

## Accepted Manuscript / Manuscrito Aceptado

Title Paper/Título del artículo:

**Evaluación y potencial antifúngico de los compuestos polifenólicos de *Dalea carthagenensis* para el control de *Rhizopus stolonifer* en yaca**

**Evaluation and antifungal potential of polyphenolic compounds from *Dalea carthagenensis* for the control of *Rhizopus stolonifer* in jackfruit**

Authors/Autores: Calderón-Santoyo, M., González-Gutiérrez, K.N. , Vilchis-Gómez, D.S., Domínguez-Ruvalcaba, J. , Ragazzo-Sánchez, J.A.

ID: e1686

DOI: <https://doi.org/10.15741/revbio.11.e1686>

Received/Fecha de recepción: June 11<sup>th</sup> 2024

Accepted /Fecha de aceptación: October 09<sup>th</sup> 2024

Available online/Fecha de publicación: October 24<sup>th</sup> 2024

Please cite this article as/Como citar este artículo: Calderón-Santoyo, M., González-Gutiérrez, K.N. , Vilchis-Gómez, D.S., Domínguez-Ruvalcaba, J. , Ragazzo-Sánchez, J.A. (2024). Evaluation and antifungal potential of polyphenolic compounds from *Dalea carthagenensis* for the control of *Rhizopus stolonifer* in jackfruit . *Revista Bio Ciencias*, 11, e1686. <https://doi.org/10.15741/revbio.11.e1686>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Este archivo PDF es un manuscrito no editado que ha sido aceptado para publicación. Esto es parte de un servicio de Revista Bio Ciencias para proveer a los autores de una versión rápida del manuscrito. Sin embargo, el manuscrito ingresará a proceso de edición y corrección de estilo antes de publicar la versión final. Por favor note que la versión actual puede contener errores de forma.

## Evaluación y potencial antifúngico de los compuestos polifenólicos de *Dalea carthagenensis* para el control de *Rhizopus stolonifer* en yaca

## Evaluation and antifungal potential of polyphenolic compounds from *Dalea carthagenensis* for the control of *Rhizopus stolonifer* in jackfruit

Extracto con actividad antifúngica/

Extract with antifungal activity

Calderón-Santoyo, M. , González-Gutiérrez, K.N. , Vilchis-Gómez, D.S. , Domínguez-Ruvalcaba, J. , Ragazzo-Sánchez, J.A. 

Laboratorio Integral de Investigación en Alimentos. Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tepic. Av. Tecnológico, 2595, C.P. 63175, Tepic, Nayarit, México.

\*Corresponding Author:

[Juan Arturo Ragazzo-Sánchez](mailto:jragazzo@tepic.tecnm.mx). Laboratorio Integral de Investigación en Alimentos. Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tepic. Av. Tecnológico, 2595, C.P. 63175, Tepic, Nayarit, México. Teléfono (311) 121 6506. E-mail: [jragazzo@tepic.tecnm.mx](mailto:jragazzo@tepic.tecnm.mx)

### RESUMEN

La pudrición blanda causada por *Rhizopus stolonifer* es la enfermedad más importante en el fruto de yaca. Actualmente, el control de este fitopatógeno se logra con fungicidas tóxicos. Debido a esto, se busca el control de *R. stolonifer* a través de alternativas naturales como los extractos de plantas. Este estudio tuvo como objetivo identificar los compuestos del extracto de *Dalea carthagenensis* y evaluar su potencial antifúngico contra el fitopatógeno poscosecha *R. stolonifer*. Se evaluó la actividad antioxidante del extracto y la actividad *in vitro* contra *R. stolonifer*. Los compuestos fitoquímicos se identificaron mediante HPLC-UV-Vis y se evaluó la actividad antifúngica *in vivo* contra *R. stolonifer* en yaca. El extracto presentó una actividad antioxidante de  $48.34 \pm 1.3$  mg TE/g dw y un contenido fenólico total de  $52.23 \pm 0.57$  mg GAE/g dw. *In vitro*, *R. stolonifer* fue inhibido entre 27.46-79.71 % y presentó una concentración mínima inhibitoria de 11.08 mg/mL. El extracto de *D. carthagenensis*, en el que se identificaron principalmente el ácido gálico y la vainillina, redujo la severidad de la enfermedad en 59 % en los frutos de yaca. En conclusión, el extracto de *D. carthagenensis* es una alternativa prometedora para el manejo de la pudrición blanda en yaca en etapa poscosecha.

