fruits were disinfected and inoculated with a suspension of spores (1×10^3 spores/mL) of *B. cinerea*. The fruits were coated by immersion (5 min) and stored in cold (10 °C/7 days) and in shelf-life simulation (25 °C/5 days) to determine the severity index (SI). By *in vitro* assays, the calculated Total Lethal Concentration (IC₁₀₀) of the EATVs was 1.01 mg/mL, while chitosan at 2.5% reached 88% inhibition. However, with the combination of both (IC₁₀₀ of EATVs + 2.5% chitosan) a total inhibition (100%) of mycelial growth was achieved. In the fruit trials, this same combined coating showed 100% efficacy, eliminating symptoms of *B. cinerea* infection during the evaluation period at 25 °C (IS=0). With the addition of the aqueous extract of the stem of *V. sphaerocephala*, the antifungal properties of chitosan were enhanced. This synergistic formulation is a viable alternative to prolong the shelf-life of blackberries, maintaining fruit quality and offering comprehensive protection against grey mould.

Keywords: Antifungal, *Botrytis cinerea*, extract, *Verbesina*, chitosan, blackberry.

1. INTRODUCCIÓN

México es uno de los productores más importantes de frutillas o bayas como la zarzamora, con niveles de exportación que aumentan cada año y el estado de Michoacán es el principal productor a nivel nacional. Durante el transporte y la comercialización (vida de anaquel), los frutos de zarzamora sufren pérdidas del 10 al 40%, principalmente por la acelerada maduración o por causa del ataque de hongos patógenos (SIAP, 2021). El hongo *Botrytis cinerea* es uno de los fitopatógenos que ocasiona las mayores pérdidas durante la vida de anaquel de estos frutos, es el agente causal de la enfermedad conocida como moho gris (Droby *et al.*, 2009; Terrones-Salgado *et al.*, 2019). La infección generalmente ocurre en los tejidos de las plantas cercanos al fruto y permanece latente en campo, activándose la infección durante la postcosecha, desarrollándose la enfermedad durante el almacenamiento, transporte o comercialización de los frutos (Calvo-Garrido *et al.*, 2014).

Con fines de controlar el ataque de este hongo, en campo se aplican diversos fungicidas químicos sintéticos con ingredientes activos como Benomyl 50®, Thiram®, Mancozeb® y Captán®. Sin embargo, estos compuestos preocupan por su uso excesivo y a los efectos nocivos en la salud pública, en los ecosistemas y en el desarrollo potencial de la resistencia microbiana. Para mantener inocuos los frutos durante su comercialización y evitar su contaminación por hongos como *B. cinerea*, se utilizan diversos fungicidas como Ciprodinil + Fludioxonil (*Switch*), Boscalid + Piraclostrobina (*Pristine*) y Fenilpirrol (*Fludioxonil*), que pueden representar riesgos en la salud de los consumidores sobre todo en frutos como los de zarzamora, que se consumen frescos, sin procesamiento (SSM, 2022).

Por lo tanto, es necesario explorar alternativas de control de este tipo de hongos poscosecha y así reducir el uso de fungicidas sintéticos (Nicolopoulou-Stamati *et al.*, 2016; Koch *et al.*, 2017). Entre estas, los tratamientos térmicos (agua o aire), la irradiación con luz como la ultravioleta, los envases en atmósfera modificada y los recubrimientos con productos naturales vegetales, se encuentran entre los más probados (Palou *et al.*, 2008; Kahramanoglu *et al.*, 2022). Los recubrimientos de quitosano o quitosán son de los más efectivos para el control de este tipo de hongos como *B. cinerea* y se obtiene como residuo industrial ecológico, ya que su origen está

en los desechos industriales de crustáceos de la industria alimentaria, a partir del proceso de obtención de la quitina. Es considerado biodegradable y antifúngico, reconocido como un compuesto seguro (*GRAS*) y tiene la particularidad de prolongar la vida útil de los frutos ya que presenta buenas propiedades ópticas (color, brillo, resistencia a la luz ultravioleta), propiedades de barrera (resistencia al agua y al vapor de agua), así como buenas propiedades mecánicas, incluyendo resistencia a la tracción, a la elongación y a la rotura (López-Mata *et al.*, 2013; Darol *et al.*, 2016).

La adición a los recubrimientos de quitosano con compuestos fitoquímicos por su actividad antifúngica, además les otorgan un carácter polifuncional, como antimicrobiano, antioxidante e, incluso, mejoran su calidad organoléptica y nutricional. Debido a esto, diversas investigaciones han demostrado la necesidad de realizar estudios que refuercen las propiedades antifúngicas del recubrimiento de quitosano, con la adición de compuestos o de extractos vegetales (Bautista-Baños *et al.*, 2004; Perdonés *et al.*, 2012).

Los productos de origen vegetal como los terpenos y los alcaloides, pero principalmente los de tipo fenólico (ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas y otros polifenoles), han sido probados en diferentes frutos y se consideran aceptables debido a su naturaleza altamente biodegradable (Madera-Santana *et al.*, 2019). Diversos ácidos fenólicos y flavonoides, tienen actividad antifúngica e inducen la biosíntesis de algunos fitoquímicos protectores de defensa en el fruto, ya que pueden retardar la producción de etileno, reducir la actividad de los radicales libres, la oxidación y prevenir la degradación enzimática (Ali *et al.*, 2017; Maringgal *et al.*, 2020; Nor y Ding, 2020). Las investigaciones indican que este tipo de empaques son ecológicos y presentan un alto potencial antifúngico (Matos-González, 2020).

Recientemente, en nuestro grupo de trabajo, se ha demostrado que el extracto acuoso de tallos de *V. sphaerocephala* presenta actividad antifúngica sobre *B. cinerea* y particularmente contiene un alto contenido de ácidos fenólicos y flavonoides, lo que aporta, también actividad antioxidante (Rodríguez-Valdovinos *et al.*, 2019; Rodríguez-Valdovinos *et al.*, 2024). Esta especie vegetal pertenece a la familia Asteraceae, es una planta silvestre que desempeña un papel fundamental en la medicina tradicional de diversas comunidades en México, por lo que la

industria farmacéutica y agrícola la considera de gran interés, debido a los metabolitos secundarios aislados que contiene (Ruiz-Jiménez, 2015; Velasco-Ramírez *et al.*, 2019; Rodríguez-Valdovinos *et al.*, 2024).

Debido a lo anteriormente planteado, el objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto antifúngico del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* sobre *B. cinerea* tanto en ensayos *in vitro* como adicionado en los recubrimientos de quitosano durante la preservación de frutos de zarzamora.

2. ANTECEDENTES

2.1. Zarzamora (*Rubus fruticosus*)

Los frutos de la zarzamora (*Rubus fruticosus*) son altamente nutritivos por el alto contenido de fibra soluble, vitaminas, minerales y compuestos fenólicos, que presentan principalmente propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerosas (Cuevas-Rodríguez *et al.*, 2010; Azofeifa *et al.*, 2013).

Esta especie es de la división Magnoliophyta (angiospermas), clase Magnoliopsida, orden Rosales y se clasifica dentro de la familia Rosaceae. Su ubicación taxonómica más específica se encuentra en el género *Rubus* y el subgénero *Rubus* (anteriormente denominado *Eubatus*), el cual agrupa a un complejo de especies poliploides y frecuentemente híbridas conocidas colectivamente como el grupo de las "zarzamoras". Dependiendo de la especie cultivada, se pueden identificar ejemplares como *Rubus ulmifolius*, *Rubus fruticosus* o híbridos modernos desarrollados mediante mejoramiento genético (Huang *et al.*, 2023). En general, son arbustos espinosos, caducifolios, perennes, semipostrados a casi erecto, trepadores, con tallo enredado y arqueado que crece hasta 3 m a un ritmo rápido. La planta florece a principios del verano y finales de la primavera, aunque depende de las condiciones del cultivo y la ubicación. El diámetro de cada flor es de aproximadamente 2-3 cm y presenta 5 pétalos de color rosa pálido o blanco, estas flores tienen múltiples estambres y después de la caída de los pétalos, el fruto desarrolla un agregado de drupas (polidrupa) que se vuelven verdes antes y luego se tornan rojas o negras al madurar. El color de la fruta y del jugo es un parámetro importante desde el punto de vista comercial, ya que los consumidores evalúan el producto según su apariencia (Hummer *et al.*, 2007).

Su cultivo tiene gran importancia comercial, ya que constituye inversiones considerables de capital en nuestro país, por lo que, en los últimos años, la producción de zarzamora ha aumentado en un 335%, siendo los estados de Michoacán, Jalisco, Hidalgo y México, los principales productores, debido a que tiene una rentabilidad elevada y un buen posicionamiento en el mercado mundial. En solo una década, México ha logrado posicionarse como el principal productor y exportador de esta

frutilla, en la que Michoacán produce el 95% de la producción nacional, de los cuales, los municipios de Los Reyes y Peribán, alcanzan el 60%. Los principales destinos de exportaciones son Estados Unidos, Alemania, Países bajos, Reino Unido y España (FAOSTAT, 2020; SIAP, 2021; SADER, 2024).

En México se han introducido diversos cultivares como Cherokee, Comanche, Cheyenne, Shawnee, Choctaw y Brazos, originarias del programa de mejoramiento genético de la Universidad de Arkansas en E.U.A., de los cuales han predominado en México los cultivares Brazos y Tupy, debido a ambos poseen porte semierecto y espinas (Strik *et al.*, 2007). En la última década, se han introducido nuevos cultivares como Yosemite, Fenomenal, Sweet Karoline, Kiowa, Osage e Isabela. Sin embargo, en Michoacán más del 90% de la producción es del cultivar Tupy, esto se debe a la excelente adaptación del fruto al clima del estado antes mencionado, ya que a los frutos de zarzamora les favorece un clima subtropical húmedo, con una temperatura de entre 16 a 25 °C. Este fruto se encuentra con mayor disponibilidad en los meses de abril, mayo, junio, noviembre y diciembre. (SIAP, 2021). Este cultivar destacó del resto, dado que presenta un fruto de buena consistencia que permite una mayor vida de anaquel, lo cual facilita su transporte en camiones refrigerados, reduciendo los costos de comercialización, además de tener un gran tamaño, color y sabor (SADER, 2020).

2.1.1. *Rubus fruticosus* cv. Tupy

Este cultivar de zarzamora fue obtenido por el programa de mejoramiento de Embrapa Pelotas (RS, Brasil) y es un híbrido de la cruce de los cultivares Comanche y clon desconocido llamado 'Uruguay', originario de ese país. Esta variedad presenta un tallo con numerosas espinas cortas y afiladas, cuyo hábito de crecimiento es erecto, sus hojas son grandes y palmeadas, cuenta con flores de cinco pétalos blancuecinas de 2 a 3 cm de diámetro (Rubio-Ochoa *et al.*, 2019) (Figura 1). Entre sus diferentes cualidades, los frutos de zarzamora pueden consumirse fresco o procesado y son muy utilizados para la elaboración de mermeladas, pasteles, helados, zumos, vinos y licores, y puede consumirse como fruto seco (Antunes, 2002; Clark y Finn, 2008). La aceptación del producto depende del sabor de la calidad de los frutos, que está compuesto por compuestos volátiles y también del equilibrio entre ácidos y azúcares. El metabolismo de los frutos durante la maduración, la manipulación posterior a la cosecha y el almacenamiento son

determinantes para la producción de volátiles de sabor y también dependen de factores como la etapa de maduración y las especies vegetales (Riu-Aumatell *et al.*, 2004; Christensen *et al.*, 2007; Jacques *et al.*, 2014).

De acuerdo a Rubio-Ochoa *et al.* (2019), los frutos de zarzamora cv. Tupy tienen en promedio una longitud de 4.6 cm, con hasta 64 drupillas y un peso promedio de 7.2 g. La composición proximal muestra un pH de 3.3, un porcentaje de humedad de 87.7%, con un contenido de 1.56 de azúcares reductores y 9.8 de sólidos solubles (°Brix).

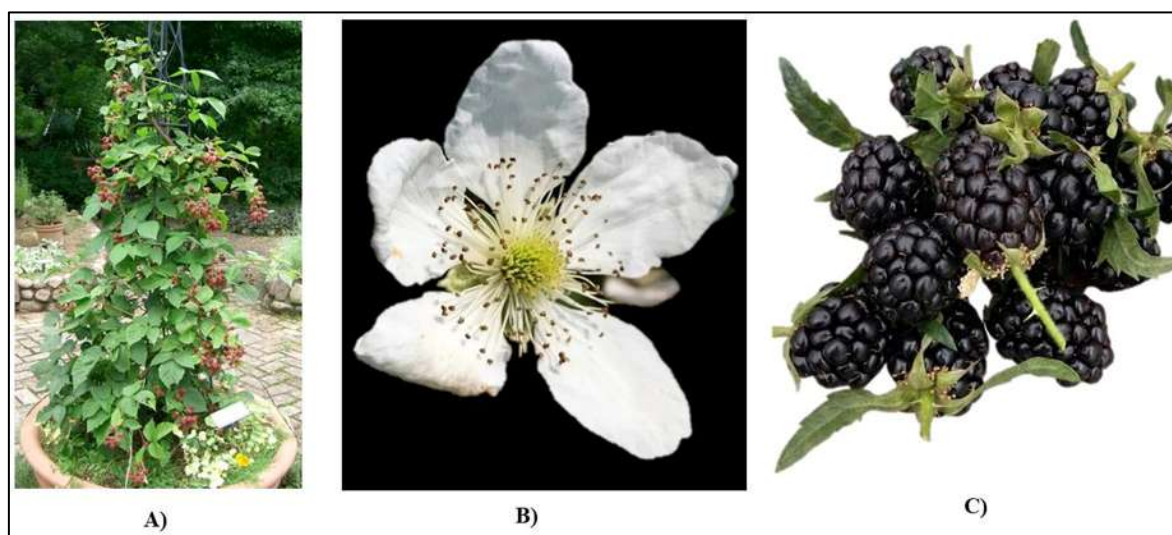


Figura 1. Morfología de la zarzamora. Planta (A), flores (B) y frutos (C) de zarzamora (*Rubus fruticosus* cv. Tupy) (Crédito: (A) KENPEI, KENPEI's photo, licencia CC BY-SA 3.0; (B y C) Herrera Molina, C. A., 2022).

2.1.2. Afectaciones en la producción de zarzamora

La pérdida poscosecha de frutos de zarzamora tiene diversos orígenes, desde la naturaleza no climatérica del fruto, lo que indica que desde su recolección comienza la etapa de deterioro, que se manifiesta específicamente como *leakers* (deshidratación del fruto y exudación de líquidos) y regresión o reversión, estado en el cual la polidrupa comienza a tornarse de color rojo, cuando el color en su estado de maduración es morado intenso. Otro reto con el que se enfrentan los productores de zarzamora, es la cubierta cerosa tan frágil que posee y que únicamente el transporte

de los frutos es mediante cadena de frío. De manera general, la vida de anaquel para los frutos de zarzamora es de 2 a 5 días sin cadena de frío, y de 10 a 12 días respetando la cadena de frío en los frutos, por lo que la vida de anaquel de este producto es corta (Muratalla *et al.*, 2013; Rivadeneira, 2022).

Aunado a estos problemas, el cultivo de zarzamora también es afectado por problemas fitosanitarios como por el ataque por pulgones, araña roja (*Tetranychus urticae*), ácaro del berry rojo (*Acalitus essigi*), trips, enrolladores de la hoja y mosca del vinagre de alas manchadas (*Drosophila suzukii*). Dentro de los factores que intervienen en la pérdida de los rendimientos del cultivo de zarzamora, representando altos riesgos económicos y sociales, está el ataque producido por hongos fitopatógenos, siendo las enfermedades más comunes en la planta: la cenicilla ocasionada por el hongo *Podosphaera aphanis*, antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*), el mildiú de la zarzamora (*Peronospora sparsa*), la marchitez de la corona o pudrición de la raíz (*Fusarium oxysporum*) y el moho gris, producido por *Botrytis cinerea*. Este último afecta a los frutos, generando hasta el 100 % de pérdidas durante la poscosecha, aún sin manifestación de síntomas de enfermedad en el campo (Juárez-Becerra *et al.*, 2010; Dean *et al.*, 2012; Brown y Proctor, 2013; CESAVEG, 2024).

2.2. Moho gris en frutos de zarzamora

Botrytis es un género de hongos fitopatógenos, de la familia Sclerotiniaceae (Phylum Ascomycota, Clase Discomycetes, Orden Heliotales), la fase anamorfa o asexual es *B. cinerea*, puede infectar a las plantas por medio de micelio, de conidios y esclerocios con paredes celulares más gruesas que facilitan su conservación, como se observa en la figura 2 (Kendrick, 2000), aunque también se puede encontrar en la naturaleza en una fase teleomorfa o sexual, clasificado como *Botryotinia fuckeliana*, el cual se caracteriza por un cuerpo fructífero que posee una apotecia parda y ascosporas, como se observa en la figura 3 (Domínguez, 2021).

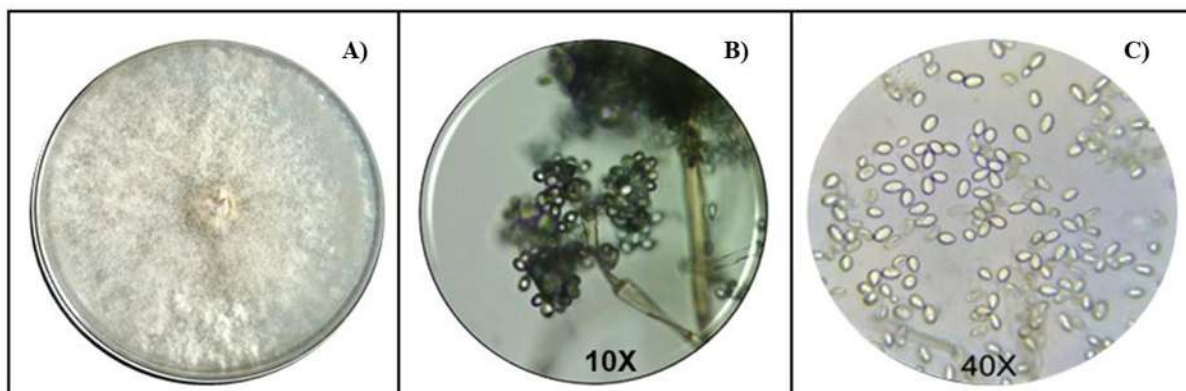


Figura 2. Fase anamorfa o asexual de *Botrytis cinerea*. A) *B. cinerea* cultivado *in vitro*; B) Conidios; C) Esporas. (Imagen propia).



Figura 3. Fase teleomorfa de *Botryotinia fuckeliana*. A) Cuerpo fructífero; B) Ascosporas. (Crédito: Rubio-Domínguez, E., 2021).

B. cinerea es un hongo afecta a más de 200 especies de plantas, incluidas las frutillas como la zarzamora durante el cultivo o en poscosecha. Es causante de la podredumbre gris o denominada también “moho gris” en diferentes órganos de las plantas como flores, frutos, hojas y raíces, puede crecer incluso después de largos periodos en congelación (Williamson *et al.*, 2007). Un síntoma característico de la enfermedad, es la rápida aparición de lesiones marrones sobre los diferentes tejidos de la planta, causando putrefacción acuosa por lo que fácilmente afecta a los tejidos de las plantas o frutos circundantes hasta infectar completamente, cuando se desarrolla el micelio se produce el “moho gris” (Juárez-Becerra *et al.*, 2010).

En los frutos, el moho gris avanza hasta cubrirlos y finalmente momificarlos, causando pérdida total de éstos, uno de los principales problemas es cuando se cosechan frutos contaminados sin síntomas, los cuales se hacen presentes en poscosecha, durante la vida de anaquel (Revollar-Alviter, 2011) (Figura 4). En el caso de la zarzamora, puede causar pérdidas hasta del 100 % en poscosecha si no se realiza un buen manejo en campo. En Michoacán se han aislado e identificado cepas de *B. cinerea* con alta agresividad, ya que ocasionan lesiones grandes y su periodo de infección es más corto, en comparación con cepas de otros estados del país, como Colima, Estado de México, Jalisco y Morelos (Terrones *et al.*, 2019). Esta enfermedad requiere de un enfoque preventivo para su manejo, ya que la falta de síntomas en campo no indica la falta de infección de los frutos (Rebollar-Alviter, 2011).



Figura 4. Frutos de zarzamora: A) Fruto sano durante su vida de anaquel; B) Fruto infestado por *B. cinerea* en condiciones poscosecha. (Imagen propia).

2.2.1. Control de moho gris en el cultivo de zarzamora

Actualmente, el control se realiza mediante técnicas de agricultura convencional, utilizando estrategias para la erradicación de los hongos fitopatógenos que consisten en el empleo de fungicidas de síntesis química, los cuales suelen utilizarse en dosis más altas que las recomendadas

y bajo aplicaciones que resultan contraproducentes para la salud pública y desencadena problemas como: enfermedades respiratorias, parasitarias, congénitas, y cáncer. Estos fungicidas además son de alto impacto negativo y por su uso desmedido, se acumulan en las plantas, en el suelo y contaminan los mantos acuíferos, por lo que son considerados compuestos tóxicos potencialmente dañinos para el humano y el ambiente, contribuyendo también a la aparición de cepas fúngicas resistentes (Singh *et al.*, 2007; Jeschke, 2016; Mitra *et al.*, 2021). El uso de fungicidas contra el moho gris, representa el 8% del mercado mundial de fungicidas (Barres *et al.*, 2016). Durante el año 2022, Michoacán presentó el 5% de las intoxicaciones totales nacionales por plaguicidas, principalmente con síntomas de dolor intenso de cabeza, vómitos, mareos y dificultad de respirar. Indirectamente, la población en general absorbe los químicos provenientes de fungicidas, ocasionando problemas respiratorios, alergias, dolores de cabeza, mareos, falta de apetito e incluso enfermedades graves como cáncer y problemas neurológicos que finalizan incluso en suicidios (SSM, 2022; Paniagua *et al.*, 2022).

Algunos productos químicos empleados en la precosecha, de manera general para combatir hongos fitopatógenos en zarzamora como *Podosphaera aphanis*, *Sphaeroteca macularis*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Peronospora sparsa*, incluyen compuestos activos como azoxistrobin, fluoxastrobin, oxiclورو de cobre y la combinación de cyprodinil + fluoxastrobin (Cuadro 1) (CESAVEG, 2024; Syngenta, 2018; UPL, 2018; Adama, 2021; Syngenta, 2024).

En el cuadro se observa el modo de acción de cada fungicida, el C3 significa que es un inhibidor de la respiración mitocondrial, ya que afecta al complejo III del citocromo bc1, inhibiendo el sitio QO1 y detiene la producción de ATP, provocando así la muerte del hongo. M, es un mecanismo multisitio que afecta a varias funciones de la célula como: respiración celular, producción de energía, síntesis de aminoácidos. D1, afecta a mecanismos metabólicos, especialmente la biosíntesis de metionina y E2 inhibe la germinación de esporas y crecimiento de micelio porque inhibe la respiración mitocondrial y la síntesis de esteroides, bloqueando así la energía celular (Fungicide Resistance Action Committee, 2019).

Cuadro 1. Fungicidas químicos sintéticos utilizados para controlar enfermedades de zarzamora.

Fungicidas	Enfermedad	Compuesto activo	Subgrupo químico	Modo de acción	Uso
Amistar ®	Cenicilla <i>Podosphaera aphanis</i>	Azoxistrobin	Metoxiacrilatos	C3	Preventivo o curativo
VIGOLD®	Cenicilla <i>Sphaeroteca macularis</i>	Fluoxastrobin	Metoxicarbamato	C3	Preventivo
OXICOB85®	Antracnosis <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Oxicloruro de cobre	Inorgánico cúprico	M	Preventivo
SWITCH®	Mildiú de la zarzamora <i>Peronospora sparsa</i>	Cyprodinil + Fluoxastrobin	Pirimidinas + fenilpirroles	D1 + E2	Preventivo O curativo

Específicamente para eliminar la enfermedad de moho gris, se emplean fungicidas como el Captan50®, cuyo compuesto activo es captán, del grupo de las carboxiamidas, con el sitio de acción M (Multisitio), es curativo y preventivo, es decir que se utiliza antes de que la enfermedad se manifieste y también en etapas tempranas de está (Adama, 2021). También se utiliza ELEVAT®, cuyo ingrediente activo es la Fenhexamida, perteneciente a la familia de la hidroxianilida, es preventivo y su modo de acción es el código frac (Fungicide Resistance Action Committee) 17, inhibiendo la síntesis de ergosterol, inhibiendo así la germinación de esporas y el tubo germinativo (UPL, 2018); otro fungicida utilizado es Scala® del ingrediente activo pirimetanil y es sistémico-local, con precaución v en la categoría toxicológica, su método de acción es inhibir la síntesis y secreción de enzimas hidrolíticas esenciales para la infección fúngica, es preventivo y curativo (Bayer, 2024).

Nuevas propuestas incluyen el cambio a la agricultura orgánica, incorporando el uso de bioinsumos, incluyendo fungicidas de origen natural, los cuales tienen mayor eficacia, en menor tiempo y menor concentración, además de poder aplicarse en diferentes condiciones ambientales y para diversas enfermedades. Varios biofungicidas provienen de especies de plantas y son aplicados como aceites esenciales o extractos vegetales, muchas de estas sustancias son generalmente reconocidas como segura (GRAS) por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) (Mesa *et al.*, 2019). Por lo anterior, es necesario la búsqueda de alternativas con nuevos enfoques hacia el cuidado ambiental, con responsabilidad social que eviten o disminuyan, la aparición del moho gris en frutos de zarzamora, sobre todo en poscosecha, que eviten o disminuyan la aparición del moho gris en frutos de zarzamora durante su vida de anaquel y que puedan ser aplicados durante el crecimiento y durante la poscosecha de los frutos.

2.2.2. Alternativas de tratamientos en frutos poscosecha de zarzamora

Los tratamientos tradicionales en frutos poscosecha de zarzamora, incluyen el uso de fungicidas químicos sintéticos permitidos por diversas organizaciones nacionales e internacionales, para alargar la vida de anaquel de los frutos de zarzamora, como son: el ingrediente activo fludioxonil, de la familia de los fenilpirroles, fungicida de contacto que inhibe a la proteína cinasa, inhibiendo el crecimiento micelial del hongo, se utiliza en combinación con otros ingredientes activos como el cyprodinil, generando SWITCH®, un químico con categoría toxicológica III, ligeramente peligroso (Syngenta, 2024). BOSCALID50® es otro fungicida empleado en la poscosecha, su ingrediente activo es la boscalida, de la familia de las carboxiamidas, es preventivo y curativo, e inhibe el complejo II de las mitocondrias y reduciendo la producción de aminoácidos, es categoría toxicológica III (DVA, 2023). E incluso, se utiliza el ROVRAL50® un fungicida cancelado y restringido en varios países como E.U.A, por la agencia de protección ambiental , aunque el etiquetado indica “Precaución en su manejo”, siendo la categoría toxicológica de IV, cuyo ingrediente activo es la iprodiona, de la familia de las dicarboximidas, es del grupo FRAC 2 porque inhibe la respiración del complejo II-SDHI (succinato deshidrogenasa), para bloquear el metabolismo de los hongos (EPA, 1999; FMC, 2019; Fungicide Resistance Action Committee, 2019).

Algunas alternativas actuales de tratamientos poscosecha en frutos de zarzamora comprenden el uso de atmósferas modificadas con 15-20 % de CO₂ (dióxido de carbono) y 5-10 % de O₂ (oxígeno), con una humedad relativa del 90-95 %, a 0°C, dentro de los empaques y así aumentan su vida de anaquel de 2 a 5 días, sin embargo, este tratamiento puede ocasionar pérdida de sabor y pardeamiento en los frutos. En otros tratamientos, los frutos son sometidos en túneles de congelación a 0°C y 90 % de humedad relativa, o congelación IQF (congelación rápida individual) en la que se utilizan temperaturas de -30 °C a -20 °C (Muratalla *et al.*, 2013). La refrigeración también ha sido utilizada, con la temperatura de entre 2 y 5 °C con humedad relativa de 90- 95 %, para aumentar la vida de anaquel de las zarzamoras por 14 días (Perkins-Veazie, 2017).

