


Crecimiento de *Fusarium* sp. en presencia de aceite esencial de *Citrus sinensis* (L.)

Santiago Santiago Martha Angelica, Molina González María Graciela

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Laboratorio de Investigación Científica II y V y Laboratorio de Colección de Cultivos Bacterianos. Av. De los Barrios No. 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, C.P. 02200. México.

*Autor para correspondencia: marias@unam.mx

ORCID :0000-0003-0876-7428

Recibido:

12/julio/2022

Aceptado:

27/enero/2022

Palabras clave:

Aceite esencial,
Citrus sinensis,
Fusarium sp.

Keywords:

Essential oil,
Citrus sinensis,
Fusarium sp.

RESUMEN

Los aceites esenciales de *Citrus sinensis* presentan propiedades antimicrobianas que dependen del método de extracción y el origen de la planta. El objetivo fue extraer el aceite esencial de *Citrus sinensis* obtenida en la CDMX, mediante arrastre de vapor para evaluar su efecto en *Fusarium* sp, así como determinar los compuestos químicos por pruebas fitoquímicas cualitativas. Se estimó el crecimiento micelial de *Fusarium* sp, al medir el diámetro. El rendimiento del aceite esencial fue de 0.06%. Las pruebas cualitativas indicaron la presencia de terpenos, de aldehídos y cetonas. La concentración de aceite esencial de 3.5% inhibió el crecimiento de *Fusarium* sp, mientras que las concentraciones de 1 y 2.5% promovieron su crecimiento. *Fusarium* sp utilizó el aceite esencial como sustrato a bajas concentraciones, y a los tres días la concentración más alta inhibió el crecimiento.

ABSTRACT

Citrus sinensis essential oils have antimicrobial properties, they depend on the extraction method and the origin of the plant. The objective was to get the essential oil of *Citrus sinensis* bought in Mexico City, by steam dragging and to evaluate its effect on *Fusarium* sp., as well as to determine the chemical compounds by qualitative phytochemical tests. *Fusarium* mycelial growth was evaluated by measuring the diameter. A 0.06% yield of the essential oil was obtained. Qualitative tests indicated the presence of terpenes, aldehydes, and ketones. The essential oil concentration of 3.5% inhibited the growth of *Fusarium* sp, while the concentrations of 1 and 2.5% promoted its growth. *Fusarium* sp essential oil was used as a substrate at low concentrations, and after three days the highest concentration inhibited growth.

Introducción

Las plantas producen diversos compuestos que utilizan como mecanismos de defensa contra el daño ocasionado por microorganismos, un ejemplo son los aceites esenciales (León et al., 2015; Camacho-Escobar et al., 2020). El aceite esencial es una sustancia líquida, oleosa, volátil, generalmente insaponificable, sensible a la luz y a la temperatura extrema (Cabrera, 2004; Denkova-Ksotova et al., 2020; Perczak et al., 2019). Se localizan en reservorios especiales dentro de la planta; hojas, raíces, tallos, semilla, corteza, en las flores y frutos. Son mezclas complejas de cetonas, aldehídos aromáticos, alcoholes y ésteres, fenoles e hidrocarburos como; terpenos y sesquiterpenos (Liu et al., 2019). Los terpenos que incluyen en mayor proporción al limoneno, β -linalol, β -pineno y otros componentes minoritarios, son un grupo de moléculas cíclicas insaturadas, denominados monoterpenos hidrocarbonados, se encuentran en los aceites naturales, localizados en los frutos cítricos provenientes del flavedo del limón y la naranja obtenidos mediante destilación presentan actividad biológica (Denkova-Ksotova et al., 2020).

Los aceites esenciales se utilizan en la industria de alimentos perfumería, bebidas, cosméticos, licores, fármacos, como preservadores de comida, insecticidas y fungicidas, (Torres-Alvarez, 2017) dado que tienen una gran variedad de propiedades: antioxidante, antibacterial, bacteriostático, antiinflamatorio, insecticida y antifúngico (Liu et al., 2019; Denkova-Ksotova et al., 2020). Los aceites esenciales por su naturaleza lipofílica y bajo peso molecular, causan daño estructural en los microorganismos, además de inhibir algunas de sus enzimas, o presentar cambios en el intercambio de electrones (Guédez et al., 2014; Perczak et al., 2019). A estas características se le atribuyen el efecto inhibitorio sobre hongos postcosecha como *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* (Martínez et al., 2015; Mozón y Rodríguez, 2010).