### PALABRAS CLAVE:

*Rhizopus stolonifer*, Yaca, *Dalea carthagenensis*, Extracto de planta, Poscosecha

## ABSTRACT

The soft rot caused by *Rhizopus stolonifer* is the most important disease in jackfruits. Currently, the control of this phytopathogen is achieved with toxic fungicides. Due to this, the control of *R. stolonifer* is sought through natural alternatives such as plant extracts. This study aimed to identify the compounds in *Dalea carthagenensis* extract and evaluate its antifungal potential against the postharvest phytopathogen *R. stolonifer*. The antioxidant activity of the extract and the *in vitro* activity against *R. stolonifer* was evaluated. The phytochemical compounds were identified by HPLC-UV-Vis and the *in vivo* antifungal activity was assessed against *R. stolonifer* in jackfruit. The extract presented an antioxidant activity of  $48.34 \pm 1.3$  mg TE/g dw and a total phenolic content of  $52.23 \pm 0.57$  mg GAE/g dw. *In vitro*, *R. stolonifer* was inhibited between 27.46-79.71 % and presented a minimum inhibitory concentration of 11.08 mg/mL. *D. carthagenensis* extract, in which gallic acid and vanillin were mainly identified, reduced the severity of soft rot by 59 % in jackfruits. In conclusion, *D. carthagenensis* extract is a promising alternative for managing soft rot disease in jackfruit at the postharvest stage.

## KEY WORDS

*Rhizopus stolonifer*, Jackfruit, *Dalea carthagenensis*, Plant extract, Postharvest.

## Introducción

La yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam), miembro de la familia Moraceae, es una fruta tropical importante, cultivada en varias regiones, incluidas China, India, Malasia, Bangladesh y México. Su cultivo en México comenzó en 1960 y se ha expandido a aproximadamente 1751 hectáreas en seis estados. Cada año, México produce alrededor de 23,995 toneladas de yaca, siendo Nayarit el principal contribuyente, responsable de aproximadamente el 93 % de la producción total (Barros-Castillo *et al.*, 2021).

La yaca es una fuente abundante de fibra dietética, vitaminas, antioxidantes y propiedades laxantes (Ghosh *et al.*, 2015). Sin embargo, durante las etapas de pre y poscosecha, las yacas son susceptibles al ataque de hongos fitopatógenos como *Rhizopus stolonifer*, lo que causa pérdidas significativas estimadas entre el 30 y el 50 % de la producción. Esto no solo afecta la calidad nutricional del fruto, sino que también provoca daños físicos en ella (Covarrubias-Rivera *et al.*, 2022).

Los síntomas de la infección por *R. stolonifer* incluyen áreas acuosas que rápidamente se cubren de micelios gruesos y grises, formando una masa de esporangios negros en sus puntas. La infección suele ocurrir durante la cosecha y el manejo del fruto. Dada la capacidad de *R. stolonifer* para infectar una amplia gama de hospederos y su rápida penetración y colonización, se ha convertido en un objetivo importante para su control. Aunque se emplean comúnmente fungicidas sintéticos, como benomil, imazalil, propiconazol, tiabendazol y tiocarbamatos para controlar *R. stolonifer*, su uso excesivo, irracional e indiscriminado genera preocupaciones sobre la seguridad del consumidor y las amenazas ambientales (Bautista-Baños *et al.*, 2014). Esta situación subraya la importancia de explorar métodos alternativos para