Actualmente, se emplean empaques inteligentes, que se refieren al recipiente en el que se colocan y suele estar en contacto directo con los productos. Su objetivo es ofrecer inocuidad, fácil identificación y seguridad a los alimentos. También existen los empaques activos, que están adicionados con sustancias funcionales que extienden la vida de anaquel, siendo antimicrobianos, antioxidantes o tienen control de agua, de aromas, y gases. Este tipo de empaques interactúan directamente con el producto para mejorar su calidad y son aplicados en forma de películas o recubrimientos (Caicedo-Perea *et al.*, 2022).

2.3. Recubrimientos comestibles de frutos poscosecha

Los recubrimientos aplicados en alimentos, como hortalizas y frutas, son estructuras comestibles que se aplican por medio de inmersión, aspersión o una disolución, secándose sobre el alimento a conservar (Solano-Doblado *et al.*, 2018), a diferencia de las películas comestibles, éstas se preparan de forma separada y se aplican una vez realizadas (Sharma y Rao, 2015).

Los recubrimientos se eligen de acuerdo a diferentes características, entre las cuales se encuentran los costos, la disponibilidad de los materiales, la estabilidad química, las propiedades mecánicas y ópticas que aporten al producto, que permitan el intercambio de gases entre el fruto y el ambiente, la adherencia al fruto y también que posean protección contra microorganismos (Anaya-Esparza *et al.*, 2020). Se han utilizado recubrimientos con gel de aloe vera en nectarina,

y se observó que retrasa la maduración, además de ser antifúngico contra *Rhizopus stolonifer*, *Botrytis cinerea* y *Penicillium digitatum* (Navarro *et al.*, 2011). También se ha ensayado goma arábica en plátano contra el hongo *Colletotrichum musae* (Maqbool *et al.*, 2010). También se han realizado recubrimientos de almidón de tapioca modificado con cera de abeja 2 % p/v, mediante aspersión en frambuesa y han aumentado la vida de anaquel por 16 días a 4°C y 88 % de humedad relativa, aunque la producción de etileno aumentó si hubo intercambio de gases (Pérez-Gallardo *et al.*, 2015). Los recubrimientos de yuca al 2.5 %, en frutos de zarzamora, presentan pérdida de masa y mayor incidencia fúngica a 0°C. Los recubrimientos de Kéfir al 20 % (películas transparentes), alargan la vida de anaquel de zarzamora a 6 días, pero presentan incidencia fúngica a 0 °C, y los recubrimientos de quitosano al 1.5 %, presentan deterioro e incidencia fúngica a 10 °C, aunque la vida de anaquel se extendió a 7 días, en esta investigación, se menciona que las condiciones de almacenamiento a 10 °C y 0°C no fueron eficaces para reducir pérdidas en frutos durante la poscosecha, ya que la vida útil de las zarzamoras si fue reducida (Oliveira *et al.*, 2014).

2.3.1. Recubrimientos de quitosano en frutos poscosecha

El quitosano es empleado como recubrimiento en frutos, ya que posee características como: alta adherencia en los frutos, es inodoro e insípido, aporta características ópticas (brillo y transparencia), mecánicas (tensión y flexibilidad), y de barrera contra microorganismos, además es reconocido como un alimento *GRAS* (Generalmente Reconocido como Seguro) por la *FDA* (siglas en inglés de “Administración de Alimentos y Medicamentos” de EEUU), porque es biodegradable, biocompatible y no es tóxico (Anaya-Esparza *et al.*, 2020).

El quitosano es un biomaterial libre de toxicidad, pero con afinidad química, física y biológica. Entre muchas aplicaciones actuales, se incluye el área de la biomedicina, la agricultura, la industria papelería, cosmética, textil y dentro del área de la biotecnología alimentaria, se emplea para la preservación de alimentos y antioxidantes, fabricación de películas para empaques ya que posee propiedades antibacterianas y antifúngicas. Este biopolímero catiónico se puede funcionalizar con materiales activos químicos y ecológicos desde muy bajas concentración (Romero y Pereira, 2020), es una molécula biodegradable sin efectos tóxicos para la salud humana, [poli beta-(1-4)-

2-amino-2- desoxi-D-glucopiranosas], un biopolímero catiónico producido por la desacetilación química de la quitina, que se encuentra en los exoesqueletos de crustáceos e insectos (Darol *et al.*, 2016) y se ha evaluado para el control de enfermedades fúngicas en poscosecha (López-Mata *et al.*, 2013).

El quitosano posee actividad antifúngica ya que inhibe el crecimiento micelial, la esporulación y la germinación de diferentes hongos como *B. cinerea* (Arceo-Martínez *et al.*, 2019). También, el quitosano se ha aplicado como un recubrimiento comestible en frutos y vegetales, que, por sus propiedades, limita la pudrición por hongos y retrasa su maduración (Bautista-Baños *et al.*, 2016). Con diversas investigaciones se han demostrado las propiedades de los recubrimientos elaborados a base de quitosano, ya que además de prolongar la vida útil de los alimentos, presenta buenas propiedades ópticas (color, brillo, resistencia a la luz ultravioleta), propiedades de barrera (resistencia al agua y al vapor de agua), así como buenas propiedades mecánicas, incluyendo resistencia a la tracción, a la elongación y a la rotura (Leceta *et al.*, 2015).

El quitosano en concentraciones de 4 mg/mL y 8 mg/mL adicionado con aceite esencial de *Citrus x aurantifolia* a 20 µl/mL inhibe al hongo *B. cinerea in vitro* en un 47 % y adicionado con el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) a una concentración de 1.25 mg/mL inhibe un 100 % a este hongo (Ruiz y Ramos, 2021). También, se ha reportado que el quitosano al 1 %, de peso molecular medio, adicionado con extracto pulverizado de *Salvia fruticosa* en la concentración de 500 mg/mL, inhibe a *B. cinerea* en un 92.1 % a 10 °C y en 81.2 % a 25 °C (Kanetis *et al.*, 2017).

El peso molecular del quitosano influye en la funcionalidad del mismo, generalmente, el de alto peso molecular posee baja solubilidad en medios acuosos, al contrario del quitosano de bajo peso molecular que es más soluble en medios acuosos. Una de las diferencias entre el quitosano de bajo peso molecular y el de alto peso molecular es la viscosidad en el medio acuoso, ya que, en el quitosano de bajo peso molecular, la viscosidad es menor. Entre más bajo es el peso molecular del quitosano, la biodegradabilidad, biocompatibilidad y actividad son mejores (Romero y Pereira, 2020; Suryani *et al.*, 2022).

En diversas investigaciones se ha observado que el peso molecular influye en la respuesta del quitosano contra los hongos *Penicillium digitatum*, *Botryodiplodia lecanidion* y *B. cinerea*, al experimentar con un quitosano de peso molecular bajo, la inhibición es más alta, en comparación al quitosano de alto peso molecular (Chien *et al.*, 2006), *Penicillium italicum* mostró mayor inhibición al utilizar quitosano de bajo peso molecular respecto al quitosano de alto peso molecular (Lee *et al.*, 2017). El quitosano de peso molecular medio es fungistático después de 144 h de almacenamiento, contra el hongo *Rhizopus oryzae* y *Fusarium oxysporum*, pero el quitosano de bajo peso molecular al 2.5 % y 3 % inhibe a los dos hongos por seis días y dos días en frutos de fresa, respectivamente (Castañeda-Ramírez *et al.*, 2016).

2.4. Extractos vegetales antifúngicos como aditivos en recubrimientos de frutos

La adición de componentes como los compuestos derivados de plantas a los recubrimientos de quitosano, es una estrategia de mejora en el almacenamiento poscosecha de frutas y verduras. La adición de extractos de diferentes plantas, principalmente medicinales, promueven una mejora en la actividad antifúngica y proveen propiedades antioxidantes (Bautista-Baños *et al.*, 2016). Una gran cantidad de plantas contienen una mezcla compleja de moléculas de diversa naturaleza química, como los del grupo de los fenólicos, los cuales han mostrado una alta actividad antifúngica además de la antioxidante. Se han preparado recubrimientos de quitosano adicionados con aceite esencial de cítricos (Randazzo *et al.*, 2016), de *Minthostachys mollis* (muña) (Calero *et al.*, 2021), así como el aceite esencial de plantas de uso común como limón (Perdones *et al.*, 2012) y de la semilla de durazno (Priyadarshi *et al.*, 2018). En el cuadro 2 se muestran resultados de diversas investigaciones que demuestran la efectividad antifúngica en frutos recubiertos durante la poscosecha.

Los extractos vegetales que se adicionan a los recubrimientos de quitosano, suelen contener metabolitos secundarios, que se originan durante el crecimiento y el desarrollo de las plantas, y se dividen en cuatro grupos principales: terpenos, alcaloides, glucósidos y compuestos fenólicos (Kozikowski *et al.*, 2003). Los compuestos fenólicos o fenilpropanoides provienen de la ruta metabólica del ácido shikímico y el ácido malónico, se clasifican según la cantidad de anillos aromáticos unidos a uno o más grupos oxidrilo. Estos compuestos mejoran la vida útil de los

alimentos, porque evitan la oxidación y el crecimiento de microorganismos, además se añaden a matrices de polisacáridos como el quitosano, para fortalecer las propiedades mecánicas y reducir o equilibrar el contenido de agua de los alimentos para así mantener su calidad durante la vida de anaquel. Disminuyen la gravedad de las infecciones fúngicas, pero depende de la estructura molecular del metabolito y la concentración que se aplique (Ávalos y Pérez, 2009; Aguilar-Durán *et al.*, 2020; Pan *et al.*, 2024). Además de presentar las anteriores características, los polifenoles también presentan actividad antioxidante que preserva la calidad, el sabor, olor y valor nutricional de los alimentos (Martin, 2018) y esto se debe principalmente a la capacidad de atrapar o inhibir la producción de radicales libres (Shahidi y Ambigaipalan, 2015).

Cuadro 2. Efectividad antifúngica de recubrimientos de quitosano adicionados con extractos vegetales.

Fruto	Recubrimiento	Aditivo	Hongo	Inhibición (%)	Referencia
Uva	Quitosano	Extracto acuoso de semilla de uva	<i>Botrytis cinerea</i>	63.9	Xu <i>et al.</i> , 2007
Fresa	Quitosano	Aceite esencial limón	<i>Botrytis cinerea</i>	70	Perdones <i>et al.</i> , 2012
Papaya	Quitosano + glicerol	Aceite esencial de mandarina	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	80	García-Mateos <i>et al.</i> , 2022
Fresa	Quitosano	Aceite esencial de shiso	<i>Botrytis cinerea</i>	70	Wang <i>et al.</i> , 2022

2.4.1. Mecanismos de acción antifúngica

Un mecanismo de acción es el efecto directo del fungicida sobre el hongo, así como las reacciones bioquímicas que provocan cambios fisiológicos para generar la muerte del hongo, de los cuales existen cuatro principales mecanismos, los que se muestran en la figura 5 (Melgarejo-García, 2011; Villa-Forte y Wasserman, 2025).

Los metabolitos secundarios que las plantas producen tienen diferentes modos de acción, por ejemplo: los alcaloides obstruyen vías metabólicas de los hongos, inhibiendo su crecimiento y

reproducción, también inhiben enzimas y elementos estructurales en los hongos (Gywaly y Ibrahim, 2014); los sesquiterpenos dañan membranas fúngicas, afectando la homeostasis celular de los hongos (Salari *et al.*, 2016); los ácidos fenólicos acceden a la pared celular e inhiben su desarrollo; los fenoles tienen diferentes mecanismos de acción sobre los hongos, por los grupos OH- que contienen y son esenciales para que puedan inhibir a los hongos.

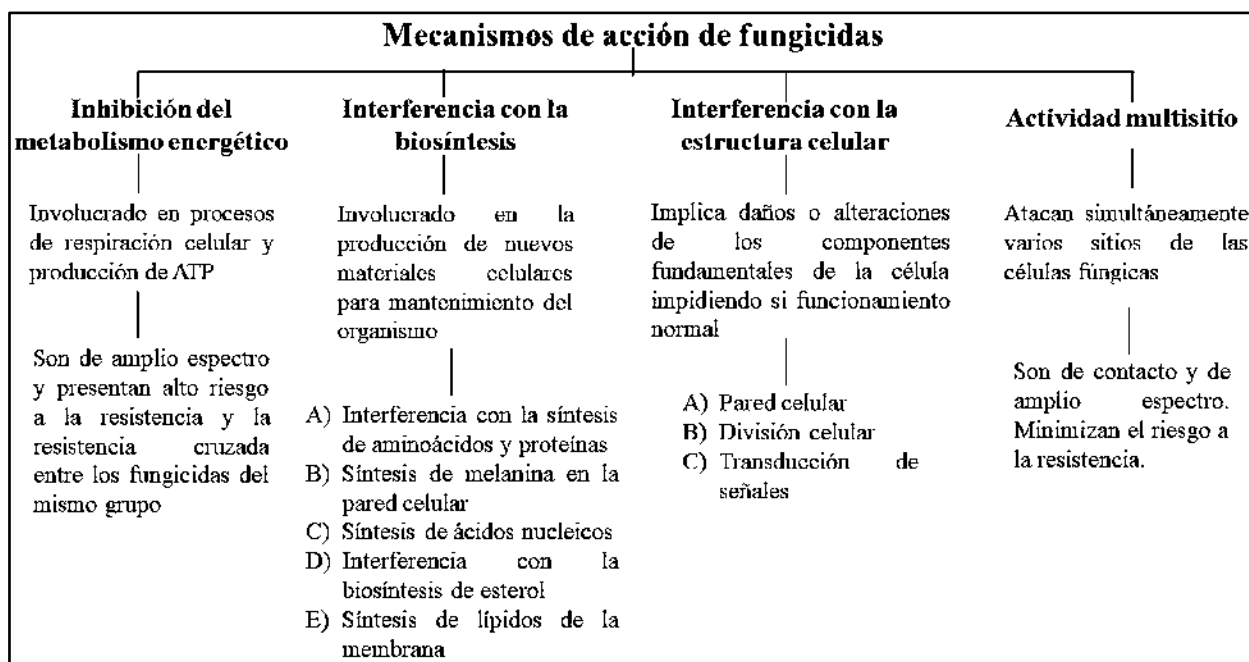


Figura 5. Mecanismos de acción de fungicidas. Fuente de Información: Melgarejo-García, 2011; Villa-Forte y Wasserman 2025.

Principalmente desacoplan la fosforilación oxidativa, afectando a la mitocondria y directamente a la producción de ATP, dejando al hongo sin energía para sobrevivir (Morales *et al.*, 2017), otro mecanismo que ocurre es la inhibición de la biosíntesis de ergosterol, el cual se encuentra en la membrana celular de los hongos y su inhibición afecta a su integridad (Wang *et al.*, 2019). Los flavonoides inhiben la germinación de esporas de hongos, porque las deshidratan y también bloquean el tubo germinativo (Friedman, 2007). Es importante prevenir el desarrollo de la resistencia de los hongos a productos naturales, evitando el emplearlos con frecuencia y en dosis más altas que las recomendadas, para evitar la resistencia por la selección natural de los hongos (Shamkhi, 2025)

2.5. Género *Verbesina* L. (Asteraceae, 1753. *Species Plantarum*)

La familia Asteraceae es la más numerosa de la flora de México por la cantidad de géneros y de especies que comprende. Tiene una amplia distribución geográfica y las plantas se han investigado por la alta producción de metabolitos secundarios, lo que les permite adaptarse a diferentes climas, muchas veces como malezas. Algunos metabolitos secundarios que se pueden encontrar en estas plantas son: terpenos, ácidos fenólicos y flavonoides, a los cuales se les atribuye una alta actividad fungicida sobre diversos hongos fitopatógenos que afectan a la zarzamora, como: *Arthuriomyces peckianus* (roya anaranjada), *Peronospora sparsa* (mildíu), *Fusarium oxysporum* (pudrición de la raíz), *Colletotrichum gloeosporioides* (antracnosis) y *Botrytis cinerea* (moho gris) (Villaseñor, 2018; Contreras *et al.*, 2019).

El género *Verbesina* perteneciente a esta gran familia (Asteraceae), un grupo de plantas empleadas en la medicina tradicional mexicana, actualmente, se han realizado investigaciones enfocándose en los componentes bioactivos para garantizar seguridad a las personas que lo utilizan, encontrando dentro de su perfil químico metabolitos secundarios como terpenos, flavonoides y alcaloides, los cuales son fungistáticos y fungicidas. Por ejemplo, al emplear extractos acuosos de inflorescencias de *Verbesina macrophylla* se observó que inhibieron al hongo filamentoso *F. oxysporum* en un 12 % con la concentración de 200 µg/mL y un 14 % con la concentración de 400 µg/mL, pero el extracto acuoso de hojas no lo inhibió (de Almeida, 2024). El extracto con acetato de etilo de inflorescencias de *Verbesina lanata* inhibe en un 100% al hongo *Plasmopara viticola* (mildíu vellosa de la vid) con la concentración de 35 µg/mL (Ramseyer *et al.*, 2017). Los extractos metanólicos de hojas y tallos de la planta *Verbesina encelioides* inhiben a los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger* con 100 µg/mL, el más efectivo fue el extracto de hojas, inhibiendo 15-16 mm a *A. flavus* en relación al control, en donde se inhibió 0 mm al hongo. (Kumari y Meena, 2025).

2.5.1. *Verbesina sphaerocephala* A. Gray (Proc. Amer. Acad. Arts 22: 428, 1887)

V. sphaerocephala es conocida coloquialmente como “capitaneja”, “capitana”, “vara blanca” o “Agatapu k’ eri”. Es una planta melífera herbácea, perteneciente a la familia Asteraceae, que crece

en bosques de pino, encino y matorrales, a una altitud de 1200 a 2200 m, es endémica de Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Michoacán y Nayarit. Su floración es de agosto a noviembre, generalmente con tallos erectos de 1.5 a 3 m de altura, con capítulos florales amarillos (Figura 6). En diversas comunidades del estado de Michoacán, es empleada como planta melífera y por sus propiedades medicinales (Rzedowski *et al.*, 2011; Bello-González *et al.*, 2015). La parte aérea de la planta *Verbesina sphaerocephala* se emplea tradicionalmente en afecciones como úlceras y condiciones ginecológicas, aplicándola vía tópica, después de realizar una decocción (Ahmed *et al.*, 2024).



Figura 6. *Verbesina sphaerocephala*. A) Planta; B) Inflorescencias; C) Tallo y hojas. (Imágenes propias).

En nuestro grupo de trabajo se ha demostrado la actividad antibacteriana de los extractos metanólicos de hojas y flores de *V. sphaerocephala* en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, en esta investigación, además, se determinó el contenido total de ácidos fenólicos, flavonoides, la capacidad antioxidante y además se realizó un análisis por HPTLC (cromatografía de capa fina de alto rendimiento) y se encontró al flavonoide rutina como el compuesto mayoritario (Rodríguez-Valdovinos *et al.*, 2021). El extracto acuoso de tallo de esta planta presenta actividad antifúngica, según la investigación de Rodríguez-Valdovinos *et al.* (2024), mostrando una concentración inhibitoria media (CI₅₀) de 0.10 mg/mL y una concentración inhibitoria total (CI₁₀₀) de 0.24

mg/mL sobre *B. cinerea*, identificando a los compuestos fenólicos: ácido protocatecuico, ácido vainillínico, ácido p-cumárico, vainillina y rutina como los principales responsables de esta actividad. También se han investigado los hidrolatos de hojas y tallos, los cuales se ensayaron con el hongo *Botrytis cinerea*, resultando que el hidrolato más eficaz contra *B. cinerea* fue el que se obtuvo a partir de tallos, en el cual la IC₅₀ fue de 1.3 mg/mL y la IC₁₀₀ es de 27 mg/mL, según la investigación Aguilar-Mejía *et al.* (2023). Es conveniente resaltar que este tipo de propiedad ha sido demostrada solamente en bioensayos *in vitro*.

3. JUSTIFICACIÓN

Diversas investigaciones han demostrado la necesidad de realizar estudios que refuercen las propiedades antifúngicas de los recubrimientos de quitosano, con la adición de compuestos o de extractos vegetales. En la presente investigación, se propone el uso del extracto acuoso, compuesto por ácidos fenólicos y flavonoides, obtenido de tallos de *V. sphaerocephala*, ya que éstos han demostrado actividad antifúngica en bioensayos *in vitro*, con un alto potencial para enriquecer recubrimientos de quitosano que incrementen el poder antifúngico y proporcionen propiedades nutraceuticas, como la antioxidante.

Con los frutos de zarzamora recubiertos de quitosano, adicionados con el extracto acuoso de tallos de *V. sphaerocephala*, es necesario realizar una estrategia para la obtención de frutos que no desarrollen la enfermedad del moho gris durante su vida de anaquel o poscosecha.

4. HIPÓTESIS

Los recubrimientos de quitosano adicionados con el extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* incrementan la actividad antifúngica contra *B. cinerea* durante la preservación de frutos de zarzamora (*Rubus fruticosus* cv. Tupy) poscosecha.

5. OBJETIVOS

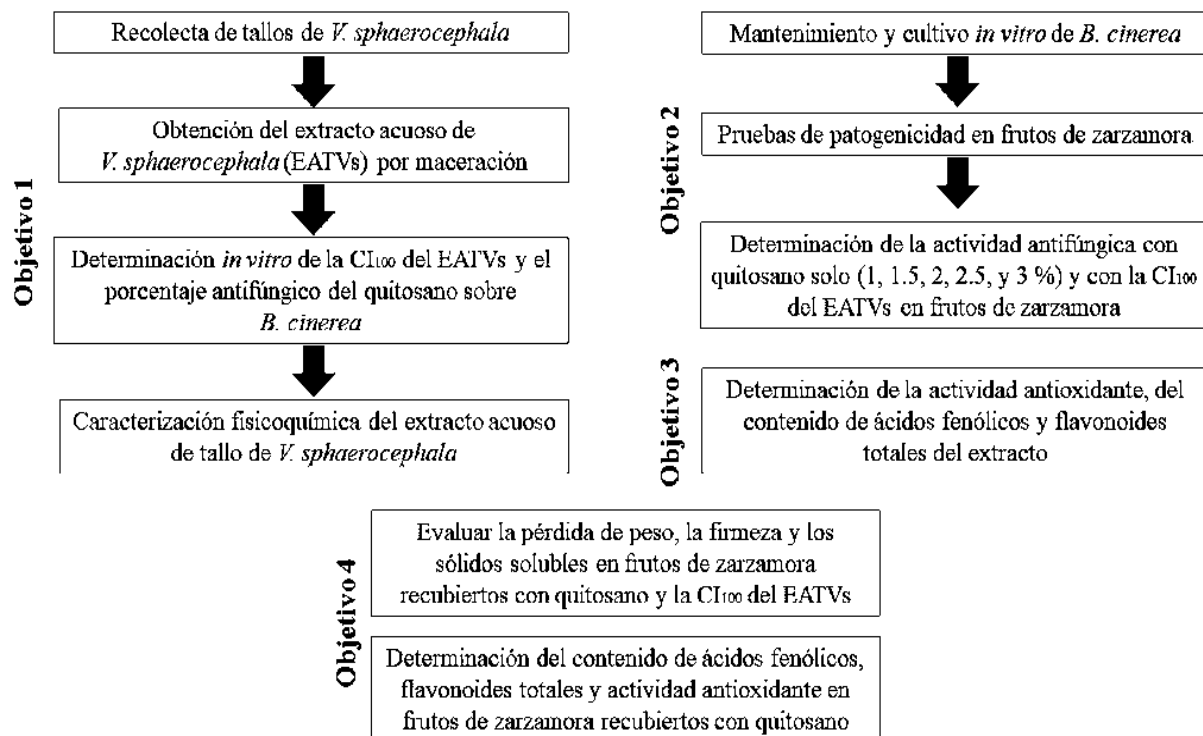
5.1. Objetivo General

Determinar la actividad antifúngica de recubrimientos de quitosano adicionados con el extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* sobre *B. cinerea* durante la preservación de frutos de zarzamora (*Rubus fruticosus* cv. Tupy) poscosecha.

5.1.1. Objetivos específicos

1. Determinar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* (CI₁₀₀), de quitosano y de la combinación quitosano-extracto de tallo.
2. Determinar el efecto antifúngico en frutos de zarzamora poscosecha, recubiertos con el porcentaje óptimo del quitosano solo o con la adición de la CI₁₀₀ del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala*.
3. Determinar el contenido de fenoles totales, flavonoides y la actividad antioxidante del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala*
4. Evaluar la pérdida de peso, la firmeza, los sólidos solubles, el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante en frutos de zarzamora recubiertos con la concentración óptima antifúngica del quitosano adicionado con la CI₁₀₀ del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala*

6. ESRATEGIA EXPERIMENTAL



7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Material biológico

7.1.1. Tallos de *V. sphaerocephala*

Los tallos de *V. sphaerocephala* fueron recolectados de plantas en etapa de floración en Cointzio, municipio de Morelia, Michoacán ($19^{\circ}37'46.6''\text{N}$ - $101^{\circ}14'48.8''\text{O}$) en el mes de agosto de 2024 (Figura 7A). Previamente se preparó un ejemplar de herbario para confirmar el género y especie, en el herbario de la Facultad de Biología (EBUM) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (folio 31383) (Figura 7B). Los tallos fueron cortados (Figura 7C) para su secado a temperatura ambiente en sombra, asegurando la pérdida total de agua (Figura 7D) para obtener un pulverizado en molino doméstico (Figura 7E).

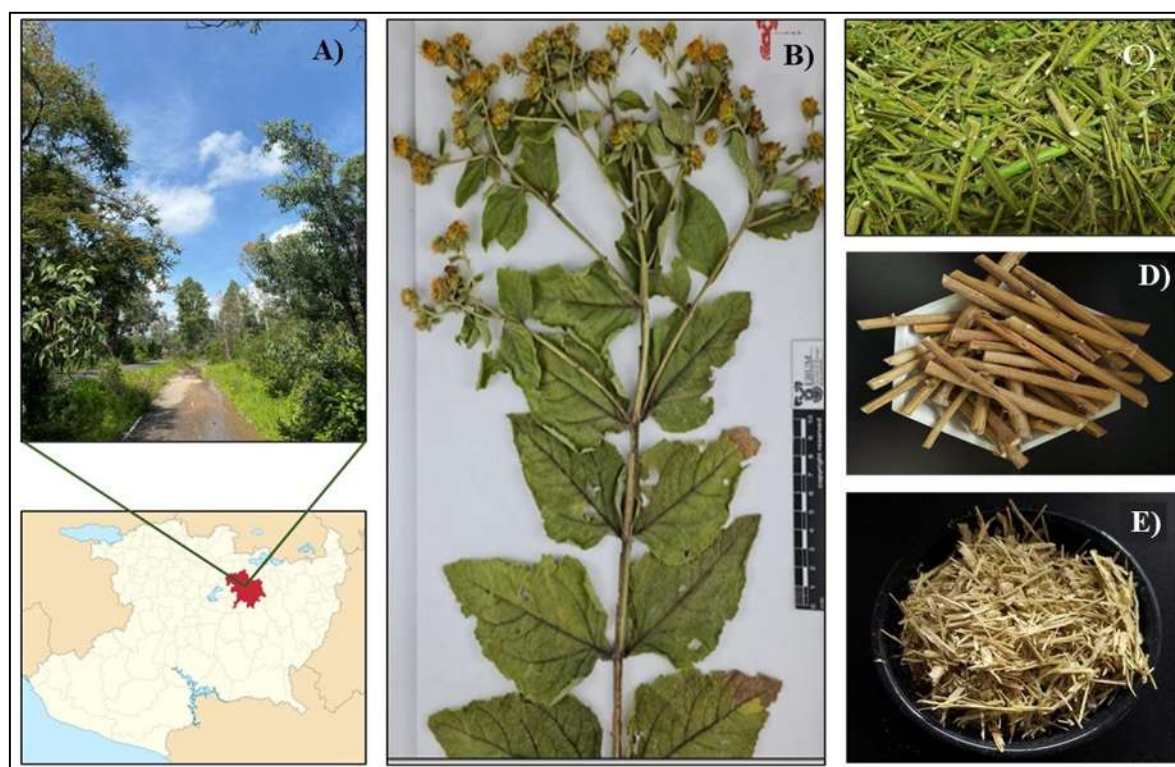


Figura 7. Recolección, confirmación de especie y obtención de tallo pulverizado de *Verbesina sphaerocephala*: A) Sitio de recolecta; B) Ejemplar de herbario; C) Tallos frescos; D) Tallos secos; E) Pulverizado de tallos.