Los hongos del género *Fusarium* producen metabolitos tóxicos que ocasionan problemas de salud en los seres humanos y en los animales, además son patógenos importantes durante el transporte, almacenamiento, la comercialización, y en la pudrición postcosecha de frutas y hortalizas causando pérdidas económicas (Martínez et al., 2014; Mozón y Rodríguez, 2010; Perczak et al., 2019). Actualmente para el control de *Fusarium* se ha propuesto el uso de compuestos extraídos de las plantas con acción antifúngica que pueden ser efectivos e inocuos, además que permitan preservar alimentos o bebidas, o que puedan tener aplicación en diferentes áreas industriales o en el manejo de residuos orgánicos.

Es necesario contar con métodos eficientes para la producción de aceites esenciales en pequeña y gran escala, probándolas en diferentes cepas fúngicas. Por lo tanto, la validación tanto del tipo de aparato para extraer aceites esenciales, así como la respuesta del microorganismo probado, puede indicar la concentración y el equipo que se utilice en laboratorio para su obtención (Denkova-Ksotova et al., 2020).

El método de extracción utilizado para obtener el aceite esencial cambia su composición química y sus propiedades y pueden influir en la actividad biológica del mismo. Otros factores que afectan el contenido de los aceites esenciales son las diferencias genéticas entre variedades y especies de plantas, el tipo de suelo del cultivo, el estado de madurez del fruto y el ambiente en donde se desarrollan los árboles (Torres-Alvarez et al., 2020; Perczak et al., 2019; Liu et al., 2019 y Denkova-Ksotova et al., 2020). Es importante la exploración de recursos vegetales nativos y tolerados de cada país, en este caso México.

La naranja es el cítrico que más se produce y comercializa a nivel mundial, es parte importante de la dieta de los mexicanos, además genera empleos e ingresos para el país (www.gob.mx). Los trabajos realizados sobre la extracción de aceite esencial del pericarpio de la naranja han sido evaluados en países como Venezuela, Colombia, China, España, Estados Unidos, en el caso de México la información sobre aceites esenciales está enfocada en bacterias de interés clínico humano y animal, uno de los estudios es el de Ramírez et al., 2019 quienes estudiaron el efecto inhibitorio de los aceites esenciales de *Citrus sinensis* en *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus epidermidis*, estos autores mencionan dos trabajos realizados con aceites esenciales en bacterias, pero falta evaluar el efecto de estos aceites en hongos como *Fusarium*, cabe resaltar el hecho que el cambio del ambiente en donde se desarrolla la planta promueve diferencias en los compuestos químicos de las naranjas mexicanas.

La pregunta de investigación fue ¿El aceite esencial del pericarpio o flavedo de *Citrus sinensis* L., obtenida de un mercado local de la CDMX tendrá efecto en el crecimiento de *Fusarium* sp? Por lo que el objetivo de investigación fue extraer el aceite esencial de naranja mediante arrastre de vapor y evaluar el efecto del aceite esencial de *C. sinensis* en el crecimiento de *Fusarium* sp, así como determinar los compuestos presentes en el aceite mediante pruebas cualitativas.

Metodología

Rendimiento del fruto

Se adquirió *C. sinensis* de expendios de verduras en la Ciudad de México, se eligieron los frutos con menor madurez de gran tamaño, con una coloración amarillo verdosa, y que preferentemente estuvieran ambientes congelados, estas se lavaron y se cortó el pericarpio en fragmentos para obtener el aceite esencial utilizando 237 g del flavedo del fruto mediante arrastre de vapor con un equipo construido y adaptado en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala. El flavedo obtenido se pesó en una balanza digital antes de colocarlo en el equipo de arrastre de vapor, para posteriormente obtener el rendimiento de la planta, mediante la siguiente fórmula (Liu *et al.*, 2019).

% Rendimiento de la extracción

$$= \frac{\text{Masa en gramos (g) del aceite esencial obtenido}}{\text{Peso en gramos (g) del material fresco (flavedo)}} \times 100$$

Pruebas fitoquímicas cualitativas

Se realizaron dos pruebas fitoquímicas cualitativas para determinar los metabolitos que constituyen el aceite esencial obtenido: la prueba de Baeyer para detectar insaturaciones y dobles enlaces, y la prueba para aldehídos y cetonas mediante el reactivo de Brady (Ngan, 2022; Grande 2013).