controlar las infecciones fúngicas en yaca. A la par de esta necesidad, el Pacto Verde Europeo y la Agenda 2030 de las Naciones Unidas han establecido objetivos ambiciosos para reducir en un 50 % el uso de fungicidas químicos para 2030, enfatizando la urgencia de encontrar soluciones sostenibles y ecológicas a las enfermedades fúngicas en frutos (Lázaro *et al.*, 2021). En respuesta, investigaciones recientes se han centrado en explorar alternativas naturales para controlar las enfermedades poscosecha, lo que ha generado un creciente interés en los extractos vegetales y sus posibles beneficios. Los investigadores han reconocido la actividad antifúngica de los extractos de plantas contra *Rhizopus*, y sus compuestos fenólicos (Vilchis-Gómez *et al.*, 2024) como *Barringtonia racemosa* L (Hussin *et al.*, 2009), *Malva sylvestris* L (Zohra *et al.*, 2013), hojas de *Melaleuca styphelioides* (Laribi *et al.*, 2021), entre otros.

En este contexto, *Dalea carthagenensis*, perteneciente a la familia Fabaceae y distribuida en América Central, el norte de América del Sur y las Antillas, ha despertado interés debido a su contenido de compuestos fenólicos como flavonoides, flavonas, taninos, chalconas y cumarinas (Montes-de-Oca-Márquez *et al.*, 2017). En cuanto al mecanismo de acción de las propiedades antifúngicas de los fitoquímicos, se han reportado tres vías principales: inducción de efectos citotóxicos en los hongos que alteran la integridad y funciones de la membrana celular; bloqueo de genes y enzimas cruciales en las rutas de biosíntesis fúngicas; e interferencia en compartimentos celulares como las mitocondrias, provocando desequilibrios en la presión osmótica y las reacciones redox (Chen *et al.*, 2021; Hu *et al.*, 2021; Torgbo *et al.*, 2022). Por lo tanto, esta investigación podría contribuir significativamente a la reducción de las pérdidas poscosecha de yaca al ofrecer un método sostenible para controlar *R. stolonifer*. Al aprovechar las propiedades antifúngicas de los compuestos de alto valor biológico (HVBCs) presentes en *D. carthagenensis*, este extracto podría proporcionar una forma natural y eficaz de preservar la calidad y extender la vida útil de la yaca, evitar pérdidas económicas y mejorar la seguridad alimentaria. Así, esta investigación tiene como objetivo identificar los HVBCs presentes en *D. carthagenensis*, explorar su capacidad antifúngica y proponer una alternativa natural para combatir la enfermedad de la pudrición blanda causada por *R. stolonifer* en yaca.

## Material y Métodos

### Material vegetal

Las hojas de *D. carthagenensis* se recolectaron en Puebla, México (18° 12' y 18° 14'N; 97° 07' y 97° 09' O; altitud de 957 amsl). Las hojas se lavaron con agua, se secaron a 60 °C durante 24 h en un horno convectivo (Modelo HS60, Novatech Ltd, Guadalajara, México), y luego se pulverizaron con un molino eléctrico (Modelo NB-201, NutriBullet®, Los Ángeles, EE: UU.). El polvo se tamizó a través de una malla de 150 µm y se mantuvo a 25 °C hasta su uso.

Frutos de yaca (*A. heterophyllum* Lam. cv. Romina) saludables, homogéneos (peso: 10 ± 1 kg, longitud: 30 ± 5 cm), en estado de madurez fisiológica (color verde claro), y sin daños se cosecharon de un huerto comercial ubicado en Zacualpan, Nayarit, México (21° 15'N 105°10'O). Los frutos se transportaron en cajas plásticas y se almacenaron a 4 °C durante 24 h hasta su uso. Las yacas se lavaron individualmente

con agua y se sumergieron en una solución de NaClO al 2 % (v/v) durante 3 min, se enjuagaron con agua purificada estéril y se secaron a 25 °C durante 30 min.