7.1.2. Cepa de *Botrytis cinerea*

El hongo *B. cinerea*, fue aislado de frutos de zarzamora y ha sido caracterizado molecularmente con la confirmación de género y especie (Clave de acceso al GenBank: PQ432333.1. Acceso a NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/PQ432333.1>). Forma parte del cepario del laboratorio de biotecnología vegetal (IIQB-UMSNH), el cual se mantiene bajo cultivo en medio agar papa dextrosa (PDA) a 25 °C (Figura 8).



Figura 8. Crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* en medio PDA, a los 8 días de cultivo.

7.1.3. Obtención del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala*

La extracción se realizó a partir de 1000 g de tallos pulverizados de *V. sphaerocephala*. Por cada 100 g se adicionaron 500 mL de agua en ebullición (~90°C) y al alcanzar la temperatura ambiente, se adicionó un volumen de 500 mL de etanol absoluto frío (J.T. Baker, México), finalmente se dejó en maceración en refrigeración (4-10°C) por siete días en la mezcla agua:etanol (1:1, v/v) (Figura 9A). El sobrenadante se decantó y filtró en embudo y papel filtro Whatman® (UK) no. 2 (Figura 9B), llevando a sequedad en un rotavapor al vacío (BÜCHI® Suiza, modelo R-124) a 50°C en un matraz balón de peso conocido, para determinar el rendimiento (Figura 9C). Se preparó una solución a una concentración de 10 mg/mL con agua estéril y etanol absoluto (1:1, v/v), para finalmente, filtrar y almacenar a 10°C en un frasco

ámbar hasta su utilización. Este extracto se denominó Extracto Acuoso de Tallo de *Verbesina sphaerocephala* (EATVs) (Figura 9D).

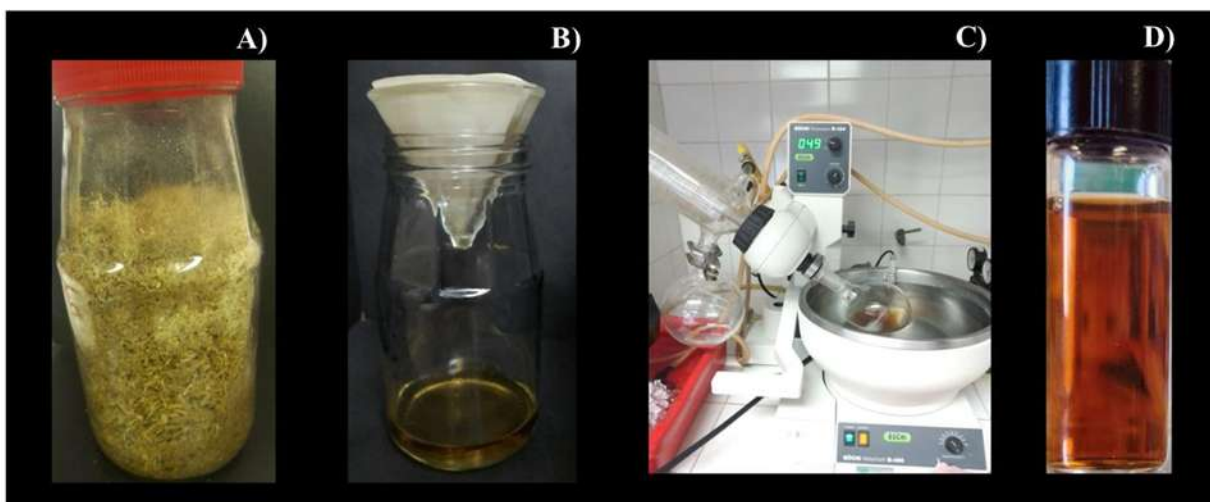


Figura 9. Obtención del Extracto Acuoso de Tallo de *Verbesina sphaerocephala* (EATVs): A) Extracción con agua a ebullición (90°C)-Etanol frío (1:1, v/v) por maceración; B) Filtración del extracto; C) Evaporación a sequedad; D) Extracto EATVs, 10 mg/mL, disuelto en agua:etanol, 1:1.

8. RESULTADOS

8.1. Capítulo 1. Determinación de la actividad antifúngica *in vitro* del extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* y quitosano, sobre *Botrytis cinerea*.

Resumen

Este estudio evaluó el potencial antifúngico *in vitro* de la combinación entre el extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (EATVs) y quitosano (residuo de exoesqueletos de crustáceos) contra el hongo *Botrytis cinerea*. El extracto se obtuvo por infusión (90°C) y mediante una maceración con agua:etanol (1:1, v/v) de tallos secos y pulverizados de plantas recolectadas en Cointzio, Michoacán (agosto 2024), con un rendimiento del 11.07 %. El efecto antifúngico *in vitro* del EATVs (0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 y 0.9 mg/mL) y del quitosano (1, 1.5, 2, 2.5 y 3 %), fue determinado con el quitosano y el EATVs solos y con la combinación del óptimo porcentaje de quitosano combinado con la CI₁₀₀ del EATVs, utilizando el método de difusión en pozas en medio PDA a 22 °C. La CI₁₀₀ del extracto fue de 1.01 mg/mL y con 2.5% de quitosano se alcanzó por sí solo el 100% de inhibición. La mezcla de ambos componentes mantuvo este 100% de eficacia sin alterar las propiedades fisicoquímicas del recubrimiento, confirmando que la sinergia entre los compuestos fenólicos del extracto y las propiedades del quitosano es una alternativa viable y segura para el control biotecnológico del moho gris.

Palabras clave: Actividad *in vitro*, antifúngicos, extracto acuoso, quitosano.

Materiales y métodos

El extracto acuoso de tallos de *V. sphaerocephala* (EATVs) se obtuvo como se describe en el apartado 7 de materiales y métodos, así como la descripción del hongo (*B. cinerea*) utilizado en los ensayos *in vitro*.

Actividad antifúngica *in vitro* del EATVs y del quitosano sobre *B. cinerea*. El EATVs fue aplicado en cajas Petri mediante el ensayo *in vitro* de difusión en pozas (Magaldi *et al.*, 2004), utilizando 0, 0.3, 0.5, 0.7 y 0.9 mg/mL para determinar la concentración inhibitoria total (CI₁₀₀). En cada poza se adicionaron 100 µL del extracto, se colocó un segmento de micelio de 0.5 cm de diámetro del hongo crecido por 7 días en PDA. Se usó agua estéril y etanol (1:1, v/v) como control negativo (C-) y el fungicida comercial Benomyl50® (10 mg/mL) como control positivo (C+). A los 7 días bajo cultivo a 22 °C, luz y humedad, se obtuvieron los porcentajes de actividad antifúngica, que se calcularon de acuerdo a la fórmula reportada por Rutiaga *et al.* (2001):

$$\text{Inhibición (\%)} = \left(\frac{\text{Crecimiento de control} - \text{Crecimiento de tratamiento}}{\text{Crecimiento de control}} \right) \times 100$$

El quitosano fue aplicado solo (1, 1.5, 2, 2.5 y 3 %) y en combinación con la CI₁₀₀ del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala*, para determinar la concentración óptima del quitosano y ésta usarla en combinación con el extracto, con base al porcentaje más alto de inhibición en el hongo. Se utilizó además una solución de ácido acético al 1 % como control negativo. En estos ensayos *in vitro*, el 100 % de inhibición se determinó cuando no se presentó crecimiento de micelio y sin inhibición (0 %) cuando el micelio cubrió la totalidad de la caja Petri (5 cm de diámetro), esto conseguido con los controles negativos.

Caracterización fisicoquímica del EATVs. Para realizar la caracterización fisicoquímica del extracto, a partir del conocimiento de la CI₁₀₀, se evaluaron las propiedades organolépticas y físicas del extracto a 10 mg/mL (concentración de almacenamiento del extracto) y a 1.01 mg/mL (concentración de la CI₁₀₀). Los parámetros que se determinaron en las propiedades organolépticas son: color, turbidez, separación en capas, sabor, olor y grados Brix. El color y la turbidez se determinaron colocando las dos concentraciones del extracto en dos viales transparentes, limpios y secos. Se llenaron tres cuartas partes con las muestras y se describió el color por la evaluación visual, utilizando el registro de la Comisión Internacional de Iluminación, que se basa en tres características de tono, brillo y saturación (CIE, 2024). La turbidez se determinó visualmente por la presencia o ausencia de partículas al observar las muestras de los viales a contraluz. La separación en capas, se evaluó al observar a contraluz la formación de dos o más fases en las muestras del extracto. El sabor se evaluó colocando 1 mL de las muestras del extracto en dos cucharas y se describió por medio del sentido del gusto, según la descripción de Badui Dergal (2012): salado, dulce, ácido o agrio, amargo o umami. El olor se describió por medio del sentido del olfato, se empleó un rectángulo de 2 cm de ancho por 10 cm de largo de papel filtro, poro mediano por muestra, de la cual se colocaron 100 µL del extracto en un extremo y se dejó secar para su evaluación, que se basó en la clasificación de Castro *et al.* (2013), que consiste en 10 olores básicos: 1, floral; 2, leñoso o resinoso; 3, frutal no cítrico; 4, olor químico; 5, mentolado; 6, dulce; 7, quemado o ahumado; 8, cítrico; 9, acre o rancio; 10, descompuesto. Los grados Brix se midieron con un refractómetro manual de 0 – 90 % (Kingten Star®), se colocaron 100 µL de las muestras del extracto sobre el prisma y se

observó por medio del ocular; los resultados se expresarán como grados Brix (°Brix). También se evaluó el pH del extracto, mediante tiras reactivas (0-14 tornasol, Merck®).

Análisis estadístico. Los resultados se expresan como la media $\pm$ desviación estándar (n=5), con la realización de cada experimento al menos dos veces. Éstos se procesaron mediante un análisis de varianza de una vía; las medias se compararon con la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0.05$, usando el software JMP8.

Resultados y discusión

El rendimiento del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* fue de 11.07 g/100 g de tallo seco (11.07 %). Aunque son diversos factores los que influyen en el rendimiento de los extractos vegetales, mayormente se mencionan a la especie vegetal, o sus partes, el método de extracción utilizado, el tiempo o la temperatura de la extracción y a la relación planta-solvente (Azmir *et al.*, 2013). De acuerdo a la especie, los rendimientos pueden variar entre 0.1 y hasta un 50 %, en una especie de albahaca (*Ocimum sanctum*) se han reportado valores hasta entre 30.1 y el 44.6 % con maceración acuosa (Anda de la Rosa *et al.*, 2024) aunque Avelino *et al.* (2019) obtuvieron rendimientos de 2.5 % hasta 16.30 % dependiente de la especie en extractos acuosos de *Costus pulverulentus*, *Sechium edule*, *Tabernae montana alba* y *Vernonia patens*. Benítez-Benítez *et al.* (2020) observaron resultados similares en extractos obtenidos de *Scutellaria incarnata* y *Justicia pectoralis*, favoreciendo el rendimiento cuando se adicionó etanol durante la maceración, con hasta un 36 %, así mismo, un mayor rendimiento se obtuvo en *Plectranthus amboinicus* con extracción acuosa por maceración en condiciones de refrigeración (Malpica-Acosta *et al.*, 2024), lo que concuerda con lo reportado por Soto y Rosales (2016) en extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxyla*, y a lo observado en la presente investigación.

Actividad antifúngica *in vitro* del EATVs. Los resultados de inhibición se obtuvieron en porcentaje, mediante la fórmula reportada por Rutiaga *et al.* (2001), con la medición del diámetro (cm) del crecimiento, tomando como 0 % cuando el micelio del hongo creció sobre el total de la caja Petri (5 cm de diámetro), como se observa con el control negativo (C-) agua

estéril:etanol (1:1) (Cuadro 3, Figura 10A, Figura 10Ba), y como 100 % cuando no hubo crecimiento de micelio, como se observa con el control positivo (C+) Benomyl50® (Cuadro 3, Figura 10A, Figura 10Bb). Los porcentajes de inhibición ejercidos por el extracto fue dependiente de la concentración (Cuadro 3, Figuras 10Bc a 10Bf), observando un 100 % de inhibición sobre el crecimiento de *B. cinerea* a los 0.9 mg/mL (Cuadro 3, Figura 10Bf), a los 7 días del cultivo.

Cuadro 3. Porcentajes de inhibición *in vitro* del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* sobre *Botrytis cinerea*, a los 7 días del cultivo.

Concentración (mg/mL)	Porcentaje (%)
C- agua estéril:etanol (1:1)	0
C+ Benomyl50® (10 mg/mL)	100
0.1	5
0.3	21
0.5	36
0.7	69
0.9	100

Con la curva de concentraciones del extracto acuoso se obtuvo la concentración inhibitoria total (CI₁₀₀), mediante la ecuación de la regresión lineal con un valor de 1.01 mg/mL (Figura 9A).

La actividad antifúngica de diversos extractos vegetales ha sido reportada, observando que las concentraciones óptimas varían considerablemente dependiendo de la planta, el hongo objetivo, el método de extracción y ensayo utilizado. Aunque no existe una concentración única aplicable a todos los casos, se pueden establecer rangos generales basados en estudios, que pueden estar entre 0.1 mg/mL hasta los 250 mg/mL (Davicino *et al.*, 2007; Cáceres-Rueda de León *et al.*, 2013). Algunos estudios han demostrado que extractos de plantas pueden ser efectivos para controlar el crecimiento de *B. cinerea* y otros hongos fitopatógenos (Apolonio-Rodríguez *et al.*, 2017).

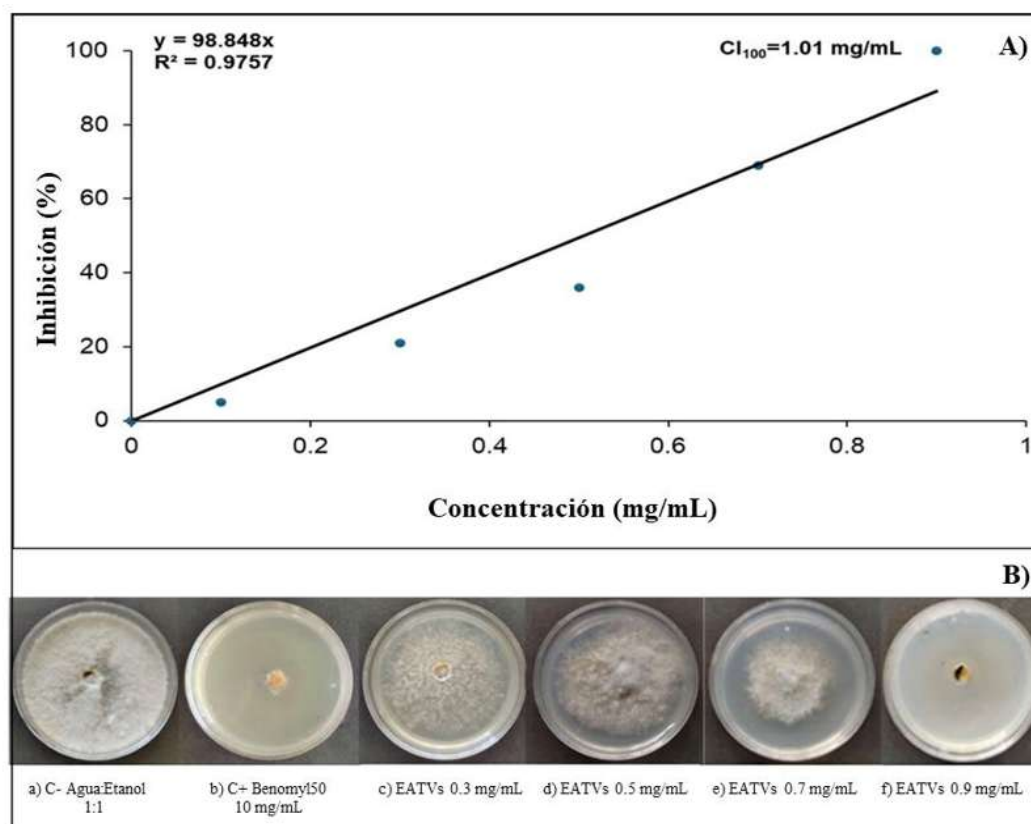


Figura 10. Curva de inhibición de concentraciones del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* para la determinación de la CI_{100} sobre *B. cinerea* en condiciones *in vitro* (A) y efecto inhibitorio *in vitro* del extracto acuoso (EA) de tallo de *V. sphaerocephala* sobre *B. cinerea* (B): a) (C-) agua estéril:etanol (1:1), b) Benomyl50® (10 mg/mL), c) 0.3 mg/mL, d) 0.5 mg/mL, e) 0.7 mg/mL, f) 0.9 mg/mL. Los datos son reportados a los 7 días del cultivo.

La concentración inhibitoria total (CI_{100}) del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* sobre *B. cinerea* fue de 1.01 mg/mL, un valor similar a lo reportado para este tipo de extractos contra este hongo de acuerdo a las investigaciones realizadas con lavanda (*Lavandula officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*), zacate limón (*Cymbopogon citratus*) y menta melisa (*Melissa officinalis*), en las que principalmente el extracto acuoso de lavanda inhibió a *B. cinerea* en un 80 % con 1 mg/mL (Kasmi *et al.*, 2017).

En un trabajo reciente, realizado con el extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala*, se reportó una inhibición del 100 % con 0.25 mg/mL sobre el crecimiento de micelio *in vitro* de *B. cinerea*,

de plantas recolectadas en un área silvestre de Jiquilpan, Michoacán (Rodríguez-Valdovinos *et al.*, 2024), diferente al sitio de recolecta de los tallos usados en esta investigación, lo que confirma que la variación con lo obtenido en el presente estudio fue debido a las condiciones del crecimiento de esta especie.

Estos extractos, obtenidos de diversas plantas, han demostrado actividad antifúngica contra este hongo, afectando la germinación de esporas, el crecimiento micelial y la esporulación. El uso de extractos de plantas, como alternativa a los fungicidas químicos, ofrece una alternativa amigable con el ambiente y el ecosistema para el control de enfermedades fúngicas en la agricultura (Jiménez y Mosquera, 2015).

La CI₁₀₀ del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* (1.01 mg/mL) fue adicionada al quitosano para elaborar los recubrimientos de quitosano que se aplicarán en frutos de zarzamora (Capítulo 2).

Actividad antifúngica *in vitro* del quitosano. En la figura 10, se presentan los resultados de inhibición (%) *in vitro* sobre *B. cinerea* con los diferentes porcentajes de quitosano. No se observó inhibición con los controles negativos, ya que con ácido acético al 1 % y agua:etanol (1:1), se obtuvo un 100 % de crecimiento.

Sin embargo, el quitosano mostró actividad antifúngica, dependiente de la concentración, obteniendo un 28 % de inhibición con 1 %, un 81 % y un 84 %, con 1.5 y 2 %, respetivamente, alcanzando el 100 % de inhibición con 2.5 %, similar a lo obtenido con el C+ (Benomyl50®), sin diferencias significativas entre estos porcentajes de inhibición. Con el porcentaje de 3 % de quitosano, la inhibición fue de un valor menor, incluso con la de los porcentajes de 1.5 y 2%, aunque sin diferencias significativas entre ellos (Figura 11).

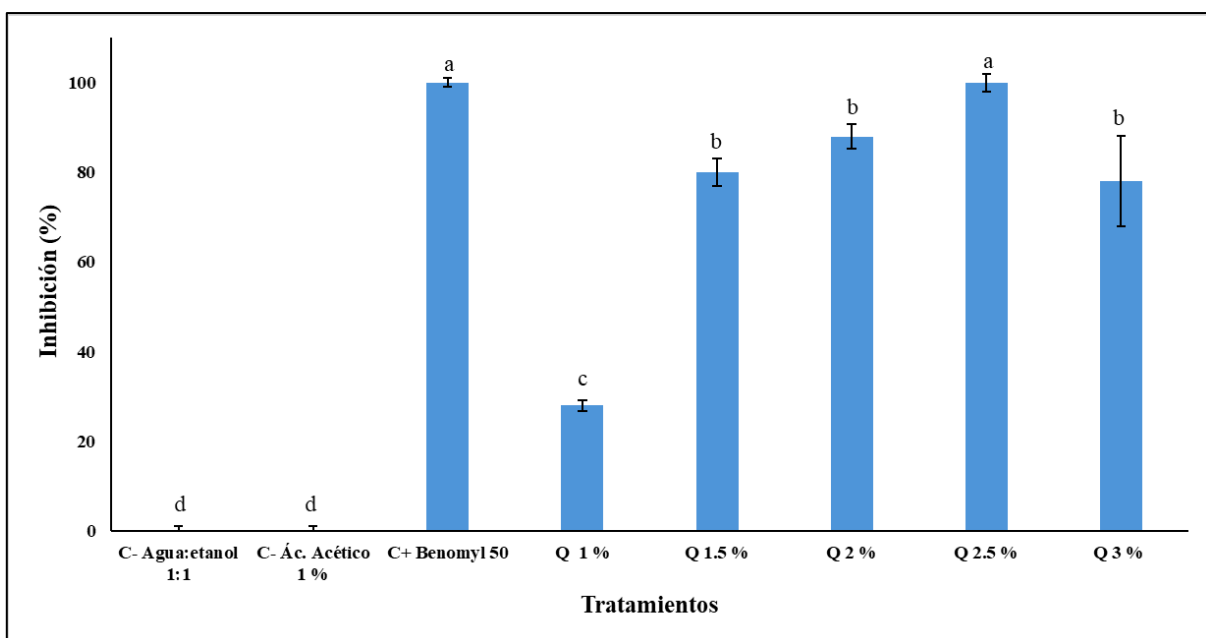


Figura 11. Porcentajes de inhibición de quitosano *in vitro* sobre *B. cinerea*: C- Agua:Etanol (1:1); C- Ácido acético (1%); C+ Benomyl50 (10 mg/mL); Quitosano 1% (Q 1%); Quitosano 1.5 % (Q 1.5%); Quitosano 2% (Q 2%); Quitosano 2.5 % (Q 2.5%); y F) Quitosano 3 % (Q 3%). Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos ($P < 0.05$, $n=5$, prueba de Tukey).

Posteriormente, se realizaron los ensayos de inhibición con quitosano solo (2.5 %), el porcentaje de mayor actividad antifúngica sobre *B. cinerea* y en combinación con la CI_{100} del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* (1.01 mg/mL). Al igual que el ensayo anterior, no se observó inhibición con los controles negativos, no así con el benomyl50® (C+), con el que se obtuvo el 100 % de inhibición (Figuras 12A y 12B). Con el quitosano solo con 2.5%, el extracto acuoso solo (CI_{100}) y la combinación de ambos, se observó un porcentaje de actividad antifúngica del 100 % (Figura 12A y 12B). Con este resultado se confirmó que la combinación del quitosano (2.5 %) con la CI_{100} del extracto (1.01 mg/mL) presentó una actividad del 100 % de inhibición *in vitro* del crecimiento de *B. cinerea*.

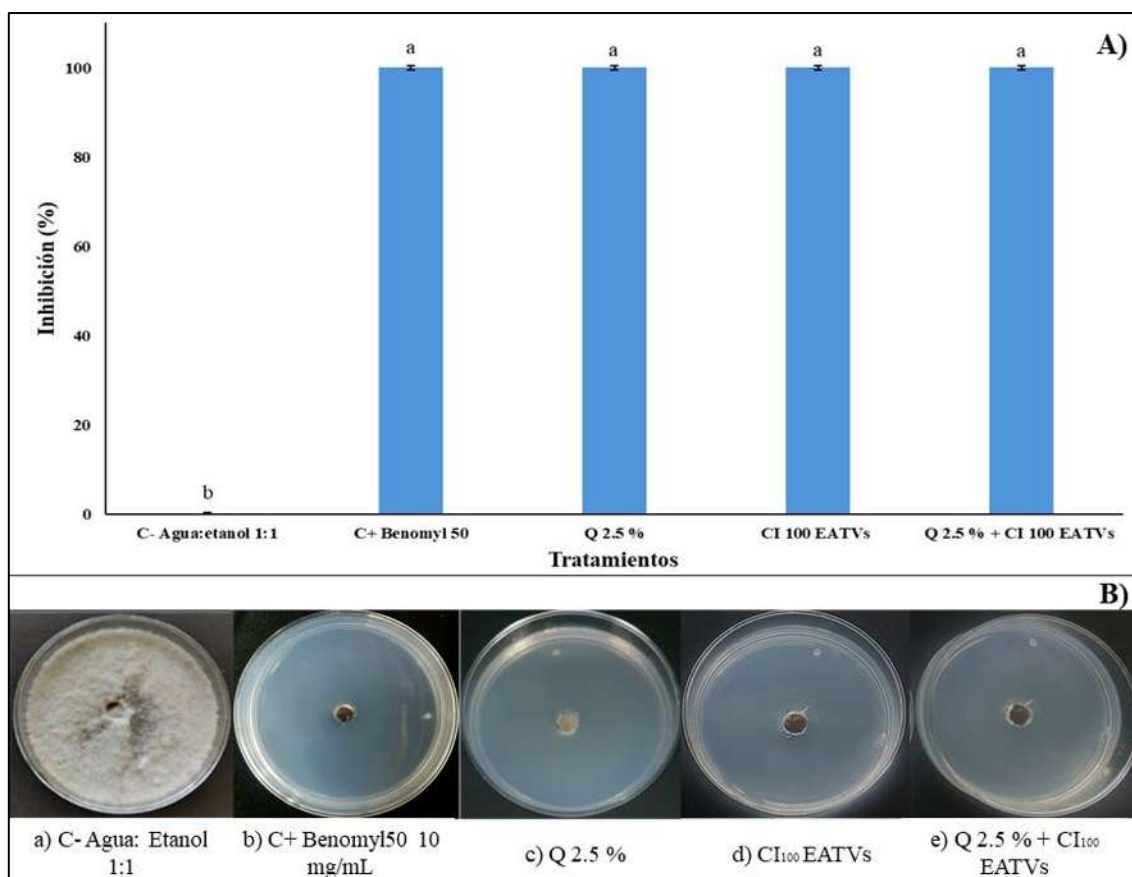


Figura 12. Porcentajes de inhibición *in vitro* de quitosano, de la CI₁₀₀ de extracto acuoso (EA) de tallo de *V. sphaerocephala* y de su combinación sobre *B. cinerea* (A). Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos ($P < 0.05$, $n = 5$, prueba de Tukey). Fotografías del efecto inhibitorio *in vitro* de quitosano, de la CI₁₀₀ de extracto acuoso (EA) y de su combinación sobre *B. cinerea* (B). Resultados a los 7 días del cultivo.

El quitosano es una molécula la cual tiene propiedades antifúngicas tanto en recubrimientos de frutos, en la aplicación de plantas en agricultura como en ensayos *in vitro*, contra varios hongos fitopatógenos, entre ellos, *B. cinerea* (Hesami *et al.*, 2021). En ensayos *in vitro*, Muñoz *et al.* (2007) reportó una inhibición máxima de 57.02 % con un porcentaje de 2 % de quitosano, sin embargo, en otras investigaciones, se ha observado que con 1 y 1.5 % se ha observado también esta inhibición, pero hasta del 100 % (Sandoval-Flores *et al.*, 2018). Awad (2017) observó la mayor actividad antifúngica *in vitro* del quitosano con 2.5 % y la menor con 0.5 %, resultados que se obtuvieron en los ensayos realizados en el presente trabajo (Figura 12A).

La combinación de 2.5 % de quitosano con la CI₁₀₀ (1.01 mg/mL) del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala*, en estos ensayos, mostró que se mantuviera el 100 % de actividad antifúngica sobre *B. cinerea*, lo que permitió realizar los recubrimientos en frutos de zarzamora con esta combinación, pero además con los otros porcentajes de quitosano, con el fin de determinar la eficiencia de esta combinación (Capítulo 2).