Evaluación del crecimiento micelial

Se evaluó el efecto del aceite esencial de naranja en el crecimiento micelial de *Fusarium in vitro*, a través de la medición del diámetro del crecimiento radial. La cepa de *Fusarium* sp fue donada por el laboratorio de Biogeoquímica de la UBIPRO de la FES Iztacala UNAM. La actividad antifúngica del aceite esencial se probó usando la técnica de crecimiento radial, se tomó un volumen determinado de aceite esencial para obtener diferentes concentraciones de 1.0, 2.5, y 3.5 %, que se adicionaron al medio de crecimiento PDA, inmediatamente después se vertieron en placas Petri de 9 cm de diámetro, a temperatura ambiente. Cada concentración tuvo 5 réplicas, más las placas de PDA sin aceite esencial. Los discos con micelio de 0.5 cm de diámetro de *Fusarium* sp., se tomaron de un cultivo de 7 días de un medio con BHI, se transfirieron al centro de la placa Petri. Los tratamientos se incubaron a 30 ° C y se evaluaron por 7 días. El diámetro del crecimiento de la colonia se midió cada tercer día con un vernier digital, obteniéndose 3 lecturas, una de ellas con un día de diferencia (Guédez *et al.*, 2014; Tapia y Amaro, 2014).

Resultados y discusión

Se obtuvo un 0.06% de rendimiento del aceite esencial a partir de 237 g de flavedo de naranja, en comparación León *et al.*, 2015 obtuvo un mayor porcentaje de aceite esencial de naranja de Cartagena Colombia con 0.42 % a partir de 500 g mediante hidrodestilación por arrastre de vapor, mientras que Guédez *et al.*, 2014 obtuvieron un rendimiento de 0.53 %, con 500 g de tejido fresco de naranja cultivada en los Andes Venezuela, utilizando la técnica de hidrodestilación asistida por microondas. Así que la diferencia con nuestros resultados puede deberse a los cambios ambientales donde se desarrolla el fruto, el tiempo de almacenamiento del fruto, la etapa fenológica de recolecta del fruto y la técnica de extracción utilizada que pueden modificar la composición química, entre otros factores.

Componentes de aceite esencial

Las propiedades químicas del aceite esencial están relacionadas con la presencia de alcoholes aldehídos, ésteres, cetonas y terpenos que le proporciona propiedades antifúngicas (Tepe *et al.*, 2005). El aceite esencial de *Citrus sinensis* obtenido por hidrodestilación, mostró mediante la prueba de Baeyer la presencia de insaturaciones en los compuestos presentes en el aceite como el ácido linoleico y oleico, adicionalmente se obtuvo un precipitado amarillo-naranja indicativo de la presencia de aldehídos y cetonas (Fig. 1), quizá esté presente hexanal y carvona como otros autores han descrito que están presentes en el aceite esencial de naranja. León *et al.*, 2015 y Liu *et al.*, 2019 mencionan que en este aceite hay mayor proporción de monoterpenos como limoneno, β mirceno y α pineno obtenidos mediante hidrodestilación por arrastre de vapor, a estos monoterpenos se les ha atribuido la propiedad antimicrobiana (Torres-Álvarez *et al.*, 2020). Las pruebas cualitativas, fueron de utilidad para conocer de manera rápida la presencia o ausencia de los tres analitos, lo que sustento el ejercicio del bioensayo de inhibición.

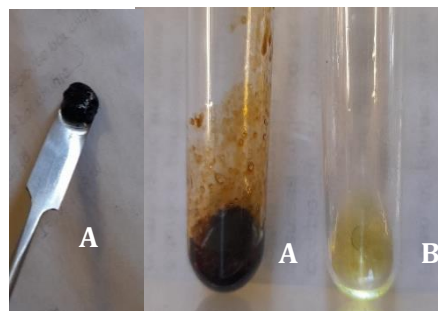


Figura 1. Presencia de insaturaciones (A) aldehído y cetonas (B), en el aceite esencial del pericarpio de *Citrus sinensis*.