Caracterización fisicoquímica del EATVs. Con la caracterización fisicoquímica del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* se evaluaron las propiedades organolépticas y físicas del extracto a las concentraciones de 1 y 10 mg/mL. En el cuadro 4 se muestran los diferentes parámetros que se determinaron.

Cuadro 4. Propiedades organolépticas del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* a 1 y 10 mg/mL.

Parámetro	10 mg/mL	1 mg/mL
Color	Café rojizo saturado	Café rojizo insaturado
Turbidez	Ausencia	Ausencia
Separación en capas	Ausencia	Ausencia
Sabor	Amargo	Dulce
Olor	Leñoso o resinoso Quemado o ahumado	Dulce
Grados Brix	22	7.5
pH	6	6

Conclusiones

Tanto el extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* y el quitosano mostraron una alta actividad antifúngica sobre *B. cinerea* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL; y 2.5 %, respectivamente), confirmándose esta inhibición con la combinación de quitosano (2.5 %) y el extracto acuoso (1.01 mg/mL).

El extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* posee características fisicoquímicas a la concentración de 1 mg/mL, que muestran el potencial para ser adicionado en los recubrimientos de quitosano en frutos de zarzamora, sin que se provoquen cambios organolépticos en los frutos de zarzamora.

8.2. Capítulo 2. Determinación del efecto antifúngico sobre *Botrytis cinerea* de recubrimientos de quitosano adicionados con el extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* en frutos poscosecha de zarzamora (*Rubus fruticosus* cv. Tupy).

Resumen

Este estudio evaluó el uso de recubrimientos de quitosano potenciados con la CI₁₀₀ (1.01 mg/mL) del extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (EATVs) para determinar su efecto antifúngico sobre el hongo *Botrytis cinerea* en frutos de zarzamora (*Rubus fruticosus* cv. Tupy) durante la poscosecha. Los frutos de zarzamora cv. Tupy en estado de maduración para consumo, se recubrieron con cinco concentraciones de quitosano solo (1, 1.5, 2, 2.5 y 3 %), o con la adición de la CI₁₀₀ (1.01 mg/mL) del EATVs obtenida en ensayos *in vitro* sobre *B. cinerea* (Capítulo 1). Después de estandarizar un método de asepsia con hipoclorito de sodio comercial al 10%, las condiciones de la preparación de un tratamiento óptimo de recubrimientos de los frutos (5 min de inmersión/15 min de secado en campana de flujo laminar a 35°C) y una inoculación con 1x10³ esporas/mL de *B. cinerea*, realizando pruebas de patogenicidad, se determinó la actividad antifúngica en condiciones de almacenamiento de 10 °C por 7 días (almacén en frío), seguidas con 25 °C por 5 días (vida de anaquel). Los resultados mostraron que tanto el quitosano al 2.5% como el extracto, por separado logran un 100% de inhibición fúngica, equivalentes a un índice de severidad de 0 (IS 0), e igual a lo observado con el fungicida comercial y obteniendo un IS 7 con solo la aplicación de esporas. Sin embargo, solo la combinación de quitosano (2.5%) con la CI₁₀₀ del EATVs logró mantener la calidad comercial del fruto durante 5 días de vida de anaquel a 25 °C (después de 7 días a 10 °C). Los resultados demuestran que esta mezcla de quitosano con el extracto vegetal no solo previene la infección, sino que otorga mayor brillo, firmeza y resistencia a la deshidratación en comparación con los tratamientos individuales, consolidándose como una alternativa biotecnológica eficaz y segura para prolongar la vida útil de la zarzamora.

Palabras clave: Antifúngico, poscosecha, quitosano, zarzamora.

Materiales y métodos

El extracto acuoso de tallos de *V. sphaerocephala* (EATVs) se obtuvo como se describe en el apartado 7 de materiales métodos, así como la descripción del hongo (*B. cinerea*) utilizado en los ensayos en frutos de zarzamora recubiertos.

Frutos de zarzamora. Se utilizaron frutos obtenidos de un huerto comercial de zarzamora (*Rubus fruticosus* cv. Tupy) en madurez de consumo o comercial.

Pruebas de Patogenicidad. La patogenicidad de *B. cinerea* se evaluó en frutos de zarzamora en madurez de consumo, para asegurar el nivel de infección y el daño en los frutos, con la aplicación de una solución de 1×10^3 esporas/mL. Los frutos fueron previamente desinfectados con una rutina de asepsia que consistió en tratarlos con una solución de hipoclorito de sodio comercial (Cloralex®, 6 % de cloro activo) al 10 % por inmersión de 5 min, realizando al final, tres enjuagues de agua estéril dentro de un área estéril, permitiendo su secado sobre papel secante estéril a temperatura ambiente. Posteriormente, estos frutos fueron sometidos a los ensayos de patogenicidad, bajo diversos tratamientos: Frutos sin inocular, frutos inoculados con la aplicación por inmersión del fungicida comercial Benomyl50® (10 mg/mL) y frutos inoculados.

Las esporas de *B. cinerea* se obtuvieron con la adición de agua estéril sobre el micelio del hongo crecido por dos semanas en PDA, preparando una solución de 1×10^{-3} esporas/mL. El método de infección con esporas se realizó de la siguiente manera: en un área estéril, se realizó una herida en el pedúnculo de los frutos asépticos, introduciendo una aguja de disección por 0.5 cm en la zona del pedúnculo, aplicando las esporas por aspersión de forma homogénea en todo el fruto, utilizando un atomizador estéril de 5 mL. Los frutos se colocaron en contenedores de plástico estériles y se incubaron por 5 días a 25 °C, para reportar datos de infección por el hongo.

La infección se evaluó a los 5 días de la incubación, utilizando la escala propuesta por Arias *et al.* (2020), la cual tiene 7 grados de severidad con equivalencias en porcentajes de infección de los frutos: 0, fruto sano (sin infección); 1, infección del 1 al 5 % de la superficie del fruto); 2, infección del 6 al 10 % de la superficie del fruto; 3, infección del 11 al 20 % de la superficie del fruto; 4, infección del 21 al 40 % de la superficie del fruto; 5, infección del 41 al 60 % de la superficie del fruto; 6, infección del 61 al 80 % de la superficie del fruto; y 7, infección del 81 al 100 % de la superficie del fruto con micelio y esporulación.

Determinación del tiempo de inmersión y de secado del recubrimiento de quitosano en frutos de zarzamora cv. Tupy. El quitosano de peso molecular medio se obtuvo de Sigma Aldrich, con grado de desacetilación entre 75 % - 85 % con respecto a la quitina proveniente de los caparazones de cangrejo. Como medio para disolución se usó solución de ácido acético

glacial al 1 % v/v, y se llevó a agitación 120 rpm durante 24 h, posteriormente se ajustó el pH a 5.5 con hidróxido de sodio (NaOH) 1M y se esterilizó en una autoclave por 15 min a 121 °C y 1 atmósfera de presión (Bautista y Bravo, 2004).

Para establecer el tiempo de inmersión en quitosano y tiempo de secado de los frutos recubiertos, para obtener el mejor tratamiento con frutos que no presenten deformación y daño, se ensayaron cinco concentraciones de quitosano solo (1, 1.5, 2, 2.5 y 3 %), las que se vertieron en solución en vasos de precipitado en área estéril a diferentes tiempos y para el secado, se colocaron en área estéril (campana de flujo laminar, 35°C), hasta la formación uniforme del recubrimiento de quitosano. Se realizaron 6 tratamientos, variando el tiempo de inmersión y de secado, realizados en campana de flujo laminar a 35°C (Cuadro 5).

Cuadro 5. Tratamientos en frutos de zarzamora cv. Tupy utilizados para la determinación del tiempo óptimo y de secado del recubrimiento por quitosano al 2.5 %.

Tratamiento	Tiempo de Inmersión	Tiempo de Secado
1	1 s	15 min
2	1 s	20 min
3	1 min	15 min
4	1 min	20 min
5	5 min	15 min
6	5 min	20 min

Efecto antifúngico en frutos de zarzamora cv. Tupy con recubrimientos, inoculados con *B. cinerea*

En frutos recubiertos con quitosano solo. Una vez seleccionado las óptimas condiciones de recubrimiento con quitosano en los frutos de zarzamora cv. Tupy, se realizaron los ensayos de actividad antifúngica con los diferentes porcentajes de quitosano solo (1, 1.5, 2, 2.5 y 3 %), inoculados con 1×10^3 esporas/mL de *B. cinerea*, usando los diferentes tratamientos control: Control negativo (C- 1), agua estéril:etanol (1:1); Control negativo (C- 2), ácido acético 1 %; y Control positivo (C+), fungicida comercial Benomyl50® (10 mg/mL). La inoculación de los

frutos se realizó como se describe en las pruebas de patogenicidad. Estos frutos se colocaron en contenedores de plástico estériles y se incubaron por 7 días a 10°C y después por 5 días 25°C, para reportar datos de infección por el hongo, por la escala de severidad de acuerdo a Arias *et al.* (2020).

En frutos recubiertos con quitosano adicionado con la CI₁₀₀ del extracto acuoso de tallo de V. sphaerocephala. En este ensayo, se determinó la actividad antifúngica con el tratamiento óptimo de quitosano del ensayo anterior, adicionando la CI₁₀₀ del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* (EATVs), así como en los controles antes mencionados, adicionando el de frutos inoculados recubiertos por inmersión solo con la CI₁₀₀ del EATVs. A los 5 días de la incubación a 25°C, posterior a la incubación en frío, se determinó el porcentaje de la infección.

Análisis estadístico. Los resultados se expresan como la media $\pm$ desviación estándar (n=5), con la realización de cada experimento al menos dos veces. Se utilizó un diseño completamente al azar. Los experimentos se procesaron mediante un análisis de varianza de una vía y los valores se presentan como promedio $\pm$ desviación estándar. Las medias se compararon con la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0.05$, usando el software JMP8.

Resultados y discusión

Pruebas de Patogenicidad. La determinación de la infección en frutos de zarzamora con la inoculación de esporas de *B. cinerea* se realizó a los cinco días. Los frutos asépticos sin inocular mostraron un alto grado de maduración a los 5 días de la incubación, sin la presencia de síntomas de infección por el hongo, confirmando la asepsia de los frutos con el método establecido (frutos sin inocular) y un resultado igual fue observado en los frutos inoculados con Benomyl50 (Cuadro 6, Figura 13A, 13B). Los frutos inoculados con 1×10^3 esporas/mL sin fungicida, presentaron un 100 % de infección, correspondiente a un IS de 7, a los 5 días de la incubación (Cuadro 6, Figura 13C), con presencia de micelio en toda la superficie del fruto.

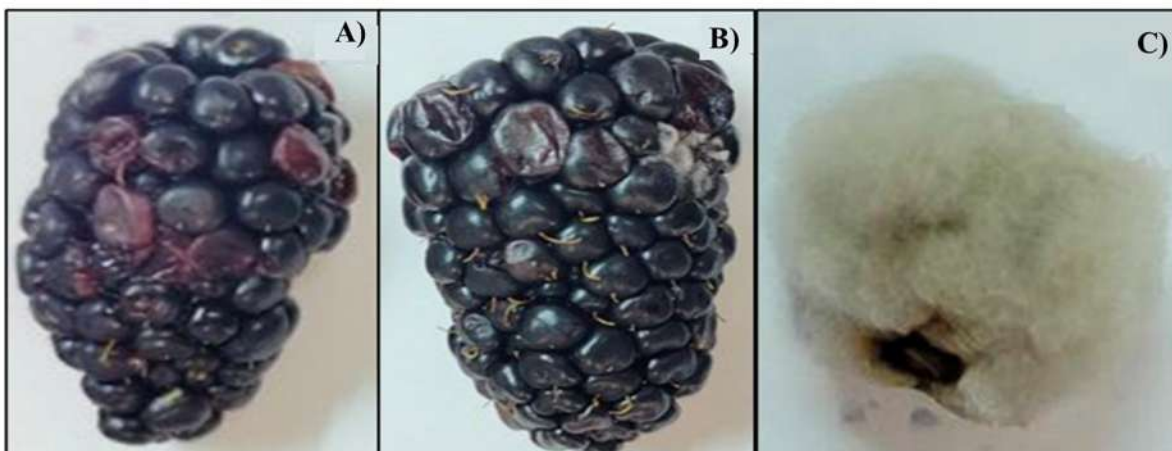


Figura 13. Imágenes representativas de la prueba de patogenicidad por *B. cinerea* en frutos de zarzamora, a los 5 días a 25°C: A) Fruto aséptico sin inocular; B) Fruto inoculado tratado con Benomyl50; C) Fruto inoculado tratado con agua por inmersión.

Cuadro 6. Porcentajes de infección e índices de severidad (IS) en frutos de zarzamora cv. Tupy, a los 5 días después de la inoculación con 1×10^3 esporas/mL por el método de aspersión, a 25°C.

Tratamientos en frutos	Infección (%)	IS
Sin inoculación	0	0
Inoculados con Benomyl50® (10 mg/mL)	0	0
Inoculados con <i>B. cinerea</i>	100	7

La confirmación del 100% de infección (IS de 7) en los frutos inoculados con 1×10^3 esporas/mL a los cinco días de incubación subraya la alta virulencia de *B. cinerea* en los frutos de zarzamora. Este resultado coincide con la naturaleza necrotrófica del hongo, el cual aprovecha el estado de madurez de los frutos para degradar las paredes celulares mediante enzimas específicas. La ausencia de síntomas en los frutos asépticos sin inocular valida el protocolo de desinfección con hipoclorito de sodio al 10%, demostrando que es posible eliminar la carga fúngica latente sin comprometer la integridad del fruto, un paso crítico para asegurar que los efectos observados en tratamientos posteriores se deban exclusivamente a la inoculación controlada. Por otro lado, la

eficacia del Benomyl50® como control positivo resalta la vulnerabilidad del patógeno ante fungicidas sistémicos; sin embargo, la rápida colonización de los frutos no tratados (control negativo) pone de manifiesto la necesidad urgente de alternativas como la propuesta de esta investigación, el uso de recubrimientos adicionados con un extracto vegetal (Palumbo *et al.*, 2022; Quintero-Echeverría *et al.*, 2023).

Determinación del tiempo de inmersión y secado en frutos recubiertos con quitosano. Los resultados de la inmersión con quitosano para seleccionar el mejor tratamiento que permitiera un óptimo recubrimiento de los frutos de zarzamora, mostraron variación en la deformación de las drupeolas, en la consistencia, en la exudación de líquido (*leakers*) y en la deshidratación, obteniendo un óptimo recubrimiento cuando los frutos fueron inmersos por 5 min en quitosano, con un tiempo de secado de 15 min dentro del área estéril, ya que presentaron una consistencia firme y sin deshidratación, después del periodo de incubación (7 días a 10°C y después de 5 días a 25°C) (Cuadro 7, Figura 14). Este tratamiento fue utilizado en los ensayos de la determinación antifúngica en frutos de zarzamora recubiertos con los diferentes tratamientos.

Cuadro 7. Determinación de tiempo de inmersión en quitosano y tiempo de secado en área estéril de frutos de zarzamora cv. Tupy.

Tratamiento		Deformación de drupeolas	Consistencia	Líquido de exudación	Deshidratación
Inmersión	Secado				
1 s	15 min	Sí	Blando	Sí	No
1 s	20 min	Sí	Blando	Sí	No
1 min	15 min	Sí	Blando	Sí	No
1 min	20 min	Sí	Blando	Sí	No
5 min	15 min	No	Firme	No	No
5 min	20 min	No	Firme	No	Sí



Figura 14. Imágenes representativas de la determinación de tiempo de inmersión/tiempo de secado del quitosano en frutos de zarzamora cv. Tupy: A) 1 s/15 min; B) 1 s/20 min; C) 1 min/15 min; D) 1 min/20 min; E) 5 min/15 min; F) 5 min/20 min.

Para optimizar el recubrimiento de la zarzamora, se determinó que una inmersión de 5 min seguida de un secado de 15 min en condiciones estériles constituye el método ideal, ya que logra una película uniforme que preserva la firmeza y evita la exudación de líquidos (*leakers*) o la deformación de las drupeolas. Este protocolo garantiza la estabilidad física del fruto incluso después de periodos prolongados de almacenamiento (7 días a 10 °C y 5 días a 25 °C), estableciendo las condiciones operativas necesarias para asegurar que la actividad antifúngica del quitosano solo o con la adición de un extracto vegetal, se ejerza sin comprometer la calidad sensorial del producto (Petriccione *et al.*, 2015; Dai *et al.*, 2025).

Determinación antifúngica en frutos recubiertos de quitosano. Primeramente, se determinó el efecto antifúngico sobre *B. cinerea* en frutos de zarzamora cv. Tupy inoculados con *B. cinerea*, recubiertos con los diferentes tratamientos de quitosano, los resultados se presentan en la figura 15, después de la incubación de los frutos por 7 días a 10 °C y 5 días a 25 °C. En este ensayo, se tuvieron diferentes tratamientos control como frutos inmersos en agua:etanol (1:1), en ácido acético 1 % y en Benomyl50®, los que se compararon con los recubiertos con quitosano.

En los tratamientos control se presentó la inhibición de 0 %, mostrando la infección por el hongo en la totalidad de los frutos alcanzando un IS de 7 (Figura 15 y Figuras 16A y 16B). Los frutos recubiertos con quitosano 2.5 % y tratados con el fungicida comercial, no mostraron síntomas de infección (IS de 0), siendo la inhibición del 100 %, sin diferencia significativa (Figura 15 y Figura 16C).

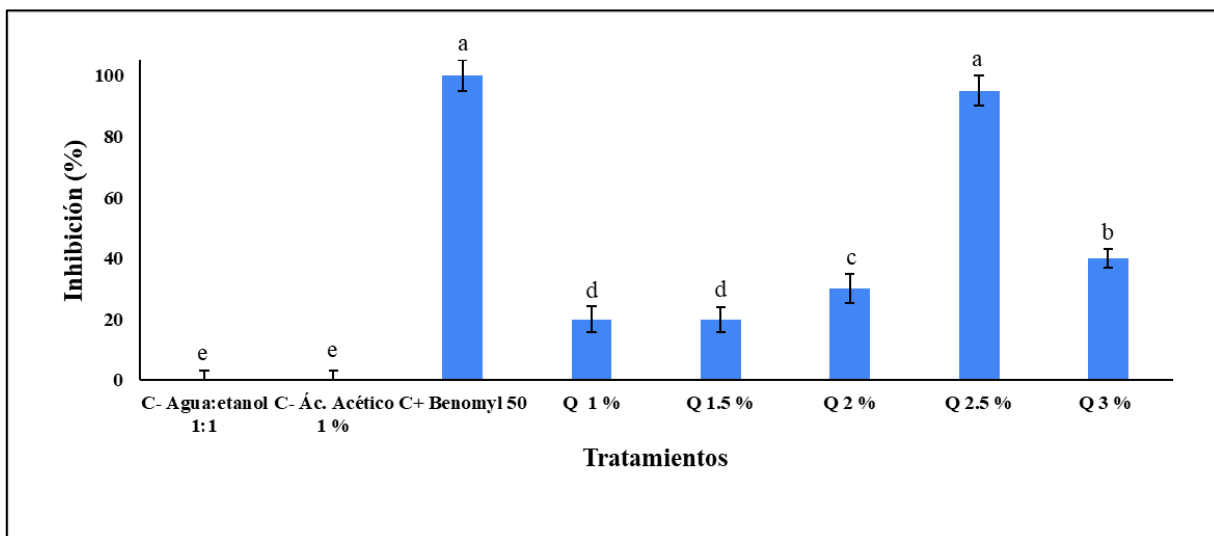


Figura 15. Porcentajes de inhibición en frutos de zarzamora cv. Tupy recubiertos con quitosano e inoculados con *B. cinerea*, después de la incubación por 7 días a 10°C y después por 5 días a 25°C. Tratamientos: C- 1 Agua:etanol (1:1); C- 2 Ácido acético 1 %; C + Benomyl50 (10 mg/mL); Q 1 %, Quitosano 1 %; Q1.5 %, Quitosano 1.5 %; Q 2 %, Quitosano 2 %; Q 2.5 %, Quitosano 2.5 %; Q 3 %, Quitosano 3 %. Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos ($P<0.05$, $n=5$, prueba de Tukey).

El efecto del quitosano sobre *B. cinerea* dependió del porcentaje, observando un 20 % de inhibición (IS de 7) con 1 y 1.5 % (Figura 15 y Figuras 16D y 16E), seguidos del porcentaje de 2 % que ejerció un 30 % de inhibición (IS de 6) (Figura 15 y Figura 16F) y del de 3 %, con el que se obtuvo un 40 % de inhibición, correspondiente a un IS de 5 (Figura 15 y Figura 16G). Sin embargo, se observó claramente que con el porcentaje de 2.5 % de quitosano solo, la infección fue solamente del 12 %, con in IS de 3 (Figura 15, Figura 16H), el mayor porcentaje de inhibición sobre el crecimiento de *B. cinerea* sobre los frutos de zarzamora. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos Q 1 y Q 1.5.

	 A)	 B)	 C)	 D)	 E)	 F)	 G)	 H)
Tratamiento	C-1 Agua:etanol (1:1)	C- 2 Ácido acético	C+ Benomyl50 10 mg/mL	Quitosano 1 %	Quitosano 1.5 %	Quitosano 2 %	Quitosano 2.5 %	Quitosano 3 %
Infección	100	100	0	80	80	70	12	60
IS	7	7	0	7	7	6	3	5

Figura 16. Imágenes representativas de los frutos de zarzamora cv. Tupy recubiertos con quitosano e inoculados con *B. cinerea*, después de la incubación por 7 días a 10°C y después por 5 días a 25°C: A) C- 1 Agua:etanol (1:1); B) C- 2 Ácido acético 1 %; C) C + Benomyl50 (10 mg/mL); D) Quitosano 1 %; E) Quitosano 1.5 %; F) Quitosano 2 %; G) Quitosano 2.5 %; H) Quitosano 3 %.

Con este ensayo, se seleccionó el tratamiento de quitosano 2.5 % por presentar el menor porcentaje de infección y fue utilizado en los ensayos de frutos inoculados con *B. cinerea*, con recubrimientos de quitosano solo y adicionados con el EATVs ($CI_{100}=1.01$ mg/mL). Se probaron los mismos tratamientos control, con otro consistente en frutos recubiertos solo con EATVs. Los resultados fueron iguales al ensayo anterior, los controles negativos mostraron un 100 % de infección (IS de 7), con el control positivo no se obtuvo infección (IS de 0) y con el EATVs también se obtuvo un 100 % de inhibición del hongo (IS de 0), lo que se confirmó con el tratamiento de quitosano 2.5 % adicionado con el EATVs (100 % de inhibición, IS de 0). Con el quitosano solo (2.5 %) se confirmó que no presenta una inhibición del 100 % (IS de 3) (Figura 17 y 18).

Los frutos inoculados con *B. cinerea* recubiertos con 2.5 % de quitosano más la CI_{100} del EATVs, además de no mostrar infección, no presentaron alteraciones en el color, en la firmeza y en la forma de las drupeolas (Figura 18E), sin embargo, los frutos con el EATVs sin recubrimiento de quitosano, aunque no se infectaron, mostraron pérdida de firmeza, alteración en las drupeolas con pérdida de líquido (Figura 18D).

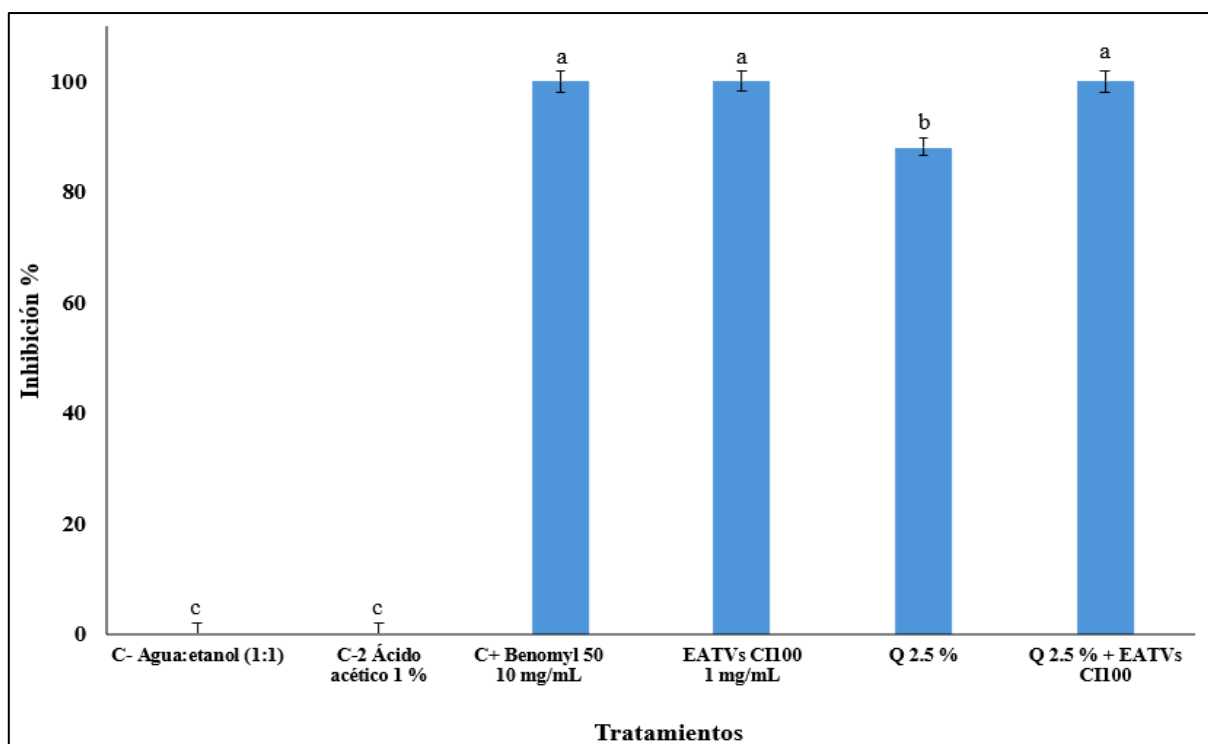


Figura 17. Porcentajes de inhibición en frutos de zarzamora cv. Tupy recubiertos con quitosano adicionado con el extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* e inoculados con *B. cinerea*, después de la incubación por 7 días a 10°C y después por 5 días a 25°C. Tratamientos: C- 1 Agua:etanol (1:1); C- 2 Ácido acético 1 %; C + Benomyl50 (10 mg/mL); Extracto Acuoso de Tallo de *V. sphaerocephala*, (EATVs, CI₁₀₀=1.01 mg/mL); Q 2.5 %, Quitosano 2.5 %; Q 2.5 % + EATVs (CI₁₀₀=1.01 mg/mL). Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos ($P<0.05$, $n=5$, prueba de Tukey).

	A)		B)		C)		D)		E)		F)	
Tratamiento	C- 1 Agua:etanol (1:1)		C- 2 Ácido acético 1 %		C+ Benomyl50 10 mg/mL		EATVs CI ₁₀₀ 1.01 mg/mL		Quitosano 2.5 %		Q 2.5 % + EATVs CI ₁₀₀	
Infección	100		100		0		100		11		100	
IS	7		7		0		7		3		0	

Figura 18. Imágenes representativas de los frutos de zarzamora recubiertos con quitosano con extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala*, inoculados con *B. cinerea*. Tratamientos: A), C- 1 Agua:etanol (1:1); B), C- 2 Ácido acético 1 %; C), C + Benomyl50 (10 mg/mL); D), Extracto Acuoso de Tallo de *V. sphaerocephala*, (EATVs, CI₁₀₀=1.01 mg/mL); E), Q 2.5 %, Quitosano 2.5 %; F), Q 2.5 % + EATVs (CI₁₀₀=1.01 mg/mL).

El recubrimiento de quitosano en frutos inoculados con *B. cinerea*, pero sin el EATVs, aunque protege a los frutos, después del periodo de incubación, no evita que ocurran daños como deshidratación y regresión en la superficie de los frutos. Sin embargo, los frutos recubiertos con 2.5 % de quitosano adicionado con el EATVs, además de lucir más brillantes, poseen más firmeza y menos deterioro por deshidratación en la superficie.

La eficacia del tratamiento combinado de quitosano al 2.5% y el EATVs (CI₁₀₀) demuestra un efecto sinérgico superior, logrando una inhibición del 100% de *B. cinerea* y preservando la calidad comercial del fruto. Mientras que el quitosano solo al 2.5% mostró una protección limitada (IS de 3) y el extracto solo, aunque antifúngico, comprometió la estructura física provocando pérdida de líquidos y firmeza, la combinación de ambos actuó como una barrera bioactiva integral. Esta sinergia no solo elimina la necesidad de fungicidas sintéticos como el Benomyl, sino que mitiga los daños fisiológicos como la deshidratación y la regresión superficial, resultando en frutos con mayor brillo y turgencia, lo que confirma que el quitosano actúa como el vehículo de soporte ideal para potenciar las propiedades de los metabolitos secundarios del extracto de *V. sphaerocephala* (Bautista-Baños *et al.*, 2017; Bajaj *et al.*, 2023).

Conclusión

Aunque los frutos de zarzamora cv. Tupy recubiertos con la CI₁₀₀ del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala*, no presentaron síntomas de la infección por *B. cinerea*, así como con 2.5 % de quitosano (solos), con la combinación de ambos (CI₁₀₀ EATVs + 2.5 % Quitosano), los frutos no mostraron síntomas de infección por *B. cinerea* y presentaron una mayor vida de anaquel con óptimas condiciones de consumo, en condiciones de almacén por 7 días a 10°C y 5 días a 25°C.

8.3. Capítulo 3. Análisis de las propiedades mecánicas, el contenido de polifenoles y actividad antioxidante en frutos poscosecha de zarzamora (*Rubus fruticosus* cv. Tupy) recubiertos con quitosano solo o adicionado con la CI₁₀₀ del extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala*.

Resumen

Esta etapa de la investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de un recubrimiento de quitosano al 2.5%, solo y adicionado con la CI₁₀₀ (1.01 mg/mL) del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* (EATVs) sobre la vida de anaquel y propiedades fisicoquímicas de frutos de zarzamora cv. Tupy. Mediante el análisis de pérdida de peso, firmeza, sólidos solubles totales y la cuantificación de compuestos bioactivos (fenoles, flavonoides y antocianinas) y la actividad antioxidante (DPPH•, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil; y ABTS•+, 2,2'-azino-bis-3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio), después de 12 días de almacenamiento (7 días a 10 °C y 5 días a 25 °C), se determinó que los frutos tratados redujeron significativamente la pérdida de peso (de 1 g a 0.33 g) y mantuvieron una mejor apariencia física. Los resultados destacaron que el recubrimiento combinado favoreció la retención de antocianinas (52.98 mg/mL) y compuestos fenólicos, mientras que el quitosano solo potenció la actividad antioxidante por DPPH (72.23%), concluyendo que la sinergia entre el polímero y el extracto vegetal preserva eficazmente tanto la integridad estructural como el valor nutricional del fruto en poscosecha.

Palabras clave: Antioxidantes, Fenoles, Recubrimientos, Zarzamora.

Materiales y métodos

Frutos de zarzamora. Se utilizaron frutos obtenidos de un huerto comercial de zarzamora (*Rubus fruticosus* cv. Tupy) en madurez de consumo o comercial. El extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (10 mg/mL) se encuentra almacenado a 10°C en un frasco ámbar hasta su utilización, se obtuvo de acuerdo a lo que se describe en la sección de materiales y métodos.

Evaluación del peso, firmeza y contenido de sólidos solubles en los frutos de zarzamora poscosecha recubiertos con quitosano y EATVs.

Se evaluó la pérdida de peso, como cambio físico ocurrido después del periodo de incubación (7 días a 10 °C y 5 días a 25 °C) en los frutos sin recubrimiento de quitosano, con el recubrimiento de quitosano 2.5 % y recubiertos con quitosano 2.5 % adicionado con la CI₁₀₀ (1.01 mg/mL) del EATVs (basándose en la metodología del Capítulo 2), tomando resultados el primer día (día 0), el día 7 después de la incubación a 10 °C y por último el día 12 del

experimento, 5 días después de la incubación a 25 °C. También se evaluaron las propiedades mecánicas que fueron la firmeza y los sólidos solubles totales después de los 12 días de incubación. La toma de datos fue en los mismos días que el cambio físico y en los mismos frutos (n=5).

Pérdida de peso. La pérdida de peso se evaluó el día que se recubrieron los frutos de zarzamora (día 0), el día 7 después de la incubación a 10 °C y también el día 12, al finalizar el experimento (después de 5 días incubados a 25 °C). El día 0 se realizó el pesaje de los frutos antes y después de ser recubiertos con los tratamientos del quitosano 2.5 % y quitosano 2.5 % adicionado con EATVs, utilizando frutos sin recubrimiento de quitosano como control. Los días 7 y 12, se realizó el pesaje de los frutos de los tres diferentes tratamientos y se compararon con los mismos frutos, recubiertos el día 0. Para recolectar los datos en cada día, se utilizaron tres frutos independientes en las muestras tomadas por día y por tratamiento. La báscula digital utilizada fue el modelo BASE-5EPP, marca PRETUL. Los resultados se expresan como pérdida o ganancia de peso al día 0, 7 o 12.

Firmeza. La firmeza en (kg f/cm²) se midió con un penetrómetro *mini fruit hardness meter*, modelo GY-M30, utilizando los frutos de zarzamora después de realizar el pesaje los días 0, 7 y 13, en los tres diferentes tratamientos: sin recubrimiento, con recubrimiento de quitosano 2.5 %, y con recubrimiento de quitosano 2.5 % adicionado con EATVs, los cuales se colocaron sobre una superficie limpia y plana, para posteriormente introducir el indentador por completo (0.8 cm de ancho por 2 cm de largo) y registrar la carga máxima aplicada sobre cada fruto.

Sólidos solubles totales (SST). Después de evaluar la firmeza en los frutos, los mismos se utilizaron para evaluar la cantidad de sólidos solubles totales. Los frutos de zarzamora se colocaron en un mortero y se trituraron, luego se tomó una gota de 10 µL y se colocó en el prisma refractivo para poder determinar los resultados en grados Brix (°Bx). Se utilizó un refractómetro manual ATC, Brix 0-32 %, calibrado con una gota de agua destilada.

Obtención de los extractos de frutos de zarzamora poscosecha. Los extractos de frutos de zarzamora sin quitosano, con el recubrimiento óptimo antifúngico (2.5 %), recubiertos con la CI₁₀₀ del EATVs y con quitosano adicionado con la CI₁₀₀ del EATVs, los cuales fueron recubiertos en base a la metodología descrita en el capítulo II, se obtuvieron de acuerdo al método descrito por Arabbi y Lajolo (2004), con modificaciones. Cada fruto (n=3) fue sometido a una molienda con nitrógeno líquido y una vez pulverizado, se sometió a una extracción por maceración en frío (10 °C) en frascos ámbar, utilizando metanol como solvente extractante en una concentración de 1 g peso fresco en 10 mL de metanol (1:10).

Después de 7 días, el macerado fue filtrado a través de papel filtro (Whatman no. 2), y se evaporó a sequedad en un rotavapor al vacío marca BÜCHI® (Suiza), modelo R-124 a 50°C, en un matraz balón de peso conocido, a 50°C y se resuspendieron las muestras en 1 mg/10 mL de metanol y se almacenaron en frascos ámbar a 10°C hasta su utilización. Para el extracto de los frutos de zarzamora en fresco también se utilizaron por separado (n=3), cada fruto fue sometido a una molienda, se agregó metanol en una concentración 1:10 (1 g de peso fresco en 10 mL de metanol) y se evaporó a sequedad en el rotavapor antes mencionado. Las muestras obtenidas se resuspendieron en 1 mg/10 mL de metanol y se almacenaron en frascos ámbar, aunque se utilizaron inmediatamente.

Las últimas muestras descritas se utilizaron como control, mientras que las muestras de los frutos después de la incubación fueron utilizadas para la determinación del contenido de ácidos fenólicos totales por el método de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999; Mod. por Rodríguez-Valdovinos, 2024), flavonoides por el método cloruro de aluminio (Mahboubi *et al.*, 2013; Mod. por Rodríguez-Valdovinos, 2024), antocianinas mediante el método diferencial de pH (Giusti y Wrolstad, 2001). La actividad antioxidante se determinó por dos métodos, con la actividad captadora de radicales libres DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) de acuerdo a lo descrito por Barriada-Bernal *et al.* (2014), modificado por Rodríguez-Valdovinos (2024) y por el método de la actividad inhibitoria del radical ABTS•+ con la oxidación de 2,2'-azino-bis-3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio (Lee *et al.*, 2015; Modificado por Rodríguez-Valdovinos, 2024) (n=3).

Determinación del contenido de compuestos totales

Determinación del contenido total de ácidos fenólicos. Se determinó el contenido fenólico total usando el método de Folin-Ciocalteu, de acuerdo con Singleton *et al.* (1999) con modificaciones de Rodríguez-Valdovinos (2024). Se tomaron 50 µL de cada muestra de frutos de zarzamora sin quitosano, frutos recubiertos con quitosano al 2.5 %, frutos recubiertos con la CI₁₀₀ del EATVs, frutos recubiertos con quitosano al 2.5 % adicionadas con la CI₁₀₀ del EATVs, y también del extracto a dos concentraciones: 1 mg/mL y 10 mg/mL. Posteriormente se adicionaron 500 µL de agua desionizada y se agitaron. Se añadieron 25 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu 1 N y se agitaron por 5 min. Después se agregaron 75 µL de una solución de Na₂CO₃ al 20 % (m/v) y se dejaron reposando en ausencia de luz y en temperatura ambiente por 2 h. Se leyeron las absorbancias de las muestras en un espectrofotómetro de luz ultravioleta (UV/VIS VELAB-VE5100UV) a 760 nm.

Para determinar el contenido total de compuestos fenólicos de los frutos de zarzamora poscosecha recubiertos con quitosano al 2.5 %, se utilizó metanol como blanco y para el extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala*, se utilizó agua y etanol (1:1). Los valores se reportan como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (peso seco, p.s.) (mg EAG/g p.s.) mediante una curva de calibración realizada con diferentes concentraciones de ácido gálico (0-0.3 mg/mL), determinando la concentración mediante la ecuación de la recta:

$$x = \frac{y - 0.1082}{3.0246}$$

Determinación del contenido total de flavonoides. La cuantificación de flavonoides totales se realizó por el método de cloruro de aluminio descrito por Mahboubi *et al.*, 2013; modificado por Rodríguez-Valdovinos, 2024. Primeramente, se añadieron 100 µL de muestra de cada uno de los extractos de frutos de zarzamora (sin quitosano, con quitosano 2.5 %, con la CI₁₀₀ del EATVs y con quitosano 2.5 % adicionado con la CI₁₀₀ del EATVs), así como del EATVs en las concentraciones de 1mg/mL y 10 mg/mL (n=3), para después añadir 300 µL de etanol absoluto. Posteriormente se agregaron 40 µL de solución de AlCl₃ (cloruro de aluminio) al 10 % y 40 µL de solución de acetato de potasio 1M, para finalmente agitar vigorosamente. Después se añadieron 560 µL de agua desionizada y se agitaron nuevamente, para dejarlos reposar en

oscuridad y a temperatura ambiente por 30 min. Como blanco o control para las muestras de los frutos de zarzamora, se utilizó metanol y para las muestras del extracto se empleó agua y etanol (1:1). Se obtuvieron las lecturas de absorbancia de cada muestra en un espectrofotómetro de luz ultravioleta (UV/VIS VELAB-VE5100UV) a una longitud de onda de 415 nm. Los valores se reportan como mg equivalentes de quercetina por gramo en peso seco (mg EQ/g p.s.), obtenidos mediante una curva de calibración, realizada con quercetina en un rango de concentración de 0-0.4 mg/mL, con la ecuación de la recta:

$$x = \frac{y - 0.0427}{2.5051}$$

Determinación del contenido total de antocianinas. El método diferencial de pH propuesto por Giusti y Wrolstad (2001), se basa en la reacción para cuantificar el total de antocianinas y se realizó en los extractos de frutos de zarzamora en poscosecha sin recubrimiento, recubiertos con quitosano al 2.5 %, recubiertos con la CI₁₀₀ del EATVs y recubiertos con quitosano al 2.5 % adicionados con la CI₁₀₀ del EATVs. Primero se añadió HCl concentrado 10 % v/v a los extractos de los frutos de zarzamora para dejarlos reposar 1 día cubiertos de la luz, a 10 °C. Después se prepararon dos soluciones, la primera consistió en de KCl (cloruro de potasio) 0.025 M con pH 1.0, y la segunda, de acetato de sodio (CH₃COONa) 0.4 M con pH 4.5. Posteriormente se tomaron 100 µL de la muestra y 400 µL de cada solución, por separado (n=3), y se incubaron por 15 min en oscuridad a temperatura ambiente. Como blanco se utilizó metanol más HCl y cada solución, por separado. Después se obtuvieron los valores de absorbancias a una longitud de onda de 510 nm, y después se realizó una segunda lectura, a una longitud de onda de 700 nm, en un espectrofotómetro de luz ultravioleta (UV/VIS VELAB-VE5100UV).

Para realizar el cálculo de la absorbancia neta se utilizó la siguiente fórmula:

$$A = (A_{\lambda 510} - A_{\lambda 700})_{pH1} - (A_{\lambda 510} - A_{\lambda 700})_{pH4.5}$$

En donde A es la absorbancia neta, $A_{\lambda 510}$ son las lecturas capturadas con la absorbancia a 510 nm, $A_{\lambda 700}$ son las lecturas capturadas con la absorbancia a 700 nm, $pH1$ son los datos correspondientes a las lecturas con el buffer de KCl (pH 1) y $pH4.5$ son los datos correspondientes a las lecturas con el buffer de acetato de sodio (pH 4.5). Los datos obtenidos

en esta fórmula fueron empleados en el cálculo de contenido de antocianinas en el cual se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Antocianinas} \frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\varepsilon \times 1 \text{ cm}}$$

En donde A absorbancia neta, calculada anteriormente. MW es el peso molecular del pigmento (g/mol). DF es el factor de dilución de la muestra, ε es la extinción o absorptividad molar de la muestra y 1cm es la longitud de la celda. Los resultados se expresarán como el contenido de antocianinas en mg/L que se encuentran en cada muestra.

Determinación de la actividad antioxidante *in vitro*

Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH•. La determinación de la actividad antioxidante de captación de radicales libres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH•) en los frutos de zarzamora en poscosecha sin recubrimiento, recubiertos con quitosano 2.5 %, con la CI₁₀₀ del EATVs y quitosano 2.5 % con la CI₁₀₀ del EATVs, además del extracto en dos concentraciones (1mg/mL y 10 mg/mL), se realizó en base al método de Barriada-Bernal *et al.* (2014), modificado por Rodríguez-Valdovinos, 2024. Se utilizó una solución de DPPH• con 98 µg/mL en metanol, de ésta, se tomaron 450 µL y se mezcló con 50 µL de cada muestra y se agitaron vigorosamente. El blanco utilizado para las muestras de los frutos de zarzamora fue metanol y para el EATVs agua y etanol (1:1). Después se incubaron en oscuridad, a temperatura ambiente por 20 min y se obtuvo la absorbancia a 517 nm con un espectrofotómetro de luz ultravioleta (UV/VIS VELAB-VE5100UV). Se utilizaron el ácido ascórbico y Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) como comparativos de antioxidantes sintéticos, a una concentración de 10 mg/mL. Los resultados se muestran como el porcentaje de la capacidad de eliminación de radicales libres que se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\%DPPH = \frac{(AbsC - AbsM)}{(AbsC)} \times 100$$

Donde $AbsC$ es la absorbancia del blanco (metanol para los frutos de zarzamora y agua:etanol (1:1)) más la solución DPPH• y $AbsM$ es la absorbancia del DPPH• más la muestra de los frutos de zarzamora sin quitosano, recubiertos con quitosano 2.5 % y recubiertos con quitosano 2.5 % adicionado con el CI_{100} del EATVs después de la incubación, también se realizó con el extracto a 1 mg/mL y a 10 mg/mL.

Determinación de la actividad antioxidante por el método de ABTS•⁺. La técnica ABTS•⁺ se realizó usando el procedimiento descrito por Lee *et al.* (2015), modificado por Rodríguez-Valdovinos, 2024. Primero se generó el radical ABTS•⁺ mediante una reacción de oxidación del ABTS (7.4 mM) y K₂S₂O₈ (persulfato de potasio) (2.4 mM), en una relación 1:1, se puso en agitación en un frasco ámbar y en oscuridad durante 2 h, a temperatura ambiente. La solución de ABTS•⁺ se diluyó con agua desionizada hasta alcanzar un valor de absorbancia de 0.700 ± 0.01 a una longitud de onda de 734 nm en un espectrofotómetro de luz ultravioleta (UV/VIS VELAB-VE5100UV).

Una vez obtenida la solución ABTS•⁺, se agregaron 50 μ L de muestra de los frutos de zarzamora sin quitosano, de frutos recubiertos con quitosano al 2.5 %, con la CI_{100} del EATVs y de frutos recubiertos con quitosano al 2.5 % adicionando la CI_{100} del EATVs, después del almacenamiento (7 días a 10 °C y 5 días a 25°C), además del extracto en dos concentraciones (1 mg/mL y 10 mg/mL). El blanco utilizado para las muestras de los frutos de zarzamora fue metanol y para el extracto fue agua:etanol (1:1). Después, se añadieron 450 μ L de solución ABTS•⁺ y se agitaron brevemente. Se incubaron por 6 min en oscuridad y a temperatura ambiente. El valor de la absorbancia se obtuvo a 734 nm en un espectrofotómetro de luz ultravioleta (UV/VIS VELAB-VE5100UV). El porcentaje de inhibición del radical ABTS•⁺ se midió usando la fórmula:

$$\%ABTS = \frac{(AbsC - AbsM)}{(AbsC)} \times 100$$

Donde $AbsC$ es la absorbancia del control (solución ABTS•⁺ más metanol y agua:etanol (1:1)), $AbsM$ representa la absorbancia de la muestra de prueba (solución ABTS•⁺ más la muestra de los frutos de zarzamora sin quitosano, recubiertos con quitosano 2.5 % y recubiertos con

quitosano 2.5 % adicionado con el CI₁₀₀ del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* después de la incubación y también del extracto (1 mg/mL y 10 mg/mL).

Análisis estadístico. Los resultados se expresan como la media $\pm$ desviación estándar (n=3), con la realización de cada experimento al menos dos veces. Éstos se procesaron mediante un análisis de varianza de una vía; las medias se compararon con la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $P < 0.05$, usando el software JMP8.

Resultados y discusión

Pérdida de peso, firmeza y sólidos solubles en los frutos de zarzamora poscosecha recubiertos con quitosano y EATVs

Pérdida de peso. Con la determinación de la pérdida de peso (g) en los frutos de zarzamora, se obtuvieron resultados que expresan que con los recubrimientos con quitosano 2.5 % y los recubrimientos con quitosano 2.5 % adicionados con la CI₁₀₀ del EATVs, hubo cambios del peso de los frutos de acuerdo a cada tratamiento durante el tiempo de incubación. El primer cambio de peso se observó en los frutos sin recubrimiento, en los recubiertos con quitosano 2.5 % y en los frutos con el EATVs, a los 7 días de almacenamiento a 10 °C, con una pérdida de peso de 0.33 g, 0.67 g y 1 g, respectivamente, mientras que en los frutos recubiertos con quitosano 2.5 % adicionado con el EATVs no se presentó pérdida de peso en los frutos (Figura 18). A los 12 días de la incubación (7 días a 10 °C y 5 días a 25 °C), se observó la mayor pérdida de peso en los frutos sin recubrimiento y con el EATVs (1 g) y los menores valores en los tratamientos con quitosano 2.5 % (0.33 g) y quitosano 2.5 % con EATVs (0.33 g), sin diferencias significativas entre éstos (Figura 19).

La menor pérdida de peso en frutos con recubrimiento de quitosano se explica a las propiedades de retención de humedad del quitosano, debido a la presencia de los grupos hidroxilo (^-OH) y amino ($^-\text{NH}_2$) de esta molécula, lo que mejora la afinidad con el agua y previene la deshidratación en los frutos (Chaiwong *et al.*, 2022). Sin embargo, esta cualidad se vio favorecida cuando se adicionó el EATVs, sugiriendo que este extracto, rico en compuestos fenólicos (también con grupos ^-OH), se forman múltiples enlaces de hidrógeno entre los fenoles

y las cadenas de quitosano, dando como resultado que el recubrimiento sea más compacto y denso, que actúa como una barrera física mucho más difícil de atravesar para las moléculas de vapor de agua. Los compuestos fenólicos del extracto pueden interactuar con los sitios hidrofílicos del quitosano, "ocupándolos", lo que reduce la capacidad del vapor de agua del fruto para difundirse a través de la película. El extracto actúa como un "sellador" que reduce la permeabilidad al vapor de agua. La pérdida de peso en frutos no es solo evaporación física, sino también resultado de la respiración (oxidación de azúcares que libera CO₂ y H₂O (Siripatrawan y Harte, 2010; Hosseini *et al.*, 2018).

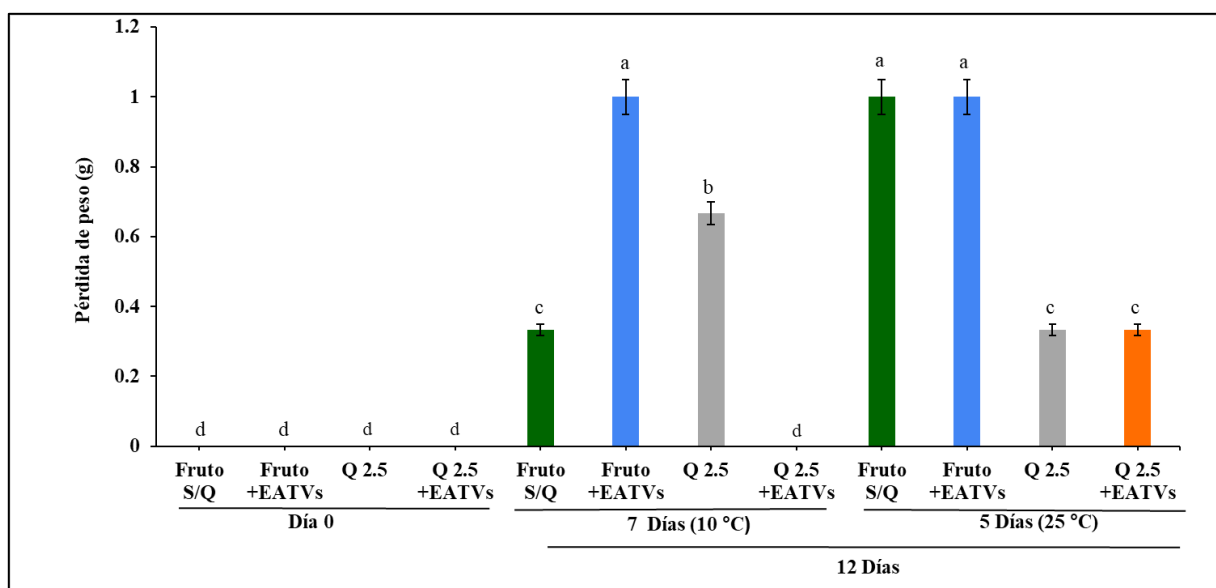


Figura 19. Pérdida de peso (g) en frutos de zarzamora cv. Tupy frescos (Día 0) y almacenados por 7 días a 10 °C y después por 5 días a 25 °C, con los siguientes tratamientos: Fruto S/Q, frutos sin recubrimiento de quitosano; Fruto + EATVs, frutos recubiertos con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL); Q 2.5, frutos recubiertos con quitosano 2.5 %; Q 2.5 + EATVs, frutos recubiertos con quitosano 2.5 % adicionado con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL). Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos ($P < 0.05$, $n=5$, prueba de Tukey).

Firmeza. La firmeza, determinada como la fuerza de un kg aplicada sobre un cm² de cada uno de los frutos (kgf/cm²), fue menor en los frutos sin quitosano (1.87), mientras que en los recubiertos con EATVs, quitosano 2.5 % y quitosano 2.5 % adicionado con el EATVs, los valores fueron mayores, con 2.13, 2.34 y 2.32, respectivamente y sin diferencia significativa, al

inicio del experimento (tiempo 0). Bajo las condiciones y tiempo de almacenamiento, la firmeza en los frutos recubiertos con el EATVs aumentó a 2.52, en el tratamiento con quitosano adicionado con el EATVs se mantuvo a los 7 días (10 °C) (2.32), aunque la firmeza en los frutos con quitosano 2.5 % solo, disminuyó a 1.64 (Figura 20). Sin embargo, a los 5 días de almacenamiento a 25 °C, los valores de firmeza disminuyeron en los frutos de todos los tratamientos, con el más bajo valor en los recubiertos con EATVs (0.98) y quitosano 2.5 % más el EATVs (0.75), con diferencias significativas entre los otros tratamientos (Figura 20).

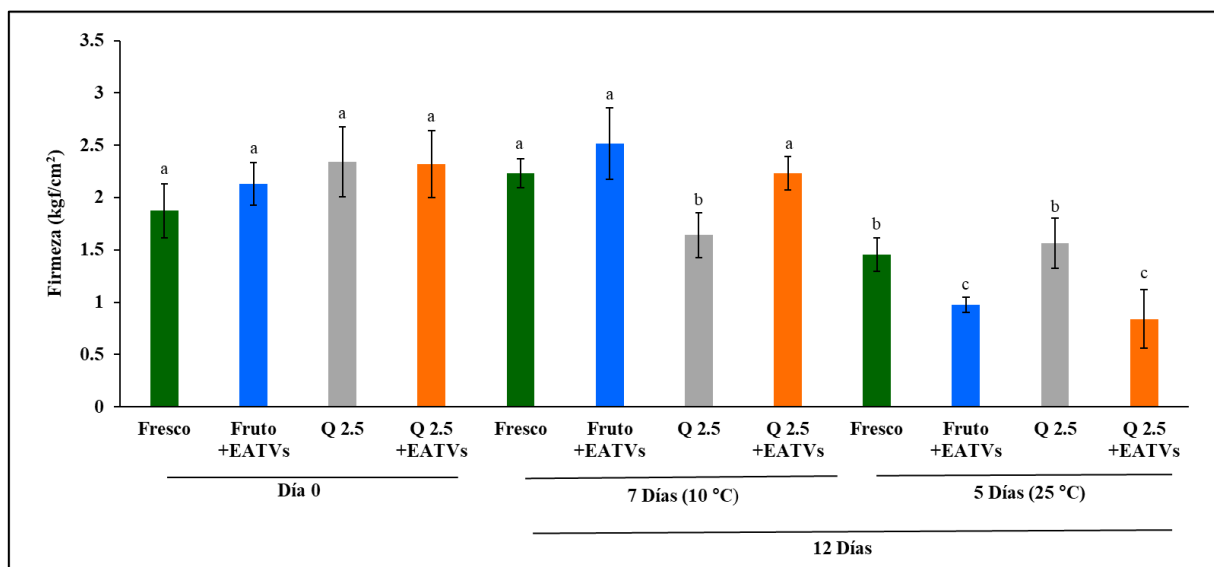


Figura 20. Firmeza en frutos de zarzamora cv. Tupy frescos (Día 0) y almacenados por 7 días a 10 °C y después por 5 días a 25 °C, con los siguientes tratamientos: Fruto S/Q, frutos sin recubrimiento de quitosano; Fruto + EATVs, frutos recubiertos con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL); Q 2.5, frutos recubiertos con quitosano 2.5 %; Q 2.5 + EATVs, frutos recubiertos con quitosano 2.5 % adicionado con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL). Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos ($P<0.05$, $n=5$, prueba de Tukey).