Con la finalidad de saber las concentraciones de terpenos, aldehídos y cetonas causantes del efecto en el comportamiento del crecimiento de *Fusarium sp*, es importante considerar la cuantificación de estas biomoléculas. Solo se tiene que considerar que, para ello, es necesario contar con un espectro de infrarrojo y otros recursos especializados. Sirva este señalamiento para resaltar la importancia de este trabajo para ejecutar experimentos en docencia o laboratorios con recursos limitados.

Crecimiento de *fusarium sp* en presencia de *Citrus sinensis*

El efecto del aceite esencial de *Citrus sinensis* (AEsCitsin) en el crecimiento de *Fusarium sp* se monitoreo durante 7 días, con intervalos de 3 y 6. La Figura 2, da crédito del crecimiento del hongo a los 3 días de exposición, el crecimiento radial del micelio se ve disminuido a la mayor concentración (3.5%). El crecimiento micelial de *Fusarium sp* tuvo un comportamiento atípico, las concentraciones más bajas de AEsCitsin promovieron el crecimiento no habiendo diferencias, esto basado en el error estadístico. A los tres días de iniciado el tratamiento, no hubo diferencias entre el crecimiento del micelio del grupo control y el expuesto a 1 y 2.5%, pero si con el 3.5% (Fig. 3).



Figura 2. Crecimiento micelial de *Fusarium sp*. después de tres días de contacto con aceites esenciales de *Citrus sinensis* al 1, 2.5 y 3.5% y control. La tercera línea de placas, de arriba hacia abajo, muestra el crecimiento micelial a la concentración más alta.

Es evidente que el tiempo y la concentración de AEsCitsin, influyeron en el crecimiento, lo que concuerda con Perczak et al., 2019; Palfi, Konjevoda, y Vrandečić, 2019, quienes mencionan que la inhibición del crecimiento micelial depende de la concentración utilizada de aceite esencial y el tiempo de contacto.

Los resultados concuerdan con el trabajo de Denkova-Ksotova et al., 2020, quienes reportan que los aceites esenciales del género *Citrus lemon*, no inhibieron el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*. Liu et al.,

2019 mencionan que en el aceite de naranja hay mayor proporción de monoterpenos como limoneno, β mircenol y α pineno obtenidos mediante hidrodestilación por arrastre de vapor, a estos monoterpenos se les ha atribuido la propiedad antimicrobiana. El estudio de los compuestos específicos de los aceites obtenidos en este trabajo, es una labor pendiente.

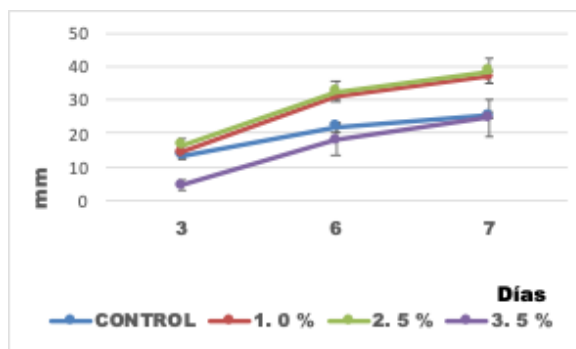


Figura 3. Crecimiento radial de *Fusarium sp*. A través del tiempo en diferentes concentraciones de aceite esencia *Citrus sinensis*. Promedio de cinco repeticiones con el error estándar.

Otra variable que influye en los bioensayos de inhibición con aceites esenciales, es la técnica microbiológica usada para incorporar los aceites al medio de cultivo, en el presente estudio se utilizó la de dilución en agar. Esta técnica presentó resultados satisfactorios en la inhibición del 100% sobre *Penicillium digitatum*, aislado de *Citrus sinensis*, usando una mal denominada concentración de 1000 μ L de cuatro de 10 aceites probados (Gandarilla-Pacheco et al., 2020), la discordancia con nuestros resultados, quizá se debió a los volúmenes utilizados del aceite y diluyente, el origen de la fruta, el estado de madurez fisiológica y de poscosecha (El Khetabi et al., 2021). Resultados similares se han reportado en diferentes trabajos, dentro de los estudios de inhibición de los aceites esenciales cuyo origen es el de frutas, en particular *Citrus sinensis* estudios *in vitro* (Narváez et al., 2016; Quintana-Obregón et al., 2017; Simas et al., 2017; Cerna-Chávez et al., 2019; Peralta et al., 2021; Salvatore et al., 2022).