Estos resultados coinciden con los obtenidos con Ramos-Bell *et al.* (2024), quienes reportaron cambios en la firmeza de frutos de arándanos, con una disminución del 6 % al combinar quitosano con ácido salicílico, respecto a los frutos sin quitosano, a una temperatura estable de 25 °C por 9 días. Esa investigación también refiere que al mantener la temperatura de 4 °C la firmeza es igual para los tratamientos con y sin quitosano. Este efecto observado en la pérdida de la firmeza a 25 °C, incluso con el extracto EATVs, se debe a una combinación de aceleración

metabólica y cambios en la estructura física del recubrimiento, ya que la firmeza de un fruto depende de la integridad de la pared celular, específicamente de las pectinas, las que, a una temperatura de 25 °C, la actividad de enzimas como la poligalacturonasa (PG) y la pectinmetilesterasa (PME) se incrementa exponencialmente en comparación con los 10 °C. Aunque el quitosano y los fenoles del EATVs pueden inhibir parcialmente estas enzimas o reducir el oxígeno disponible, no detienen en gran medida la maduración de los frutos a esa temperatura, ya que se incrementa la tasa respiratoria y la transpiración, provocando la pérdida de turgencia, en la que la firmeza está ligada a la presión de turgencia de las vacuolas, se modifica la permeabilidad de los recubrimientos, los que también pueden ser sensibles a la temperatura.

Aunque parece contradictorio, que, en frutos recubiertos con quitosano adicionados con el EATVs, la firmeza decaiga, esto puede explicarse debido a la propiedad acuosa del extracto, ya que a altas temperaturas (25 °C), algunos compuestos fenólicos podrían inducir un ligero estrés oxidativo o ablandamiento químico en la epidermis del fruto si la concentración es alta. Además, el extracto acuoso puede plastificar demasiado la película de quitosano a altas temperaturas, haciéndola más permeable al vapor de agua que el quitosano solo en condiciones de calor extremo (Miranda *et al.*, 2004; Siripatrawan y Harte, 2010; Wang *et al.*, 2022).

Sólidos solubles totales. Los sólidos solubles totales son un indicador de sabor y dulzura en los frutos de zarzamora cv. Tupy, se evalúan en grados Brix (°Bx) mediante un refractómetro y cuyo valor para estos frutos en promedio es de 10 a 14 °Bx (González-Jiménez *et al.*, 2020). Al inicio del experimento (tiempo 0), en los frutos de zarzamora sin recubrimiento y en frutos recubiertos con quitosano al 2.5 %, el valor fue de 10 °Bx, pero con la adición del EATVs y el quitosano con EATVs, este valor fue más alto (12 °Bx). Los cambios de este parámetro durante el tiempo y temperaturas de incubación, se mantuvieron en promedio de los valores iniciales (10-12 °Bx), con los valores más altos en los frutos recubiertos con EATVs y quitosano 2.5 más el EATVs, sin diferencias significativas (Figura 21). Estos valores de °Bx (10-12) se encuentran en el rango reportado por González-Jiménez *et al.* (2020).

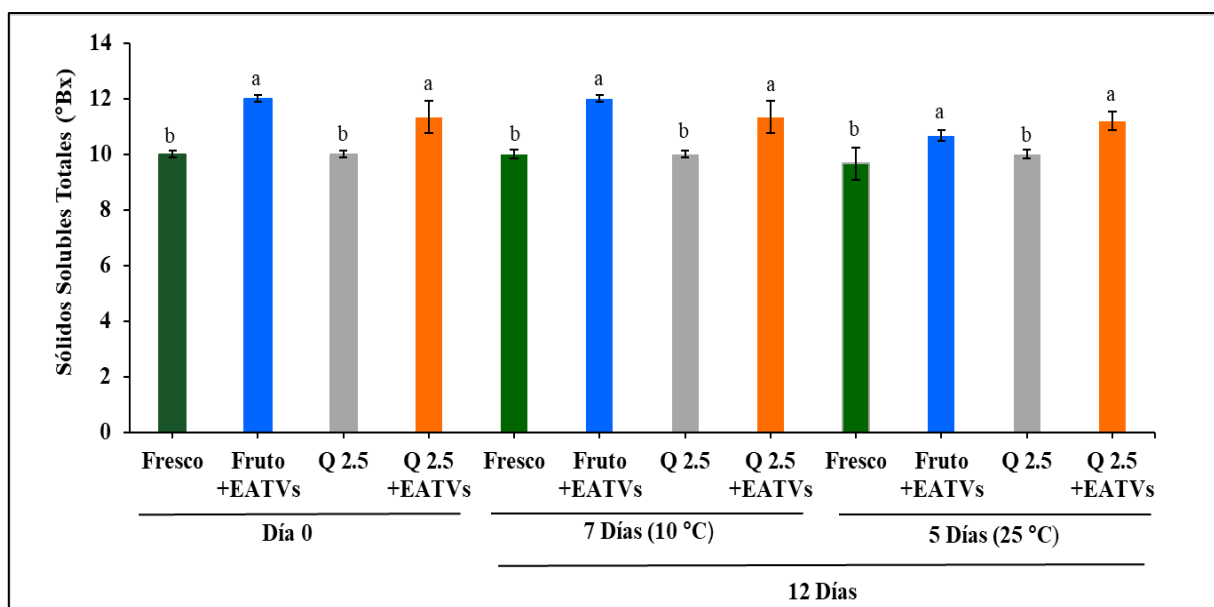


Figura 21. Sólidos solubles totales en frutos de zarzamora cv. Tupy frescos (Día 0) y almacenados por 7 días a 10 °C y después por 5 días a 25 °C, con los siguientes tratamientos: Fruto S/Q, frutos sin recubrimiento de quitosano; Fruto + EATVs, frutos recubiertos con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL); Q 2.5, frutos recubiertos con quitosano 2.5 %; Q 2.5 + EATVs, frutos recubiertos con quitosano 2.5 % adicionado con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL). Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos ($P < 0.05$, $n=5$, prueba de Tukey).

El hecho de que los sólidos solubles totales, medidos en °Bx, se mantengan estables (entre 10 y 12) a pesar de las diferentes temperaturas y el tiempo de incubación, es un indicador positivo de la efectividad de tu tratamiento en los frutos de zarzamora con los recubrimientos. Esto sugiere que el recubrimiento de quitosano enriquecido con EATVs actuó como una barrera efectiva para reducir el metabolismo interno del fruto. Este comportamiento se explica por la creación de una atmósfera modificada que limita el intercambio gaseoso, inhibiendo la degradación enzimática del almidón en azúcares simples (Maqbool *et al.*, 2010). La estabilidad de este parámetro es un indicador clave del retraso en la senescencia y el mantenimiento de la calidad postcosecha (Romanazzi *et al.*, 2017).

Determinación del contenido total de compuestos

Determinación del contenido total de ácidos fenólicos. El contenido total de ácidos fenólicos en los frutos de zarzamora se muestra en la figura 22, el valor más alto obtenido fue de 2.71 mg EAG/g p.s., para el tratamiento con el EATVs, seguido de la obtención de 2.47 mg EAG/g p.s. en los frutos recién cosechados sin recubrimiento, valor que se mantuvo sin diferencias significativas con los valores determinados en frutos recubiertos con quitosano 2.5 % (2.35 mg EAG/g p.s.) y con quitosano 2.5 % adicionado con el EATVs (2.31 mg EAG/g p.s.), a los 12 días después de su incubación (7 días a 10 °C y 5 días a 25 °C). En los frutos sin recubrimiento de quitosano, pero almacenados por 12 días, el contenido fue de 2.12 mg EAG/g p.s. y el menor contenido se obtuvo en los frutos recubiertos solo con el EATVs (0.84 mg EAG/g p.s.) (Figura 22).

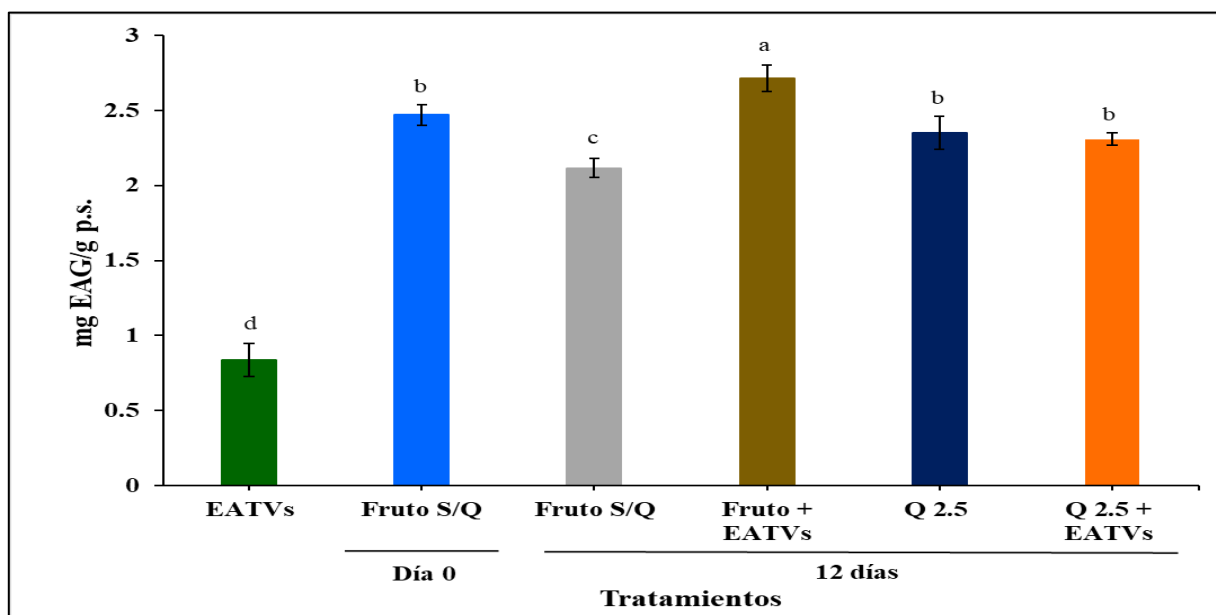


Figura 22. Contenido total de ácidos fenólicos (mg Equivalentes de Ácido Gálico/g peso seco) en frutos de zarzamora cv. Tupy frescos (Día 0) y almacenados por 7 días a 10 °C y después por 5 días a 25 °C, con los siguientes tratamientos: Fruto S/Q, frutos sin recubrimiento de quitosano; Fruto + EATVs, frutos recubiertos con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL); Q 2.5, frutos recubiertos con quitosano 2.5 %; Q 2.5 + EATVs, frutos recubiertos con quitosano 2.5 % adicionado con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL). Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos ($P < 0.05$, $n=5$, prueba de Tukey).

El mantenimiento del contenido de compuestos fenólicos en los frutos recubiertos, sin diferencias significativas respecto al valor inicial (2.47 mg EAG/g p.s.), sugiere que la matriz de quitosano y su combinación con el EATVs ejercen un efecto protector contra la oxidación de metabolitos secundarios. En frutos como la zarzamora (*Rubus* spp.), los fenoles tienden a disminuir durante la senescencia debido a la actividad de enzimas como la polifenol oxidasa (PPO) y la peroxidasa (POD). El recubrimiento de quitosano actúa como una barrera al oxígeno (O₂), limitando la actividad de estas enzimas oxidativas y preservando así la integridad de los ácidos fenólicos (Martínez-Camacho *et al.*, 2022).

Los resultados obtenidos en esta investigación, demuestra que hay una estabilidad del contenido de fenólicos durante el almacén, ya sea a 10 °C como a 25 °C, sugiriendo que el recubrimiento de quitosano sea el mayor responsable, ya que en frutos recubiertos solo con el EATVs, el contenido de fenólicos disminuyó. La ligera disminución en los frutos sin recubrimiento (2.12 mg EAG/g p.s.) refleja un proceso de senescencia más avanzado donde los antioxidantes propios del fruto se consumen para neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS) (Zhang y Quantick, 1997; Siripatrawan y Harte, 2010). En particular, Gol *et al.* (2013) observaron que en frutos de fresa recubiertos con quitosano 1 % y almacenados a 11 °C por 12 días, el contenido de ácidos fenólicos disminuyó durante las condiciones de almacén, aunque observaron que, a comparación de los frutos sin recubrimiento, las concentraciones de ácidos fenólicos son más altas, al igual que los resultados obtenidos en esta investigación.

Determinación del contenido total de flavonoides. El contenido total de flavonoides en los frutos de zarzamora cv. Tupy se muestra en la figura 23, recién cosechados (día 0) y almacenados por 12 días (7 días a 10 °C y 5 días a 25 °C), en la que se observa que el mayor contenido de flavonoides se obtuvo en los frutos recubiertos con quitosano 2.5 % (4.30 mg EQ/g p.s.), respecto a los frutos recubiertos con quitosano 2.5 % adicionado con EATVs (4.11 mg EQ/g p.s.), sin diferencias significativas entre ellos, valores más altos que el mostrado en frutos frescos sin recubrimiento (2.77 mg EQ/g p.s.), en los frutos sin recubrimientos de quitosano (2.86 mg EQ/g p.s.) y en los frutos con EATVs (2.82 mg EQ/g p.s.) con 12 días de almacenamiento, un valor similar al del EATVs (2.44 mg EQ/g p.s.) a ese tiempo de almacenamiento, sin diferencia estadística significativa entre estos tratamientos (Figura 23).

El incremento significativo en el contenido de flavonoides en los frutos recubiertos con quitosano (4.30 mg EQ/g p.s.) y quitosano + EATVs (4.11 mg EQ/g p.s.), en comparación con los frutos frescos (2.77 mg EQ/g p.s.), sugiere que el quitosano no solo actúa como una barrera física, sino también como un elicitor biótico, ya que éste es un polímero con capacidad de activar rutas metabólicas de defensa en las plantas, específicamente la ruta de los fenilpropanoides, lo que lleva a la síntesis *de novo* de compuestos como los flavonoides, los cuales funcionan como mecanismos de defensa química ante el estrés del almacenamiento (Romanazzi *et al.*, 2017).

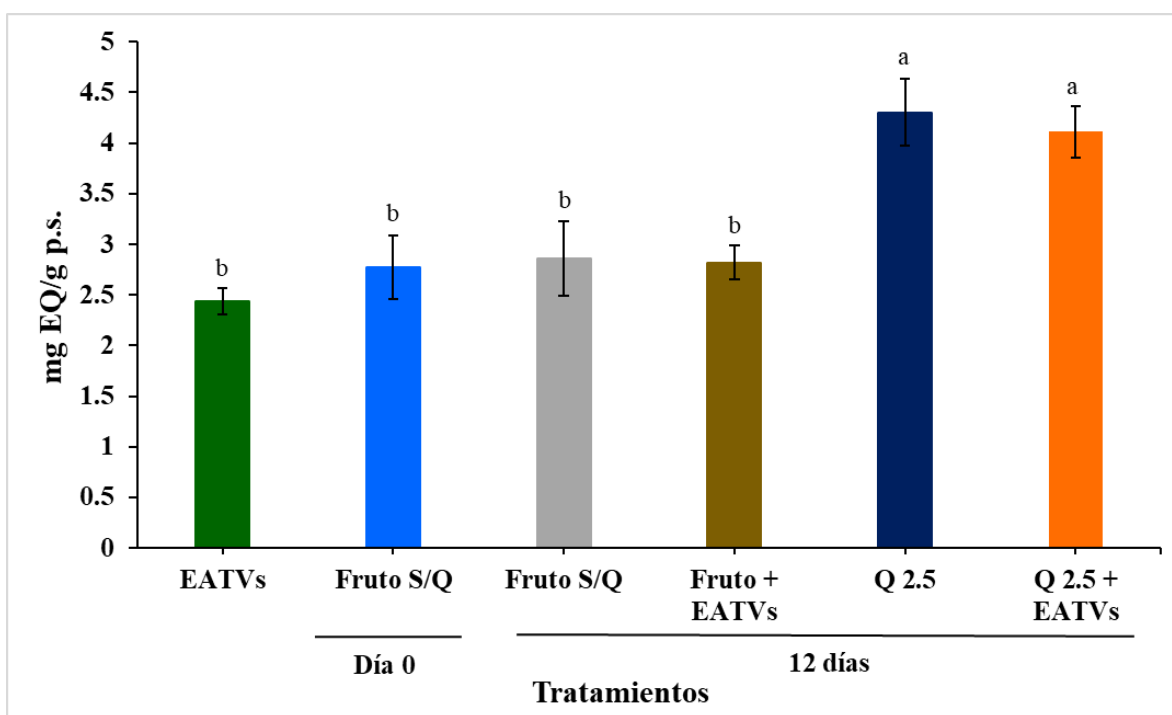


Figura 23. Contenido de flavonoides totales (mg Equivalentes de Quercetina/g peso seco) en frutos de zarzamora cv. Tupy frescos (Día 0) y almacenados por 7 días a 10 °C y después por 5 días a 25 °C, con los siguientes tratamientos: EATVs, extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL); Fruto S/Q, frutos sin recubrimiento de quitosano; Fruto + EATVs, frutos recubiertos con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL); Q 2.5, frutos recubiertos con quitosano 2.5 %; Q 2.5 + EATVs, frutos recubiertos con quitosano 2.5 % adicionado con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL). Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos ($P < 0.05$, $n=5$, prueba de Tukey).

También este efecto puede deberse a la preservación por barrera de gases que ejerce el quitosano, por lo que el contenido de flavonoides fue mayor en los frutos de zarzamora recubiertos con quitosano frente a los frutos sin recubrimiento (2.86 mg EQ/g p.s.) y con el extracto solo (2.44 mg EQ/g p.s.), por la formación de una película semipermeable. Esta barrera reduce la disponibilidad de oxígeno, lo que disminuye la tasa de auto-oxidación de los flavonoides y limita la actividad de la enzima polifenol oxidasa (PPO), encargada de degradar estos pigmentos (Petriccione *et al.*, 2015).

En cuanto al efecto observado en los frutos recubiertos con el EATVs en combinación con el quitosano, indica que la matriz polimérica es el factor determinante para la retención de estos compuestos. El bajo valor del tratamiento con solo el EATVs refuerza la idea de que los compuestos fenólicos del extracto requieren de una matriz (como el quitosano) para estabilizarse y evitar su degradación por la temperatura de 25 °C.

Contenido de antocianinas monoméricas totales. El contenido de antocianinas en frutos de zarzamora cv. Tupy, se muestran en la figura 24, en la que se indica un alto contenido en los frutos frescos con 57.19 mg/L, el cual disminuyó con las condiciones de almacén (7 días a 10 °C y 5 días a 25 °C) en todos los tratamientos, aunque en frutos recubiertos con quitosano 2.5 % y con quitosano 2.5 % adicionado con el EATVs, el contenido de antocianinas se mantuvo en una concentración aceptable, con 46.61 mg/L y 52.98 mg/L, respectivamente. Los valores más bajos se observaron en los frutos sin recubrimiento y recubiertos con el EATVs solo, con 17.20 y 9.60 mg/L, respectivamente.

El contenido de antocianinas en frutos de zarzamora se encuentra entre 87-102 mg/100 g de antocianinas, aunque realmente depende del cultivar y la zona en donde se cosechen (Ponder *et al.*, 2021). En la investigación realizada por Ascencio-Arteaga *et al.* (2022), los autores observaron en frutos de zarzamora recubiertos con goma guar y candelilla (cera derivada de una planta), almacenados por 6 días a 25 °C, que los frutos sin recubrimiento redujeron el contenido de antocianinas en comparación a frutos con recubrimiento, y mencionan que esto se debe a la inestabilidad de los pigmentos de los frutos que no tienen la protección de los recubrimientos que son sometidos al almacenamiento y que además aceleran el pardeamiento.

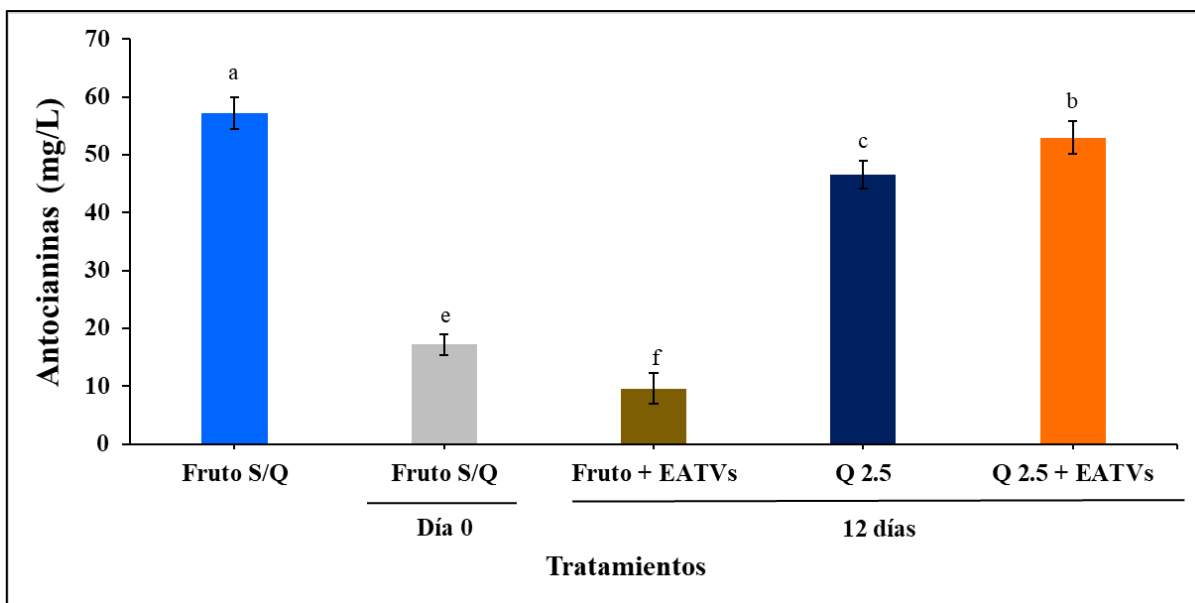


Figura 24. Contenido total de antocianinas (mg/L) en frutos de zarzamora cv. Tupy frescos (Día 0) y almacenados por 7 días a 10 °C y después por 5 días a 25 °C, con los siguientes tratamientos: Fruto S/Q, frutos sin recubrimiento de quitosano; Fruto + EATVs, frutos recubiertos con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL); Q 2.5, frutos recubiertos con quitosano 2.5 %; Q 2.5 + EATVs, frutos recubiertos con quitosano 2.5 % adicionado con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL). Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos ($P < 0.05$, $n=5$, prueba de Tukey).

Determinación de la actividad antioxidante *in vitro*

Determinación de la actividad antioxidante por DPPH. Con la determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH se obtuvieron resultados que se expresan como el porcentaje de inhibición del radical, en los extractos metanólicos de los diferentes tratamientos de frutos de zarzamora cv. Tupy. En los frutos de zarzamora recién cosechados (Día 0), la actividad antioxidante fue de 36.12 % sin cambios de esta actividad cuando fueron almacenados por 12 días (7 días a 10°C y 5 días a 25°C), en los frutos sin recubrimientos (37.91 %) y en los recubiertos solo con el EATVs (44.53 %), así como con el EATVs 1 mg/mL (37.21 %), sin diferencias significativas entre estos tratamientos (Figura 25). Sin embargo, en los frutos recubiertos con quitosano solo 2.5 % solo y adicionado con el EATVs, almacenados por 12 días, la actividad antioxidante fue mayor con valores de 72.23 % y 61.94 %, respectivamente.

Respecto a la actividad antioxidante con los tratamientos control, con Trolox se obtuvo un 88.86 % y con ácido ascórbico un 89.92 %, valores sin diferencia significativa entre ellos y con diferencia con los demás tratamientos (Figura 25).

Estos resultados coinciden con los encontrados por Martínez-González *et al.* (2020), que reportaron una actividad antioxidante por DPPH mayor en fresas recubiertas con quitosano, en comparación con fresas sin recubrimiento, en condiciones de almacén de 4 °C por 8 días. Esto se debe a que los recubrimientos de quitosano atrapan radicales libres que evitan la degradación de antioxidantes (Wang y Gao, 2013).

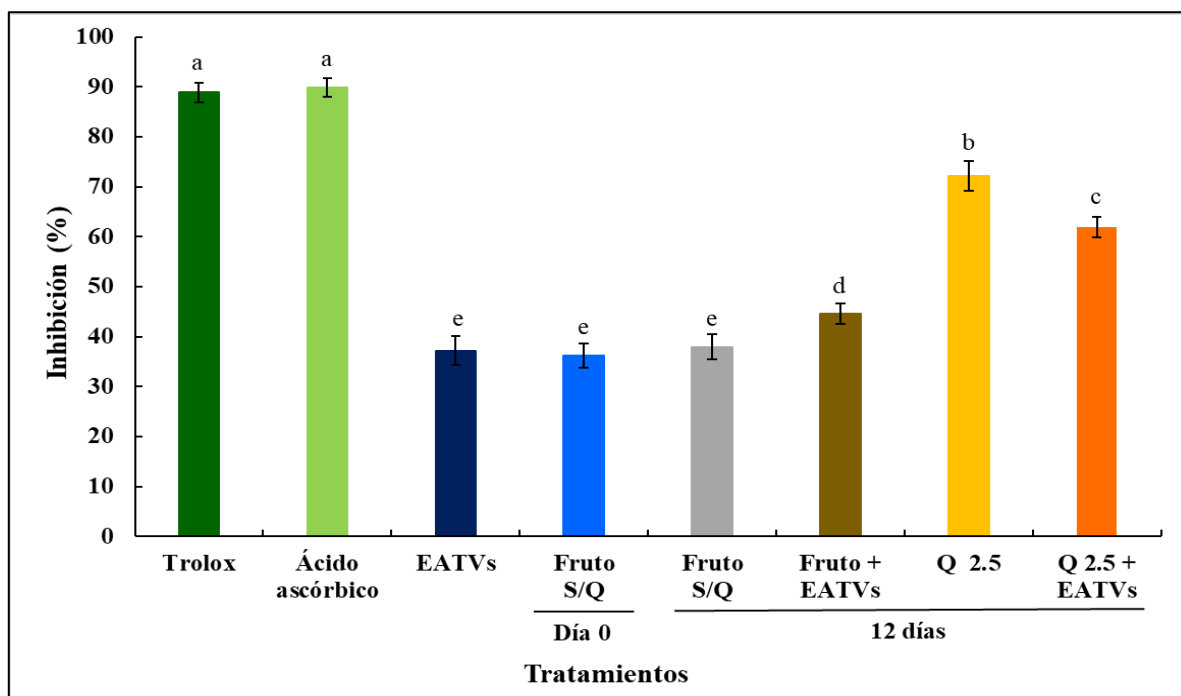


Figura 25. Determinación de actividad antioxidante mediante el método DPPH• en frutos de zarzamora cv. Tupy frescos (Día 0) y almacenados por 7 días a 10 °C y después por 5 días a 25 °C, EATVs, extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL); Fruto S/Q, frutos sin recubrimiento de quitosano; Fruto + EATVs, frutos recubiertos con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL); Q 2.5 frutos recubiertos con quitosano 2.5 %; Q 2.5 + EATVs, frutos recubiertos con quitosano 2.5 % adicionado con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL). Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos ($P < 0.05$, $n=5$, prueba de Tukey).

Determinación de la actividad antioxidante por ABTS•+. Los porcentajes de actividad antioxidante determinados por ABTS•+ en frutos de zarzamora, se expresan como porcentaje de inhibición y un 87 % fue presentado por los frutos recién cosechados (Día 0) sin recubrimiento, actividad que disminuyó bajo las condiciones de almacén (7 días a 10°C y 5 días a 25°C), obteniendo porcentajes de 74.36 % en el EATVs (1 mg/mL), 77.35 % en frutos recubiertos con el EATVs, 66.85 % en los frutos sin recubrimiento, 51.62 % en los frutos recubiertos solo con quitosano y 62.53 % en los frutos con recubrimiento de quitosano 2.5 % adicionado con EATVs. Valores de 79.98 % y 83.12 %, se obtuvieron con Trolox y ácido ascórbico, respectivamente (Figura 26).