Es importante mencionar que se desconoce el mecanismo específico de acción sobre el funcionamiento de los extractos y aceites esenciales en los diferentes microorganismos sensibles, hay dos propuestas; una de ellas es que alteran las rutas metabólicas, como la síntesis de proteínas; metabolismo de cofactores y vitaminas; rutas metabólicas principales y producción de energía (Kisova et al., 2020), la otra explicación tiene que ver con la permeabilidad. "Los aceites esenciales son lipofílicos y esta propiedad les permite pasar de una fase acuosa por la membrana de los hongos. Esta acción conduce a la

expansión de la membrana, el aumento de la fluidez y la permeabilidad, los cambios de las proteínas de membrana, el control de la tasa de respiración, el intercambio del transporte de iones en los hongos y la pérdida de contenido celular inducido" (Khan et al., 2010; Khorram et al., 2018 citados por Gandarilla-Pacheco et al., 2020). Este supuesto no aplicó para *Fusarium* sp, ya que encontramos que AEsCitsin estimularon el crecimiento de *Fusarium* sp. La capacidad lipofílica de hongos ha sido bien documentada (Rocha et al., 2021; Wadia y Jain, 2020) pero pocos estudios se han enfocado al uso de aceites esenciales como sustrato.

Recientemente Kutyla et al (2022), reportaron que *Chrysosporium pannorum* biocataliza la esterificación del monoterpeno β -citronelol, aunque Cerna-Chávez et al., 2019 atribuyeron el mismo efecto inhibitorio del β -citronelol sobre *Fusarium oxysporum*. Mostramos de manera cualitativa que los AEsCitsin contienen terpenos, lo que nos lleva suponer que pueden ser un sustrato para la cepa de *Fusarium* utilizada en este trabajo, en la producción de lipasas y por ende su importancia biotecnológica. Los ésteres de terpenos son compuestos de alto valor económico y de importancia en la industria. Así mismo, otras investigaciones evidenciaron que *Fusarium solani* presentó la mayor actividad lipolítica y esterificación, entre 38 hongos filamentosos evaluado (Mendes et al., 2019).

El control del crecimiento de *Fusarium* sp, en el campo agrícola, se realiza principalmente con compuestos químicos como los triazoles, carbamatos y amidas. Esos compuestos tienen efectos en la salud animal, los fungicidas cuyo compuesto principal es la estrubilurina, no representan problemas en la salud animal y ambiental. Así que, con fines de investigación, sugerimos que se utilice algún derivado de la estrubilurina, por ejemplo, azoxistrobina, como grupo control para continuar con la investigación.

Conclusiones

Se obtuvo 0.06% de rendimiento de aceites esenciales del pericarpio de *Citrus sinensis*, se observó la presencia de aldehídos y cetonas metabolitos secundarios presente generalmente en esta especie. concentraciones de 1 y 2.5% de aceites esenciales incorporados en el agar estimularon el crecimiento micelial de *Fusarium* sp., siendo uno de los pocos trabajos en los que se evidencia este fenómeno. La inhibición del crecimiento radial del hongo fue verificado al tercer día de la inoculación. Como perspectivas futuras se puede comprobar la presencia de limoneno, β mirceno y α pineno mediante cromatografía en capa fina o HPLC (por sus siglas en inglés) o medir la concentración de estos compuestos por

espectrofotometría, adicionalmente se podrían utilizar una mayor concentración de aceite esencial de naranja para evaluar el efecto en el crecimiento de *Fusarium* sp, además de utilizar naranjas de otros partes de la República Mexicana y diferentes especies de *Fusarium*.

Agradecimientos

Al proyecto, PAPIME PE-204721, DGAPA de la Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

Al Laboratorio de biogeoquímica y fisiología vegetal de la UBIRO de la FES Iztacala por la cepa de *Fusarium* sp donada y las instalaciones usadas.

A profesores y alumnos de la asignatura de Laboratorio de Investigación Científica II y V.

Referencias

- Cabrera S. M.E. (2004). Análisis de pureza del aceite esencial de naranja. Tesis licenciatura. UNAM. México, D.F.
- Cerna-Chávez E., Alejando-Rojas G., Ochoa-Fuentes Y.M., Aguirre-Uribe L., Landeros-Flores J., Hernández-Batrista O. (2019). Evaluación in vitro de principios activos de origen botánico para el control de hongos fitopatógenos. *Scientia Fungonarum*, 49,1-6. <http://www.scielo.org.mx/pdf/sf/v49/2594-1321-sf-49-e1245.pdf>.
- Coy, B. C.A., Parra, J., Cuca S. L. E. (2014). Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metaboitos secundarios en hojas de la especie *Raputia heptaphylla* (rutaceae). *Rev Elem*, 4,31-39.
- Denkova-Ksotova R., Teneva D., Tomova T, Goranov B., Denkova Z., Shopsa V., Slavchev S., Hristova-Ivanova Y. (2020). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from tangerine (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradidi* L.), lemon (*citrus lemon* L.) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). *Z Naturforsch*, 76(5-6), 175-185.
- El Khetabi, A., Ezrari, S., El Ghadraoui, L., Tahiri, A., Ait Haddou, L., Belabess, Z., ... & Lahlali, R. (2021). *In Vitro* and *In Vivo* Antifungal Activities of Nine Commercial Essential Oils against Brown Rot in Apples. *Horticulturae*, 7(12), 545
- Fernández C. O., Ojito C. E., Pérez A. L. (2002). Obtención de flavonoides a partir del cultivo en suspensión de células vegetales de *Matricaria recutita* L. *Rev Univ EAFIT*, 127, 65-71.