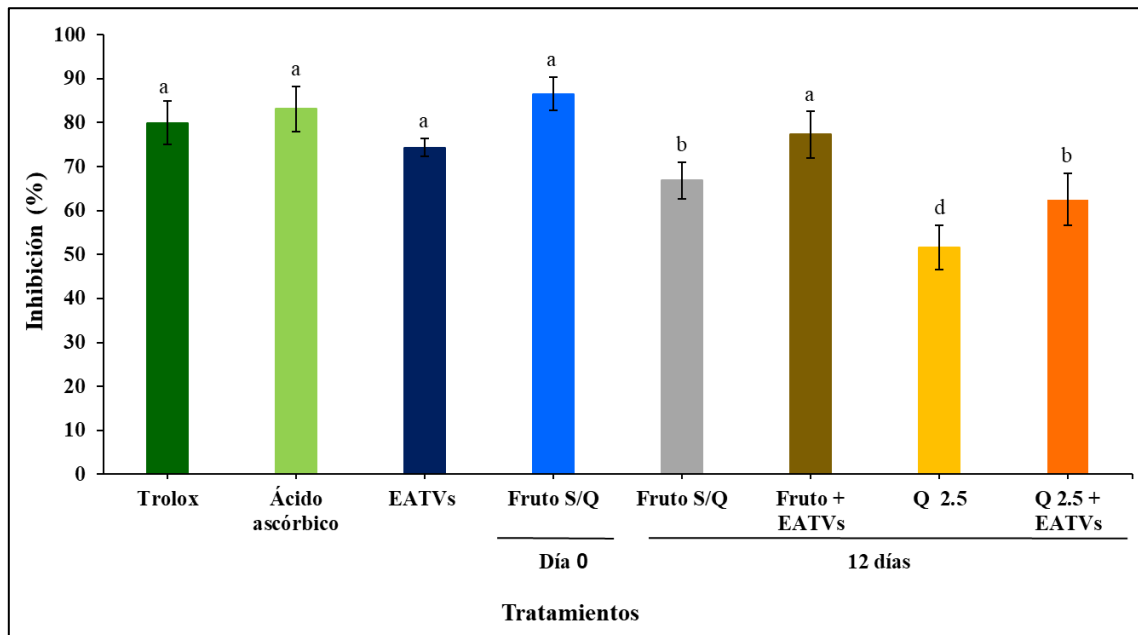


Figura 26. Determinación de actividad antioxidante mediante el método ABTS•+, en frutos de zarzamora cv. Tupy frescos (Día 0) y almacenados por 7 días a 10 °C y después por 5 días a 25 °C, con los siguientes tratamientos: EATVs, extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL); Fruto S/Q, frutos sin recubrimiento de quitosano; Fruto + EATVs, frutos recubiertos con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL); Q 2.5, frutos recubiertos con quitosano 2.5 %; Q 2.5 + EATVs, frutos recubiertos con quitosano 2.5 % adicionado con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL). Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos ($P < 0.05$, $n=5$, prueba de Tukey).

El quitosano es antioxidante por los grupos amino e hidroxilo que posee, ya que reducen el daño oxidativo y además retrasa el deterioro de los alimentos. La desacetilación y el peso molecular del quitosano influyen en la actividad antioxidante de los frutos, ya que menor peso molecular y más desacetilación favorece la actividad antioxidante (Wang *et al.*, 2024).

Conclusiones

El uso del recubrimiento de quitosano al 2.5% adicionado con el extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* (EATVs) constituye una alternativa que optimiza la vida de anaquel de frutos de zarzamora cv. Tupy, ya que reduce la pérdida de peso en un 67% y estabiliza el metabolismo respiratorio sin alterar los sólidos solubles totales. Esta formulación no solo actúa como una barrera física contra la transpiración y el daño oxidativo, duplicando la capacidad antioxidante (DPPH), sino que también ejerce un efecto elicitor que incrementa en un 55% el contenido de flavonoides y triplica la retención de antocianinas (52.98 mg/L).

Se concluye que, si bien el recubrimiento potencia la firmeza de forma óptima bajo refrigeración (10 °C), su verdadera eficacia radica en la sinergia química entre la matriz polimérica y los metabolitos del extracto, logrando preservar el valor nutricional, funcional y visual del fruto frente al estrés por almacenamiento prolongado.

9. DISCUSIÓN GENERAL

Actividad antifúngica *in vitro* del EATVs y quitosano

El principal hallazgo de esta etapa fue la determinación de la CI_{100} del extracto de *V. sphaerocephala* (EATVs) en 1.01 mg/mL y la eficacia total de la actividad antifúngica *in vitro* del quitosano al 2.5%, sobre el crecimiento micelial de *B. cinerea*. La variabilidad observada respecto a estudios previos en este extracto, para el que se reportó una CI_{100} de 0.25 mg/mL, confirma que factores abióticos y el sitio de recolecta modifican el perfil de metabolitos secundarios. La sinergia lograda al combinar ambos componentes al 100% de inhibición sugiere que los grupos amino del quitosano y los fenólicos del extracto muestran de forma simultánea la inhibición del crecimiento de *B. cinerea* (Lopez-Moya *et al.*, 2019).

Efecto antifúngico en frutos poscosecha de zarzamora cv. Tupy recubiertos

Aunque el extracto y el quitosano por separado inhibieron al patógeno, solo la mezcla de quitosano 2.5% + EATVs (CI_{100}) preservó la calidad de los frutos durante su vida de anaquel (IS 0). El extracto solo, sin quitosano, provocó el colapso de las drupeolas (*leakers*), mientras que la matriz polimérica del quitosano actuó como un soporte estructural. Esta sinergia es vital, ya que la zarzamora es un fruto altamente susceptible al daño mecánico y a la colonización necrotrófica de *B. cinerea*, con la ruptura de la cutícula (Popescu *et al.*, 2022).

Propiedades mecánicas y conservación de compuestos bioactivos

La reducción del 67% en la pérdida de peso y la estabilización de los sólidos solubles (10-12 °Bx) demuestran que el recubrimiento de quitosano con el EATVs, crea una atmósfera modificada. Un hallazgo relevante fue el incremento del 55% en flavonoides (4.30 mg EQ/g p.s.) y la alta retención de antocianinas (52.98 mg/L), lo que posiciona al quitosano como un elicitor biótico que activa el sistema de defensa del fruto. Sin embargo, la pérdida de firmeza a 25 °C resalta que el recubrimiento depende de la cadena de frío para mitigar la actividad de enzimas pectinolíticas como la poligalacturonasa (Petriccione *et al.*, 2015). La matriz de

quitosano actúa como una barrera semipermeable que reduce la presión parcial de oxígeno, limitando la degradación oxidativa mediada por enzimas como la polifenol oxidasa (Romanazzi *et al.*, 2018).

Capacidad antioxidante y sinergia entre el quitosano con EATVs

La actividad antioxidante evaluada por DPPH se duplicó en los frutos recubiertos (72.23%), lo que sugiere que el quitosano atrapa radicales libres y evita la degradación de los antioxidantes endógenos. Por el contrario, en el ensayo ABTS, se observó una disminución de la actividad inicial, lo que refleja el consumo de antioxidantes para neutralizar el estrés oxidativo generado por el cambio de temperatura (25 °C). La sinergia del quitosano (2.5%) con el EATVs en los frutos recubiertos de zarzamora cv. Tupy, resultó determinante ya que mientras que el extracto solo fue insuficiente para proteger los compuestos ante el almacén a 25°C, su integración en la matriz de quitosano estabilizó su potencial bioactivo (Wang *et al.*, 2024)

La actividad antifúngica y antioxidante ejercida por el EATVs parece estar intrínsecamente ligada a su perfil polifenólico, donde de acuerdo a lo reportado por Rodríguez-Valdovinos *et al.* (2021) y por Rodríguez-Valdovinos *et al.* (2024), la rutina destaca como el metabolito mayoritario según el análisis por HPTLC. La eficacia inhibitoria contra *B. cinerea* (CI₁₀₀=1.01 mg/mL), significativamente superior a la de los hidrolatos de *V. sphaerocephala* (Aguilar-Mejía, 2023), sugiere un efecto sinérgico entre la rutina y otros compuestos identificados como los ácidos protocatecuico, vainillínico y p-cumárico, junto con la vainillina.

Estos fenoles no solo actúan como antioxidantes al neutralizar radicales libres, sino que su estructura química les permite desestabilizar la membrana celular fúngica o inhibir enzimas críticas para el desarrollo de hifas. El conocimiento del contenido de estos compuestos ya reportado en nuestro grupo de investigación, valida su potencial como un biofungicida de alta precisión, cuya efectividad depende de la compleja interacción de estos metabolitos secundarios más que de un solo componente aislado.

Posibles mecanismos de acción antifúngica y antioxidante

La adición del EATVs al recubrimiento de quitosano, que permitió una alta actividad antifúngica con la inhibición total del crecimiento de *B. cinerea* se sugiere se deba a diferentes mecanismos que se han reportado de ciertos metabolitos secundarios de plantas como los fenoles como:

Alteración de la permeabilidad de la membrana. El quitosano, al ser un polímero catiónico, interactúa electrostáticamente con los grupos cargados negativamente (ácidos siálicos y fosfolípidos) de la membrana del hongo, lo que provoca la fuga de componentes intracelulares (Lopez-Moya *et al.*, 2019).

Interferencia con el ADN/ARN. Los componentes fenólicos del EATVs (posiblemente flavonoides y ácidos fenólicos) pueden atravesar la membrana ya debilitada por el quitosano, intercalándose en el ADN del patógeno e inhibiendo la síntesis de enzimas vitales para la colonización necrotrófica o simplemente la división celular e inhibición de la formación de la membrana celular o la pared fúngica (Lopez-Moya *et al.*, 2019).

Captura y estabilización de radicales libres. El incremento del 55% en flavonoides y la duplicación de la actividad DPPH sugieren dos vías de acción. 1) Efecto elicitor biótico, en el que el quitosano no solo cubre el fruto sino que las células vegetales lo reconocen como una señal de ataque por microorganismos (semejante a una pared celular fúngica), lo que activa la vía de los fenilpropanoides. Esto induce la síntesis *de novo* de antioxidantes endógenos en la zarzamora (Petriccione *et al.*, 2015).

Barrera de transferencia de electrones. El quitosano actúa como una "red" que estabiliza los compuestos del EATVs, evitando su auto-oxidación prematura. Al combinarse, se crea un sistema que puede donar átomos de hidrógeno a los radicales libres de manera más eficiente que los componentes por separado (Petriccione *et al.*, 2015; Popescu *et al.*, 2022).

Preservación estructural durante la vida de anaquel de los frutos recubrimientos

El colapso de las drupeolas con el extracto solo, comparado con el éxito de la adición del EATVs al recubrimiento del quitosano, indica que éste actúa como un andamio molecular. Mientras los fenólicos del EATVs inhiben a las enzimas pectinolíticas del hongo, la matriz de quitosano refuerza mecánicamente la cutícula de la zarzamora, compensando la pérdida de firmeza a 25 °C (Romanazzi *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2024).

10. CONCLUSIONES GENERALES

Se determinó una inhibición total (100%) de *B. cinerea* en cultivos *in vitro* con la combinación de quitosano al 2.5% y la CI₁₀₀ del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* (1.01 mg/mL).

El recubrimiento optimizado en frutos de zarzamora cv. Tupy inoculados con *B. cinerea* (Quitosano 2.5% +CI₁₀₀) actúa como una barrera biológica eficiente en poscosecha, eliminando por completo la incidencia de moho gris durante 12 días de almacenamiento (7 días en frío y 5 en anaquel). El protocolo de inmersión y secado aplicado garantiza una cobertura uniforme sin comprometer la integridad física del fruto.

El extracto acuoso de tallos de *V. sphaerocephala* presenta un alto valor bioactivo, con un rendimiento del 11.07%. Se sugiere que el contenido de fenoles y flavonoides le otorga tanto una alta actividad antifúngica como una capacidad antioxidante propia que se estabiliza al ser integrada en la matriz de quitosano.

La aplicación del recubrimiento compuesto mejora significativamente los parámetros de calidad comercial, ya que reduce la pérdida de peso en un 67% y mantiene una mayor firmeza frente a frutos sin tratar. Tiene la función de promover un incremento en un 55% los flavonoides y triplicando la retención de antocianinas, además de duplicar la capacidad antioxidante (72.23% por DPPH).

Finalmente, esta formulación de quitosano adicionada con el extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* no solo ofrece una protección fungicida comparable a alternativas de otros recubrimientos, sino que preserva el valor nutricional y extiende la vida de anaquel de la zarzamora cv. Tupy.

11. PERSPECTIVAS

Investigar los mecanismos de acción de la actividad antifúngica del extracto acuoso de tallo de *V. sphaerocephala* para determinar las dianas de la muerte de *B. cinerea*, principalmente el debilitamiento de la pared celular, la desestabilización de la membrana plasmática y su función en la inhibición de enzimas fúngicas.

Así mismo, realizar ensayos dirigidos a la mejora de la cualidad de los frutos, disminuyendo tanto las concentraciones de quitosano y del EATVs, evitando cambios en el brillo natural o el sabor de los frutos de zarzamora, manteniendo una eficacia del 100%.

12. LITERATURA GENERAL CITADA

Adama (2021). Ficha técnica Captan50®. Adama. <https://www.adama.com/mexico/es>

Adama (2021). Ficha técnica OXICOB85®. Adama. <https://www.adama.com/mexico/es>

Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA). (1999). *Reconocimiento y manejo de los envenenamientos por pesticidas* (5.^a ed.). https://espanol.epa.gov/sites/default/files/201807/documents/reconocimiento_y_manejo_de_los_envenenamientos_por_pesticidas-_quinta_edicion.pdf

Aguilar-Durán, JA, García León, I., y Quiroz Velásquez, JD (2020). Alargamiento de la vida de anaquel de las frutas por el uso de biopelículas. *Revista Boliviana de Química*, 37 (1), 40-45.

Aguilar-Mejía, Y. (2023) Efecto Antioxidante y Antifúngico de los Compuestos Volátiles del Hidrolato de Tallos y Hojas de *Verbesina sphaerocephala* (Asteraceae); Tesis de Maestría en Ciencias, PIMCB, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, México. 96 p.

Ahmed, S., Ahmed, N., y Rehman, H.-ur (2024). Phytochemical diversity, ethnomedicinal and therapeutic potential of the Genus *Verbesina*: A concise review: Genus *Verbesina*: A concise review. *PHYTONutrients*, 3, 104-119.

Ali, H.K., Jumaah, A.M., y Hassian, A.S. (2017). Studying efficiency inhibition of some medicinal plant extracts against some fungal. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6, 108-116.

Anaya-Esparza, L. M., Pérez-Larios, A., Ruvalcaba-Gómez, J. M., Sánchez-Burgos, J. A., Romero-Toledo, R., y Montalvo-González, E. (2020). Funcionalización de los recubrimientos a base de quitosano para la conservación postcosecha de frutas y hortalizas. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 23, e20200241.

Anda de la Rosa, N., Bravo-Loor, D., Cedeño-Narváez, A., Espinoza-Farías, J., y Pazmiño-Panta, N. (2024). Evaluación de rendimiento de extractos acuosos de albahaca (*Ocimum sanctum*) por tres métodos de extracción. *Revista de Investigación Talentos*, 11(1), 79-87.

Antunes, L. E. C. (2002). Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil. *Ciência Rural*, 32, 151-158.

Apolonio-Rodríguez, I., Franco-Mora, O., Salgado-Siclán, M. L., y Aquino-Martínez, J. G. (2017). Inhibición *in vitro* de *Botrytis cinerea* con extractos de hojas de vid silvestre (*Vitis* spp.). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(2), 170-185.

- Arabbi, P.R., Genovese, M.I., y Lajolo, F.M. (2004).** Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brasil and estimated ingestion by the Brazilian population. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(5), 1124-1131.
- Arceo-Martínez, M., Jiménez-Mejía, R., Salgado-Garciglia, R., Santoyo, G., López-Meza, J., y Loeza-Lara, P. (2019).** Efecto antifúngico *in vitro* e *in vivo* de quitosano sobre patógenos de fresa en postcosecha. *Agrociencia*, 53, 1297-1311.
- Arias, S. M., Álvarez, G. E. G., y Patiño, P. A. G. (2020).** Diagrammatic scale for measuring severity of gray mould in thornless Castilla blackberry (*Rubus glaucus* Benth). *Ciencia Rural*, 50(11), e20190859.
- Arnao, M.B., Cano, A., y Acosta, M. (2001).** The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*, 73(2):239-244.
- Ascencio-Arteaga, A., Luna-Suárez, S., Cárdenas-Valdovinos, J. G., Oregel-Zamudio, E., Oyoque-Salcedo, G., Ceja-Díaz, J. A. y Mena-Violante, H. G. (2022).** Shelf life of blackberry fruits (*Rubus fruticosus*) with edible coatings based on candelilla wax and guar gum. *Horticulturae*, 8(7), 57.
- Avalos, A., y Pérez, E. (2009).** Metabolismo secundario de plantas. REDUCA (Biología), 2(3).
- Avelino, M., Bibbins, M., Vallejo, V., y Reyes., J. (2019).** Evaluación *in vitro* de la actividad citotóxica y antitumoral de plantas medicinales recomendadas en Cuetzalan del Progreso, Puebla, México. *Polibotánica*, 46, 113-135.
- Awad, H. M. (2017).** Antifungal potentialities of chitosan and Trichoderma in controlling Botrytis cinerea, causing strawberry gray mold disease. *Journal of Plant Protection and Pathology*, 8(8), 371-378.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... y Omar, A. K. (2013).** Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.
- Azofeifa, G., Quesada, S., Boudard, F., Morena, M., Cristol, J. P., Péérez, A. M., y Michel, A. (2013).** Antioxidant and anti-inflammatory in vitro activities of phenolic compounds from tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichos*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(24), 5798-5804.
- Badui-Dergal, S. (2012).** *La ciencia de los alimentos en la práctica*. Primera Edición, Pearson Educación, México, pp. 47-48.
- Bajaj, K., Adhikary, T., Gill, P.P.S., y Kumar, A. (2023).** Edible coatings enriched with plant-based extracts preserve postharvest quality of fruits: A review. *Progress in Organic Coatings*, 182, 107669.

- Barres, B., Corio-Costet, M. F., Debieu, D. D., Délye, C., Fillinger-David, S., Grosman, J., ... y Walker, A. S. (2016).** Trends and challenges in pesticide resistance detection. *Trends in Plant Science*, 21(10), 834-853.
- Barriada-Bernal, L. G., Almaraz-Abarca, N., Delgado-Alvarado, E. A., Gallardo-Velázquez, T., Ávila-Reyes, J. A., Torres-Morán, M. I., ... y Herrera-Arrieta, Y. (2014).** Flavonoid composition and antioxidant capacity of the edible flowers of *Agave durangensis* (Agavaceae). *CyTA-Journal of Food*, 12(2), 105-114.
- Bautista-Baños, S., y Bravo-Luna, L. (2004).** Evaluación del quitosano en el desarrollo de la pudrición blanda del tomate durante el almacenamiento. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 6(1), 63-67.
- Bautista-Baños, S., Romanazzi, G., y Jiménez-Aparicio, A. (2016).** Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities. England: Academic Press. 352 p.
- Bautista-Baños, S., Ventura-Aguilar, R.I., Correa-Pacheco, Z. y Corona-Rangel, M. L. (2017).** Chitosan: a versatile antimicrobial polysaccharide for fruit and vegetables in postharvest - a review. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 23(2), 103-122.
- Bayer (2024).** Ficha técnica SCALA®. <https://agrisolver.s3.amazonaws.com/2301/Ficha-T%C3%A9cnica-Scala-60-SC-Bayer-%28M%C3%A9xico%29.pdf>
- Bello-González, M.A., Hernández-Muñoz, S., Lara-Chávez, M.B. y Salgado-Garciglia, R. (2015).** Plantas útiles de la comunidad indígena Nuevo San Juan Parangaricutiro, Michoacán, México. *Polibotánica*, 39, 175-215.
- Benítez-Benítez, R., Sarria-Villa, R. A., Gallo-Corredor, J. A., Pérez Pacheco, N. O., Álvarez Sandoval, J. H., y Giraldo Aristizabal, C. I. (2020).** Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. *Revista Facultad De Ciencias Básicas*, 15(1), 31–40.
- Brown, D. E. y Proctor, R.H. (2013).** *Fusarium*. Caister Academic Press. 182 p.
- Cáceres-Rueda de León, I., Colorado-Vargas, R., Salas-Muñoz, E., Muñoz-Castellanos, L. N., y Hernández-Ochoa, L. (2013).** Actividad antifúngica *in vitro* de extractos acuosos de especias contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 31(2), 105-112.
- Caicedo-Perea, C., Solís-Molina, M., y Jiménez-Rosero, H. (2022).** Empaques inteligentes: definiciones, tipologías y aplicaciones. *Informador Técnico*, 86(2), 220–253.
- Calero, K. A. V., Pacco, G. A. R., y Ruitón, C. M. F. (2021).** Biopelículas a base de quitosano y aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) con propiedades antioxidante y antimicrobiana. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 87(4).

- Calvo-Garrido, C., Viñas, I., Elmer, P. A. G., Usall, J. y Teixidó, N. (2014).** Suppression of *Botrytis cinerea* on necrotic grapevine tissues by early season applications of natural products and biocontrol agents. *Pest Management Science*, 70(4): 595-602.
- Castañeda-Ramírez, J., Salcedo-Hernández, R., y Fuente-Salcido, N. (2016).** Efecto del quitosano para el biocontrol de hongos fitopatógenos identificados molecularmente de frutas y hortalizas en Guanajuato. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(2), 207–213.
- Castro, J. B., Ramanathan, A., y Chennubhotla, C. S. (2013).** Categorical dimensions of human odor descriptor space revealed by non-negative matrix factorization. *PloS one*, 8(9), e73289.
- CESAPEG (Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato). (2024).** *Manual de plagas y enfermedades en zarzamora*
<http://cesaveg.org.mx/boletines/Frutillas/Manual%20zarzamora.pdf>
- Chaiwong, N., Phimolsiripol, Y., Leelapornpisid, P., Ruksiriwanich, W., Jantanasakulwong, K., Rachtanapun, P., ... y Punyodom, W. (2022).** Synergistics of carboxymethyl chitosan and mangosteen extract as enhancing moisturizing, antioxidant, antibacterial, and deodorizing properties in emulsion cream. *Polymers*, 14(1), 178.
- Chien, P. J., y Chou, C. C. (2006).** Antifungal activity of chitosan and its application to control post-harvest quality and fungal rotting of Tankan citrus fruit (*Citrus tankan* Hayata). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(12), 1964-1969.
- Christensen, L.P., Edelenbos, M., y Kreutzmann, S. (2007).** Fruits and vegetables of moderate climate. Flavours and Fragrances. Chemistry, Bioprocessing and Sustainability. Berger, R.G. (ed.). Springer. Germany. pp. 135-181.
- CIE (2024).** International Commission On Illumination. URL: <https://cie.co.at/>
- Clark, J., y Finn, C. (2008).** NEW TRENDS IN BLACKBERRY BREEDING. *Acta Horticulturae*, 777, 41-48. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2008.777.2>
- Cuevas-Rodríguez, E. O., Dia, V. P., Yousef, G. G., García-Saucedo, P. A., López-Medina, J., Paredes-López, O., y Lila, M. A. (2010).** Inhibition of pro-inflammatory responses and antioxidant capacity of Mexican blackberry (*Rubus* spp.) extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(17), 9542-9548.
- Dai, L., Wang, X., Zhang, J., y Li, C. (2025).** Application of Chitosan and Its Derivatives in Postharvest Coating Preservation of Fruits. *Foods*, 14(8), 1318.
- de Almeida Bezerra, L., Pessanha Carvalho, L., de Oliveira Mello, É., Bonan Taveira, G., Tenório de Melo, EJ, Moreira Gomes, V., y da Cunha, M. (2024).** Actividad

fungicida y tripanocida de extractos acuosos de hojas e inflorescencias de *Verbesina macrophylla* (Asteraceae). *Acta Scientiarum: Ciencias Biológicas*, 46.

- Darol, J., Rocha Neto, A., y Di Piero, R. (2016).** Effects of the protective, curative, and eradivative applications of chitosan against *Penicillium expansum* in apples. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47, 1014-1019.
- Davicino, R., Mattar, M.A., Casali, Y.A., Correa, S.G., Pettenati, E.M., y Micalizzi, B. (2007).** Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina. *Revista Peruana de Biología*, 14(2), 247-252.
- Dean, R., Kan, J.A.L.V., Pretorius, Z.A., Hammond-Kosack, K.E., Pietro, A.D., Spanu, P.D., Rudd, J.J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J. y Foster, G. (2012)** The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13, 414–430.
- Droby, S., Wisniewski, M., Macarisin, D. y Wilson, C. (2009).** Twenty years of postharvest biocontrol research: is it time for a new paradigm? *Postharvest Biology and Technology*, 52: 137–145.
- Domínguez, E. R. (2021).** *Botrytis cinerea* Pers. Centro de Estudios Micológicos Asturianos. <https://www.centrodeestudiosmicologicosasturianos.org/?p=40528>
- DVA (2023).** Ficha técnica BOSCALID50® <https://dva.com/co/productos/fungicidas/boscalid-50-wg-dva>
- FAOSTAT (2020)** FAOSTAT Database. Food and Agriculture Organization of the United Nations. URL: <http://www.fao.org/faostat/es/#data> (Accessed Dec 20, 2024)
- FMC (2019).** Ficha técnica ROVRAL 50 ®. <https://www.fmcagroquimica.com.mx/wp-content/uploads/2018/06/Rovral-50-PH-Ficha-T%C3%A9cnica.pdf>
- Friedman, M. (2007).** Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Molecular nutrition & food research*, 51(1), 116-134
- Fungicide Resistance Action Committee. (2019).** Clasificación de fungicidas y bactericidas según el modo de acción. *Basilea, Suiza: FRAC*.
- García-Mateos, M. del R., Corrales-García, J., Cornejo-Vivar, T., y Hernández-Ramos, L. (2022).** Recubrimiento biodegradable antifúngico a base de quitosano y aceite esencial de cítricos para la conservación de papaya (*Carica papaya* L.) en poscosecha. *CienciaUAT*, 17(2), 165–180. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v17i2.1703>
- Gatto, M., Ippolito, A., Linsalata, V., Cascarano, N., Nigro, F., Vanadia, S., y Di Venere, D. (2011).** Activity of extracts from wild edible herbs against postharvest fungal diseases of fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 61:72-82.

- Giusti, M. M., y Wrolstad, R. E. (2001).** Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1, 1-13.
- Gol, N. B., Patel, P. R., y Rao, T. R. (2013).** Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. *Postharvest Biology and Technology*, 85, 185-195.
- González-Jiménez, S. L., Castillo-González, A. M., García-Mateos, M., Valdez-Aguilar, L. A., Ybarra-Moncada, C., y Avitia-García, E. (2020).** Response of blackberry (*Rubus* spp.) Cv. tupy to salinity. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 43(3), 299-306.
- Gyawali, R., y Ibrahim, S. A. (2014).** Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, 46, 412–429. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.047>
- Hesami, G., Darvishi, S., Zarei, M. y Hadidi M. (2021).** Fabrication of chitosan nanoparticles incorporated with *Pistacia atlantica* subsp. *kurdica* hulls' essential oil as a potential antifungal preservative against strawberry grey mould. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 56, 4215-4223.
- Hosseini, S. F., Amraie, M., Salehi, M., Mohseni, M., y Aloji, H. (2018).** Effect of chitosan-based coatings enriched with savory and/or tarragon essential oils on postharvest maintenance of kumquat (*Fortunella* sp.) fruit. *Food Science & Nutrition*, 7(1):155-162.
- Huang, T.-R., Chen, J.-H., Hummer, K.E., Alice, L.A., Wang, W.-H., He, Y., Yu, S.-X., Yang, M.-F., Chai, T.-Y., Zhu, X.-Y., Ma, L.-Q. y Wang, H. (2023).** Phylogeny of *Rubus* (Rosaceae): Integrating molecular and morphological evidence into an infrageneric revision. *TAXON*, 72, 278-306.
- Huerta-Olalde, A. M., Hernández-García, A., López-Gómez, R., Fernández-Pavía, S. P., Zavala-Páramo, M. G., y Salgado-Garciglia, R. (2022).** *In vitro* selection of blackberry (*Rubus fruticosus* 'Tupy') plants resistant to *Botrytis cinerea* using gamma ray-irradiated shoot tips. *Plant Biotechnology*, 39(2), 165-171.
- Hummer, K. E. y Janick, J. (2007).** Iconografía de *Rubus* : De la Antigüedad al Renacimiento. *Acta Hortic.*, 759, 89–105.
- Jacques, A., Chaves, F., Zambiasi, R., Brasil, M. y Caramão, E. (2014).** Bioactive and volatile organic compounds in Southern Brazilian blackberry (*Rubus fruticosus*) fruit cv. Tupy. *Food Science and Technology (Campinas)*, 34, 636-643.
- Jeschke, P. (2016).** Propesticides and their use as agrochemicals. *Pest Management Science*, 72(2), 210-225.