- Gandarilla-Pacheco F.I., Torres-Caraballo S., Luna-Santillana E.J., Quintero-Zapata I., Arroyo-González N. (2020). Efecto Inhibitorio de aceites esenciales en el crecimiento micelial de *Penicillium digitatum* (PERS.) SACC. aislado de naranja dulce (*Citrus sinensis* OSBECK). *Agrociencia*, 54(2),209-225 <https://agrociencia.colpos.mx/index.php/agrociencia/article/download/1902/1899/1889>.
- Grande T. C. D. (2013). Manual de practicas de Química Orgánica Aplicada. Editorial Bonaveturina. Cali Colombia. 47-57 pp.
- Guédez C., Cañizañez L., Avendaño L., Scorza J., Castillo C., Olivar R., Méndez Y., Sánchez L. (2014). Actividad antifúngica del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis* L.) sobre hongos postcosecha. *Rev Soc Ven Microbiol*, 34(2),81-85.
- Kisová, Z., Šoltýsová, A., Bučková, M., Beke, G., Puškárová, A., & Pangallo, D. (2020). Studying the gene expression of *Penicillium rubens* under the effect of eight essential oils. *Antibiotics*, 9(6), 343.
- Kutyła, M., Trytek, M., Buczek, K., Tomaszewska, E., & Muszyński, S. (2022). Biomass of a psychrophilic fungus as a biocatalyst for efficient direct esterification of citronellol. *Bio Energy Research*, 15(1), 399-411.
- León M. G. Osorio F. M. del R., Martínez U. R. (2015). Comparación de dos métodos de extracción del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. *Rev Cub Farm*, 49(4),742-750.
- Liu K., Deng W., Hu W., Cao S., Zhong B., Chun J. (2019). Extraction of "Gannanzao" orange peel essential oil by response Surface methodology and its effect on cancer cell proliferation and migration. *Mol*, 24(3), 499; doi:10.3390/molecules24030499.
- Martinez M. R., Ortega C. M. E., Herrera H. J. G., Kawas G. J. R., Zarate R. J., Robles S. R. (2015). Uso de aceites esenciales en animales de granja. *Interciencia*, 40(11), 744-750.
- Mendes, D. B., Da Silva, F. F., Guarda, P. M., Almeida, A. F. D., de Oliveira, D. P., Morais, P. B. D., & Guarda, E. A. (2019). Lipolytic enzymes with hydrolytic and esterification activities produced by filamentous fungi isolated from decomposition leaves in an aquatic environment. *Enzyme research*, 1-13.
- Monzón A. y Rodriguez T. J. L. (2022). Infecciones causadas por el género *Fusarium*. Consultado el 09 de junio del 2022 de <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/fusarium.pdf>
- Narváez, F., Barzola, S., Fon-Fay, F. M., Martínez, M., & Rojas-Vera, J. (2016). Efecto de los aceites esenciales de *Citrus sinensis* y *Citrus reticulata* x *Citrus sinensis* sobre la inhibición del crecimiento de *Rhizopus stolonifer* y *Colletotrichum gloeosporioides*: Effect of the essential oils from *Citrus sinensis* and *Citrus reticulata* x *Citrus sinensis* on the growth inhibition of *Rhizopus stolonifer* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 26(3), 66-71.
- Ngan, T. T. K., Hien, T. T., Phat, D. T., Minh, L. T. N., Long, H. B., & Le, X. T. (2022). Pomelo (*Citrus grandis* L.) Essential Oil Extraction: A Comparison between Hydrodistillation and Microwave Assisted Hydrodistillation. In *Materials Science Forum*, 1048, 485-492.
- Palfi, M., Konjevoda, P., & Vrandečić, K. (2019). Antifungal activity of essential oils on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* and *Bortyitis cinerea*. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 31(17),544-554.
- Peralta, V. L. P., Apaza, S. A., Quiróz, E. U. H., & Ancota, R. A. (2021). Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de eucalipto (*eucalyptus globulus labill.*) y cáscara de naranja (*citrus sinensis* linn. osbeck.) sobre fusarium spp. En Puno. *Dominio de las Ciencias*, 7(1), 268-284.
- Quintana-Obregón, E. A., Sánchez-Mariñez, R. I., Cortez-Rocha, M. O., & González-Aguilar, G. A. (2017). Actividad antifúngica in vitro de mezcla de terpenos de naranja contra *Alternaria tenuissima*. *Revista mexicana de micología*, 45, 7-12.
- Ramírez P y P. G. A., Rosales I. V., Escalante V. A., Espíritu G. G., Martínez S. M. I., Molina G. M. G. (2019). Efecto inhibitorio de los aceites esenciales de *Citrus sinensis* sobre *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus epidermidis*. *Rev Ten Doc Inv Quím*, 5(5), 686-692.
- Rocha, A. C. P., Costa, T. P., Schmiele, M., dos Santos, S. L. B., Roa, J. P. B., Nelson, D. L., & Benassi, V. M. (2021). Isolation of potential lipolytic filamentous fungi from Macauba samples for applications in biotechnological processes. *Brazilian Journal of Development*, 7(5), 49426-49442.
- Salvatore, M. M., Nicoletti, R., & Andolfi, A. (2022). Essential Oils in Citrus Fruit Ripening and Postharvest Quality. *Horticulturae*, 8(5), 396.
- Simas, D. L., de Amorim, S. H., Goulart, F. R., Alviano, C. S., Alviano, D. S., & da Silva, A. J. R. (2017). *Citrus* species essential oils and their components can inhibit or stimulate fungal growth in fruit. *Industrial Crops and Products*, 98, 108-115.

Tapia C., Amaro J. (2014). Género *Fusarium*. Retrato Microbiológico. *Rev Chil Infectol*, 31(1),85-86.

Tepe B., Daferera, D., Sokmen A., Sokmen M. y Polissiou M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (*Lamiaceae*). *Food Chemistry*, 90, 333-340.

Torres-Alvarez C., Núñez G. A., Rodríguez J., Castillo, S., Leo-Rivas C., Báez- G. (2017). Chemical composition, antimicrobial, and antioxidant activities of orange essential oil and its concentrated oils. *Journal of Foods.*, 15(1),192-135.

Torres-Alvarez C., Placencia S., Castillo S., Treviño M., Gallardo C., Baez J. G. (2020). Caracterización biológica

de aceites esenciales de toronja y limón y sus fracciones concentradas. *Invest Des Cien Tecnol Alim*, 5, 103-107.

Wadia, T., & Jain, S. K. (2020). Selection of suitable basal medium formulation for extracellular lipase production and growth of five lipolytic fungi. *Journal of Advanced Scientific Research*, 11(Suppl 6),80-84.

www.gob.mx. 2022. Producción de cítricos en México. Biblioteca de Publicaciones Oficiales del Gobierno de la República. Consultado el 01 de diciembre del 2022 de <https://www.gob.mx/publicaciones/articulos/produccion-de-citricos-en-mexico>.