- Jiménez P, E. V., y Mosquera M., O. M. (2015).** Actividad antifúngica *in vitro* de tres extractos de plantas frente a *Botrytis cinerea* (Moho gris). *Salud & Sociedad Uptc*, 1(2).
- Juárez-Becerra, G. P., Sosa-Morales, M. E. y López-Malo, A. (2010).** Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 4(2), 14-23.
- Kahramanoglu, I., Panfilova, O., Kesimci, T. G., Bozhüyük, A. U., Gürbüz, R. y Alptekin, H. (2022).** Control of Postharvest Gray Mold at Strawberry Fruits Caused by *Botrytis cinerea* and Improving Fruit Storability through *Origanum onites* L. and *Ziziphora clinopodioides* L. Volatile Essential Oils. *Agronomy*, 12(2): 389.
- Kanetis, L., Exarchou, V., Charalambous, Z., y Goulas, V. (2017).** Edible coating composed of chitosan and *Salvia fruticosa* Mill. extract for the control of grey mould of table grapes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(2), 452-460.
- Karamać M., Kosińska A. y Pegg B.R. (2005).** Comparison of radical-scavenging activities for selected phenolic acids. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 14(2):165-170.
- Kasmi M., Aourach M., El Boukari M., Barrijal S. y Essalmani H. (2017).** Eficacia de extractos acuosos de plantas aromáticas y medicinales contra el moho gris del tomate en Marruecos. *Comptes Rendus Biologies*, 340(8), 386-393.
- Kendrick, B. (2000).** *The Fifth Kingdom*, CD-ROM. Sidney-by-the-Sea British Columbia, Canada, V8L 1M8.
- Koch, S., Epp, A., Lohmann, M. y Böhl, G. F. (2017).** Pesticide residues in food: Attitudes, beliefs, and misconceptions among conventional and organic consumers. *Journal of Food Protection*, 80, 2083–2089.
- Kozikowski, A. P., Tückmantel, W., Böttcher, G., y Romanczyk, L. J. (2003).** Studies in Polyphenol Chemistry and Bioactivity. 4.1 Synthesis of Trimeric, Tetrameric, Pentameric, and Higher Oligomeric Epicatechin-Derived Procyanidins Having All-4β, 8-Interflavan Connectivity and Their Inhibition of Cancer Cell Growth through Cell Cycle Arrest1. *The Journal of Organic Chemistry*, 68(5), 1641-1658.
- KUMARI, S., y MEENA, R. (2025).** ANTIMICROBIAL, ANTIOXIDANT AND ANTIDIABETIC ACTIVITY OF DIFFERENT EXTRACTS OF VARIOUS PARTS OF VERBESINA ENCELIOIDES. *Journal of Phytological Research*, 38(1).
- Leceta, I., Peñalba, M., Arana, P., Guerrero, P., y de la Caba, K. (2015).** Ageing of chitosan films: Effect of storage time on structure and optical, barrier and mechanical properties. *European Polymer Journal*, 66: 170-179.

- Lee, C. G, Koo, J. C. y Park, J. K. (2017).** Efecto antifúngico del quitosano como bloqueador de los canales de Ca^{2+} . *The Plant Pathology Journal*, 32 (3), 242.
- Lee, K. J., Oh, Y. C., Cho, W. K., y Ma, J. Y. (2015).** Antioxidant and anti-inflammatory activity determination of one hundred kinds of pure chemical compounds using offline and online screening HPLC assay. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 1, 1–13.
- López-Mata, M., Ruiz-Cruz, S., Silva-Beltrán, N., Ornelas-Paz, J., Zamudio-Flores, P., y Burruel-Ibarra, S. (2013).** Physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with carvacrol. *Molecules*, 18, 13735-13753.
- Lopez-Moya, F., Suarez-Fernandez, M., Lopez-Llorca, L.V. (2019).** Molecular Mechanisms of Chitosan Interactions with Fungi and Plants. *Int. J. Mol. Sci.*, 20(2), 332.
- Madera-Santana, J. T., De Dios-Aguilar, M. A., Colín-Chávez, C., Mariscal-Amaro, L. A., Núñez-Colín, C. A., Veloz-García, R., Guzmán-Maldonado, S. H., Peña-Caballero, V., Grijalva-Verdugo, C. P. y Rodríguez-Núñez, J. R. (2019).** Recubrimiento a base de quitosano y extracto acuoso de hoja de *Moringa oleifera* obtenido por UMAE y su efecto en las propiedades fisicoquímicas de fresa (*Fragaria x ananassa*). *Biotecnia*, 21(2): 155-163.
- Magaldi, S., Mata-Essayag, S., Hartung de Capriles, C., Perez, C., Colella, M., Olaizola, C., y Ontiveros, Y. (2004).** Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *International Journal of Infectious Diseases*, 8(1), 39-45.
- Mahboubi, M., Kazempour, N., y Boland Nazar, A. (2013).** Total phenolic, total flavonoids, antioxidant and antimicrobial activities of *Scrophularia striata* Boiss extracts. *Jundishapur Journal Of Natural Pharmaceutical Products*, 8(1), 15-19.
- Malpica-Acosta, S. B., Acosta-Osorio, A. A., Benedito-Fort, J. J., y Castillo-Zamudio, R. I. (2024).** Effect of three extraction methods on yield, antioxidant activity, total phenols, and stability of extracts from *Plectranthus amboinicus* leaves. *CienciaUAT*, 18(2), 91-106.
- Maqbool, M., Ramachandran, S., y Alderson, P. (2010).** Gum arabic as a novel edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 58, 42-47.
- Maringgal, B., Hashim, N., Tawakkal, I. S. M. A. y Mohamed, M. T. M. (2020).** Recent advance in edible coating and its effect on fresh/fresh-cut fruits quality. *Trends in Food Science & Technology*, 96, 253–267.
- Martin G, D. A. (2018).** The phenolic compounds: an approach to their biosynthesis, synthesis and biological activity.

- Martínez-Camacho, J. E., Guevara-González, R. G., Rico-García, E., Tovar-Pérez, E. G., y Torres-Pacheco, I. (2022).** Delayed senescence and marketability index preservation of blackberry fruit by preharvest application of chitosan and salicylic acid. *Frontiers in Plant Science*, 13, 796393.
- Martínez-González, M. D. C., Bautista-Baños, S., Correa-Pacheco, Z. N., Corona-Rangel, M. L., Ventura-Aguilar, R. I., Del Río-García, J. C., y Ramos-García, M. D. L. (2020).** Effect of nanostructured chitosan/propolis coatings on the quality and antioxidant capacity of strawberries during storage. *Coatings*, 10(2), 90.
- Matos-González, C. A. (2020).** Revisión de literatura: Biopelículas a base de quitosano como potencial aplicación en empaque de alimentos. Proyecto especial de graduación, Lic. en Ingeniería en Agroindustria Alimentaria. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. 28 p.
- Melgarejo García, J. (2011).** Fungicidas: mecanismos de acción de los fungicidas
- Mesa, V. A. M., Marín, P., Ocampo, O., Calle, J., y Monsalve, Z. (2019).** Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. RIA. Revista de investigaciones agropecuarias, 45(1), 23-30.
- Mitra, B., Chowdhury, A. R., Dey, P., Hazra, K. K., Sinha, A. K., Hossain, A., y Meena, R. S. (2021).** Use of Agrochemicals in Agriculture: Alarming Issues and Solutions (Chapter, 85-122 p). In: Bhatt, R., Meena, R.S., Hossain, A. (eds). *Input Use Efficiency for Food and Environmental Security*. Springer, Singapore.
- Miranda, P., Garnica, S., Lara-Sagahon, O., y Cárdenas, G. (2004).** Water vapor permeability and mechanical properties of chitosan composite films. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 49(2), 173-178.
- Morales, J., Mendoza, L., y Cotoras, M. (2017).** Alteration of oxidative phosphorylation as a possible mechanism of the antifungal action of p-coumaric acid against *Botrytis cinerea*. *Journal of applied microbiology*, 123(4), 969-976.
- Mulham Alfatama, Lee Yong Lim, Tin Wui Wong. (2021).** Chitosan oleate-tripolyphosphate complex-coated calcium alginate bead: Physicochemical aspects of concurrent core-coat formation. *Carbohydrate Polymers*, 273, 118487.
- Muñoz, Z., Garcés-Pastor, S. y Moret, A. (2007).** Antifungal activity of chitosan on *Botrytis cinerea* and *Colletotrichum* spp. *Phytoma España*, 192.
- Navarro, D., Díaz-Mula, H. M., Guillén, F., Zapata, P. J., Castillo, S., Serrano, M., y Martínez-Romero, D. (2011).** Reduction of nectarine decay caused by *Rhizopus stolonifer*, *Botrytis cinerea* and *Penicillium digitatum* with *Aloe vera* gel alone or with the addition of thymol. *International Journal of Food Microbiology*, 151(2), 241-246.

- Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P., y Hens, L. (2016).** Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture. *Frontiers in Public Health*, 4, 148.
- Nor, S.M. y Ding, P. (2020).** Trends and Advances in Edible Biopolymer Coating for Tropical Fruit: A Review. *Food Research International*, 134, 109208.
- Ochoa Pacheco, A., Marin Moran, J., Rivero Breff, D., y Aguilera Saborit, E. M. (2013).** Caracterización física, físico-química y química de extractos totales de hojas frescas de *Petiveria alliacea* L. con acción antimicrobiana. *Revista mexicana De Ciencias Farmacéuticas*, 44(1), 52-59.
- Oliveira, D. M., Kwiatkowski, A., Rosa, C. I. L. F., y Clemente, E. (2014).** Refrigeration and edible coatings in blackberry (*Rubus* spp.) conservation. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 2120-2126.
- Palou, L., Smilanick, J. L. y Droby, S. (2008).** Alternatives to conventional fungicides for the control of citrus postharvest green and blue molds. *Stewart Postharvest Review*, 4(2), 1–16.
- Palumbo, M., Attolico, G., Capozzi, V., Cozzolino, R., Corvino, A., de Chiara, M. L. V., Pace, B., Pelosi, S., Ricci, I., Romaniello, R., y Cefola, M. (2022).** Emerging Postharvest Technologies to Enhance the Shelf-Life of Fruit and Vegetables: An Overview. *Foods*, 11(23), 3925.
- Pan, J., Li, C., Liu, J., Jiao, Z., Zhang, Q., Lv, Z., Yang, W., Chen, D., y Liu, H. (2024).** Polysaccharide-Based Packaging Coatings and Films with Phenolic Compounds in Preservation of Fruits and Vegetables—A Review. *Foods*, 13(23), 3896. <https://doi.org/10.3390/foods13233896>
- Paniagua, C. F. O., Valencia, J. B., y González, C. T. C. (2022).** Externalidades y competitividad de la zarzamora michoacana. *Repositorio de la Red Internacional de Investigadores en Competitividad*, 16(16), 1180-1197.
- Perdones, A., Sánchez-González, L., Chiralt, A., y Vargas, M. (2012).** Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 70, 32-41.
- Pérez-Gallardo, A., García-Almendárez, B., Barbosa-Cánovas, G., Pimentel-González, D., Reyes-González, L. R., y Regalado, C. (2015).** Effect of starch-beeswax coatings on quality parameters of blackberries (*Rubus* spp.). *Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 5601-5610.
- Perkins-Veazie, P. (2017).** Postharvest storage and transport of blackberries (266-282 p.). In: *Blackberries and their hybrids*. Wallingford UK: CABI.

- Petriccione, M., Mastrobuoni, F., Pasquariello, M. S., Zampella, L., Nobis, E., Capriolo, G., y Scortichini, M. (2015).** Effect of Chitosan Coating on the Postharvest Quality and Antioxidant Enzyme System Response of Strawberry Fruit during Cold Storage. *Foods*, 4(4), 501-523.
- Ponder, A., Hallmann, E., Kwolek, M., Średnicka-Tober, D., y Kazimierczak, R. (2021).** Genetic differentiation in anthocyanin content among berry fruits. *Current Issues in Molecular Biology*, 43(1), 36-51.
- Popescu, P., Palade, M., Nicolae, I.-C., Popa, E., Mitelut, A., Drăghici, M., Matei, F. y Popa, M. (2022).** Chitosan-Based Edible Coatings Containing Essential Oils to Preserve the Shelf Life and Postharvest Quality Parameters of Organic Strawberries and Apples during Cold Storage. *Foods*, 11, 3317.
- Priyadarshi, R., Bijender-Kumar, S., Deebe, F., Kulshreshtha, A., y Singh-Negi, Y. (2018).** Chitosan films incorporated with Apricot (*Prunus armeniaca*) kernel essential oil as active food packaging material. *Food Hydrocolloids*, 85: 158-166.
- Quintero-Echeverría, I., SolanoVidal, R., Becerril-Román, A. E., VelascoCruz, C., y Jaén-Contreras, D. (2023).** Alternativa de control biológico del moho gris (*Botrytis cinerea*) en el cultivo de fresa. *Agro-Divulgación*, 3(4).
- Randazzo, W., Jiménez-Belenguer, A., Settanni, L., Perdones, A., Moschetti, M., Palazzolo, E., y Moschetti, G. (2016).** Antilisterial effect of citrus essential oils and their performance in edible film formulations. *Food Control*, 59, 750-758.
- Ramírez, A. V., Ramírez, A. V., Herrera, R. H., Lizalde, D. M., y Ramírez, S. V. (2022).** Extractos de *Verbesina sphaerocephala* y *Verbesina fastigiata* promueven el desarrollo en maceta de *Fragaria x ananassa*. *Agroindustrial Science*, 12(1), 29-37.
- Ramos-Bell, S., Diaz-Cayetano, G., Hernández-Montiel, L. G., Velázquez-Estrada, R. M., Montalvo-González, E., y Gutiérrez-Martínez, P. (2024).** Physicochemical preservation of blueberries treated with chitosan and salicylic acid in postharvest. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 15(5).
- Ramseyer, J., Thuerig, B., De Mieri, M., Scharer, H.J., Oberhansli, T., Gupta, MP, ... y Potterat, O. (2017).** Sesquiterpenos de Eudesmane de *Verbesina lanata* con actividad inhibidora contra el mildiú veloso de la vid. *Journal of Natural Products*, 80 (12), 3296-3304.
- Rebollar-Alviter, A. (2011).** *Manejo del Mildiu y el Moho gris de la Zarzamora*. 1ª. Ed., DR © Universidad Autónoma Chapingo, 35 p.
- Rivadeneira, M. F. (2022).** Características botánicas, variedades y manejo del cultivo en mora. INTA.gob. <http://hdl.handle.net/20.500.12123/12071>

- Riu-Aumatell, M., Castellari, M., López-Tamames, E., Galassi, S., y Buxaderas, S. (2004).** Characterisation of volatile compounds of fruit juices and nectars by HS/SPME and GC/MS. *Food Chemistry*, 87(4), 627-637.
- Rodríguez-Valdovinos, K.Y. (2019).** Determinación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana de extractos de *Verbesina sphaerocephala* A. Gray (Asteraceae). Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional, Jiquilpan, México. 75 p.
- Rodríguez-Valdovinos, K.Y., Salgado-Garciglia, R., Vázquez-Sánchez, M., Álvarez-Bernal, D., Oregel-Zamudio, E., Ceja-Torres, L.F., y Medina-Medrano, J. R. (2021).** Quantitative analysis of rutin by HPTLC and in vitro antioxidant and antibacterial activities of phenolic-rich extracts from *Verbesina sphaerocephala*. *Plants*, 10(3), 475.
- Rodríguez-Valdovinos, K.Y., Medina-Medrano, J. R., Hernández-García, A., Saavedra-Molina, F.A., Del Río-Torres, R.E.N., López-Meza, J.E., García-Rodríguez, Y.M., Espinosa-García, F.J., y Salgado-Garciglia, R. (2022).** Actividad antifúngica sobre *Botrytis cinerea* y perfil de compuestos volátiles del extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala*. REDBIO, Mérida, Yucatán, México.
- Rodríguez-Valdovinos, K. Y., Salgado-Garciglia, R., Hernández-García, A., Saavedra-Molina, A., del Río-Torres, R. E. N., López-Meza, J. E. y Medina-Medrano, J. R. (2024).** Antioxidant and Antifungal Activities and Characterization of Phenolic Compounds Using Ultra-High Performance Liquid Chromatography and Mass Spectrometry (UPLC-MS) of Aqueous Extracts and Fractions from *Verbesina sphaerocephala* Stems. *Plants*, 13(19), 2791.
- Rodríguez-Valdovinos, K. Y. (2024).** Manual de técnicas de contenido de metabolitos secundarios y actividad antioxidante.
- Romanazzi, G. (2010).** Chitosan treatment for the control of postharvest decay of table grapes, strawberries and sweet cherries. *Fresh Produce*, 4, 111-115.
- Romanazzi, G, Feliziani, E, Baños, S.B., y Sivakumar D. (2017).** Shelf-life extension of fresh fruit and vegetables by chitosan treatment. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 57(3), 579-601.
- Romanazzi, G., Feliziani, E., y Sivakumar, D. (2018).** Chitosan, a biopolymer with triple action on postharvest decay of fruit and vegetables: Elicitor, therapeutic, and barrier properties. *Front. Microbiol.*, 9, 2745.
- Romero-Serrano, A., y Pereira, J. (2020).** Estado del arte: Quitosano, un biomaterial versátil. Estado del Arte desde su obtención a sus múltiples aplicaciones. *Revista Ingeniería UC*, 27(2), 118-135.

- Rubio-Ochoa, E., Pérez-Sánchez, R. E., Ávila-Val, T. C., Gómez-Leyva, J. F. y García-Saucedo, P. A. (2019).** Propiedades fisicoquímicas de frutos silvestres de *Rubus* con potencial nutracéutico y alimenticio. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 23, 291-301.
- Ruiz-Jiménez, J. G. (2015).** Estudio químico y actividad antioxidante de *Verbesina parviflora*. Tesis de Maestría en Ciencias Químicas, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 100 p.
- Rutiaga-Quiñones, J. (2001).** Chemische und biologische Untersuchungen zum Verhalten dauerhafter Holzarten und ihrer Extrakte gegenüber holzabbauenden Pilzen. Buchverlag Gräbelfing, 49.
- Rzedowski, J., Calderón de Rzedowski, G., y Carrillo-Reyes, P. (2011).** *Flora del Bajío y de regiones adyacentes*. Fascículo 172, Familia Compositae, Tribu Heliantheae II (Géneros Lagascea - Zinnia). Instituto de Ecología A.C., Centro Regional del Bajío, Pátzcuaro, Michoacán, México. 245 p.
- SADER (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural). (2020).** Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Noviembre 2020, de Servicios de Información, Agroalimentación y Pesquera (SIAP) Sitio web: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/SIAP> (2020) Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Panorama Agroalimentario 2020 (p.142).
- SADER (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Social). (2024).** *Nuestra riqueza: la zarzamora*. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/nuestra-riqueza-la-zarzamora>
- Salari, S., Amine, G., Shirazi, M. H., Hafezi, R., y Mohammadypour, M. (2016).** Antifungal effects of flavonoids: A review. *Natural Product Communications*, 11(12), 1934578X1601101206
- Sandoval-Flores, Ma. G., Jiménez-Mejía, R., Santoyo G. Alva-Murillo, P. N., López- Meza, J. E., y Loeza-Lara, P. D. (2018).** Compósitos de quitosano-ácidos grasos reducen la infección de *Botrytis cinerea* en fresa en poscosecha. *Nova scientia*, 10(21), 207-227.
- Schwarz, K., Bertelsen, G., Nissen, L., Gardner, P., Heinonen, M., Hopia, A., ...Tijburg, L. (2001).** Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. *European Food Research and Technology*, 212(3), 319-328
- Shahidi, F., y Ambigaipalan, P. (2015).** Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820-897.

- Shamkhi, B. M. (2025).** Plant-Derived Antifungal Agents and Fungal Pathogens Mechanism of Action, Therapeutic Applications, and Challenges. *Journal of College of Education for Pure Science*, 15(3).
- Sharma, S., y Rao, T. R. (2015).** Xanthan gum based edible coating enriched with cinnamic acid prevents browning and extends the shelf-life of fresh-cut pears. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 791-800.
- SIAP, (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). (2021).** Cierre de la producción agrícola. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. En línea. Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>. Acceso: 01 de marzo de 2024.
- Singh, S. P., Terán, H., Lema, M., Schwartz, H. F. y Miklas, P. N. (2007).** Registration of white mold resistant dry bean germplasm line a 195. *J. Plant Regist.*, 1, 62–63.
- 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 Enzymol.*, 299, 152–178.
- Siripatrawan, U., y Harte, B. R. (2010).** Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24(8), 770-775.
- Solano-Doblado, L. G., Alamilla-Beltrán, L., y Jiménez-Martínez, C. (2018).** Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21.
- Soto-García, M., y Rosales-Castro, M. (2016).** Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxylla*. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 18(4), 701-714.
- SSM (Secretaría de Salud de Michoacán). (2022).** Atención oportuna a intoxicaciones por plaguicidas salva vidas: SSM. Disponible en: <https://salud.michoacan.gob.mx/atencion-oportuna-de-intoxicaciones-por-plaguicidas-salva-vidas-ssm/>
- Strik, B. C., Clark, J. R., Finn, C. E., y Banados, M. P. (2007).** Worldwide blackberry production. *HortTechnology*, 17(2), 205-213.
- Suryani, S., Chaerunisaa, A. Y., Joni, I. M., Ruslin, R., Ramadhan, L. O. A. N., Villaseñor, J. L. (2018).** Diversidad y distribución de la familia Asteraceae en México. *Botanical Sciences*, 96(2), 332-358.

Syngenta (2018). Ficha técnica Amistar®. Syngenta.com.mx.
<https://agrisolver.s3.amazonaws.com/1566/Ficha-T%C3%A9cnica-Amistar-Syngenta-%28M%C3%A9xico%29.pdf>

Syngenta (2024). Ficha técnica Switch®.
Syngenta.com.mx. <https://www.syngenta.com.mx/product/cropprotection/fungicida/switchr-625-wg>

Terrones-Salgado, J., Nieto-Ángel, D., Nava-Díaz, C., Téliz-Ortiz, D., García-Velasco, R., Vallejo-Pérez, M. R. y Sánchez-García, P. (2019). *Botrytis cinerea* causante del moho gris en frutos de zarzamora en México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 37(3), 365-382.

UPL (2018). Ficha técnica ELEVIT®. <https://agrisolver.s3.amazonaws.com/1811/Ficha-T%C3%A9cnica-Elevant-Arysta-%28M%C3%A9xico%29.pdf>

UPL (2018). Ficha técnica VIGOLD®. UPL | México. <https://www.uplcorp.com/mx/Detalles-del-producto/vigold>

Velasco-Ramírez, A.P., Velasco-Ramírez, S.F., y Velasco-Ramírez, A. (2019). Uso en medicina tradicional de *Verbesina sphaerocephala* A. Gray (Asteraceae) en la comunidad de San Martín de las Flores, Jalisco, México. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 18(2), 144-154.

Velasco-Ramírez, A. P., Virgen-Calleros, G., Hernández-Herrera, R. M., Velasco-Ramírez, A., Corona-Cervantes, M. P., Munguía-Lizalde, D. M., y Hernández-Pérez, A. R. (2021). Extractos de *Verbesina sphaerocephala* promueven el desarrollo de *Cucumis sativus* y reduce el daño causado por *Meloidogyne incognita*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 39(2), 339-353.

Velasco-Ramírez, A.P., Velasco-Ramírez, A., Hernández-Herrera, R.M., Murguía-Lizalde, D. M., y Velasco-Ramírez, S.F. (2022). *Verbesina sphaerocephala* and *Verbesina fastigiata* extracts promote the pot development of *Fragaria x ananassa*. *Agroindustrial Science*, 12(1), 29-37.

Villar-Calero, K., Ruiz-Pacco, G., y Fuertes-Ruitón, C. (2021). Biopelículas a base de quitosano y aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (Muña) con propiedades antioxidante y antimicrobiana. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 87(4): 309-320.

Villa-Forte, A. y Wasserman, M. (2025). Sistemas orgánicos. Manual MSD Versión Para Público General. <https://www.msmanuals.com/es/hogar/fundamentos/el-cuerpo-humano/sistemas-org%C3%A1nicos>

Villaseñor, J. L. (2018). Diversidad y distribución de la familia Asteraceae en México. *Botanical Sciences*, 96(2), 332-358.

- Wang, D., Yang, H., Lu, X., Wu, Y., y Blasi, F. (2022).** The Inhibitory Effect of Chitosan Based Films, Incorporated with Essential Oil of *Perilla frutescens* Leaves, against *Botrytis cinerea* during the Storage of Strawberries. *Processes*, 10(4), 706. <https://doi.org/10.3390/pr10040706>
- Wang, J., Yuan, Y., Liu, Y., Li, X., y Wu, S. (2024).** Application of chitosan in fruit preservation: A review. *Food chemistry: X*, 23, 101589.
- Wang, K., Jiang, S., Pu, T., Fan, L., Su, F., y Ye, M. (2019).** Antifungal activity of phenolic monoterpenes and structure-related compounds against plant pathogenic fungi. *Natural Product Research*, 33(10), 1423–1430. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1419232>
- Wang, S. Y., y Gao, H. (2013).** Effect of chitosan-based edible coating on antioxidants, antioxidant enzyme system, and postharvest fruit quality of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *LWT-Food Science and Technology*, 52(2), 71-79.
- Wang, Q., Fangyuan, T., Feng, Z., Xueying, F., Zetong, O., y Jiang, Z. (2014).** Antioxidant activity and physical properties of chitosan-based films incorporated with plant extracts for food packaging. *International Journal of Food Science & Technology*. 50, 2014.
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P. y Van Kan, J. A. (2007).** *Botrytis cinerea*: the cause of grey mold disease. *Molecular Plant Pathology*, 8(5), 561-580.
- Xu, W. T., Huang, K. L., Guo, F., Qu, W., Yang, J. J., Liang, Z. H., y Luo, Y. B. (2007).** Postharvest grapefruit seed extract and chitosan treatments of table grapes to control *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Technology*, 46(1), 86-94.
- Zhang, D., y Quantick, P. C. (1997).** Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 12(2), 195-202.

13. Anexos



Página 1 de 115 - Portada

Identificador de la entrega: trnoid::3117-578378830

Sol Erandi Rodríguez Hernández

Efecto antifúngico de un recubrimiento de quitosano con extracto acuoso de tallo de *Verbesina sphaerocephala* sobre *B...*

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trnoid::3117-578378830

Fecha de entrega

14 abr 2026, 7:22 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

14 abr 2026, 7:30 a.m. GMT-6

Nombre del archivo

Efecto antifúngico de un recubrimiento de quitosano con extracto acuoso de tallo de *Verbesina s...*.pdf

Tamaño del archivo

6.0 MB

102 páginas

28.617 palabras

157.567 caracteres



Página 1 de 115 - Portada

Identificador de la entrega: trnoid::3117-578378830

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas	
Título del trabajo	Efecto antifúngico de un recubrimiento de quitosano con extracto acuoso de tallo de <i>Verbena sphaerocephala</i> sobre <i>Botrytis cinerea</i> en frutos de zarzamora	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	Sol Erandi Rodríguez Hernández	1358590b@umich.mx
Director	Dr. Rafael Salgado Garciglia	rafael.salgado@umich.mx
Codirector	Dra. Alejandra Hernández García	alejandra.hernandez@umich.mx
Coordinador del programa	Dra. Rosa Elvira Núñez Anita	Mas.ciencias.biologicas@umich.mx

Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	No	

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	No	
Traducción a otra lengua	No	
Revisión y corrección de estilo	No	
Análisis de datos	No	
Búsqueda y organización de información	No	
Formateo de las referencias bibliográficas	No	
Generación de contenido multimedia	No	
Otro	No	

Datos del solicitante	
Nombre y firma	Sol Erendi Rodríguez Hernández
Lugar y fecha	Morelia, Michoacán a 14 de Abril del 2026