### **Obtención del extracto de *D. carthagenensis* mediante extracción asistida por ultrasonido (UAE)**

El extracto de *D. carthagenensis* se obtuvo siguiendo la metodología propuesta por Vázquez-González et al. (2020) con algunas modificaciones. Brevemente, se utilizó una mezcla de etanol:agua (80:20 v/v) como solvente de extracción, combinada con la muestra en una proporción de 1:10 (g de muestra seca:mL solvente). El material molido se mezcló con el solvente y se enfrió a 10 °C para mantener la muestra a 25 °C. Los HVBCs se extrajeron utilizando un baño ultrasónico (Modelo CD4820, Viewlight®, Guangdong, China). La muestra fue sometida a sonicación durante 30 min a 42 kHz. Posteriormente, se filtró usando papel filtro Whatman No.1 y el solvente se evaporó (Modelo RV 10 basic S1, IKA, Staufen, DEU) a 45 °C y -90 kPa. El extracto concentrado se almacenó a 4 °C hasta su uso.

### **Capacidad antioxidante**

#### **Actividad de captación de radicales (RSA) por ABTS<sup>+</sup>**

La RSA por ABTS<sup>+</sup> se realizó siguiendo la metodología propuesta por Vilchis-Gómez et al. (2024) utilizando una solución madre de ABTS<sup>+</sup> (2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.), a 7 mM en persulfato de potasio (2.45 mM) (Sigma-Aldrich). La solución se mantuvo en oscuridad a 25 °C durante 15 h. La solución madre se diluyó en agua destilada y se ajustó a una absorbancia de 0.70 ± 0.02 a 734 nm. Luego, se mezclaron 50 µL del extracto (0.5 – 6 mg/mL) con 950 µL de ABTS<sup>+</sup> usando un vórtex durante 10 s. Después de un intervalo de 7 min, se midió la absorbancia a 734 nm con un espectrofotómetro (Modelo Cary 50 Bio UV-Visible, Varian, Mulgrave, Australia). La actividad captadora de radicales ABTS<sup>+</sup> se calculó (Ec 1).

$$ABTS^+ \text{ RSA (\%)} = \frac{A_{control} - A_{muestra}}{A_{control}} \times 100 \quad \text{Ecuación 1.}$$

Donde: Acontrol representa la absorbancia de la solución diluida de ABTS<sup>+</sup> y Amuestra representa la absorbancia de ABTS<sup>+</sup> después de reaccionar con la muestra de extracto.

Las curvas representan el porcentaje de RSA en el eje-y frente a la concentración de la muestra (mg/mL) en el eje-x para cada muestra. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de Trolox por gramo de peso seco (mg TE/g dw). El experimento se realizó por triplicado y se repitió tres veces.

### **Determinación de IC50**

El valor de IC50 se definió como la concentración de extracto (mg/mL) requerida para lograr el 50 % de actividad antioxidante, y se determinó a partir de la ecuación

de regresión lineal de las curvas que representan la capacidad antioxidante (%) frente a la concentración de la muestra (mg/mL) según Calderón-Chiu *et al.* (2021).

### **Determinación de contenido de fenoles solubles totales (SPC)**

Para determinar el contenido de SPC, se mezclaron 50  $\mu$ L del extracto o de la solución estándar con 1 mL de agua destilada y 0.5 mL del reactivo de fenol Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich). Luego, la mezcla se complementó con 2.5 mL de una solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 10 % (p/v), la cual se preparó gradualmente para evitar la aglomeración, y se incubó en completa oscuridad durante 20 min a 25 °C. La absorbancia se midió a 735 nm usando un espectrofotómetro. Para el blanco, se utilizó agua destilada. Se preparó una curva estándar utilizando ácido gálico (Sigma-Aldrich) (0.025–0.5 mg/mL;  $y = 1.6125x - 0.0297$ ;  $r^2 = 0.9993$ ; donde  $y$  representa la absorbancia, y  $x$  la concentración de la solución iónica) (Liu *et al.*, 2009). Los resultados de SPC se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de peso seco (mg GAE/g dw). El experimento se realizó por triplicado y se repitió tres veces.

### **Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de *D. carthagenensis***

#### **Preparación del patógeno fúngico**

El hongo fitopatógeno evaluado en este estudio fue previamente aislado y caracterizado filogenéticamente. *R. stolonifer* ATR1 (Número de acceso: OP683835) de yaca (*A. heterophyllum* L.) (Ayón-Macias *et al.*, 2023) pertenece a la colección de hongos del Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Instituto Tecnológico de Tepic. *R. stolonifer* ATR1 se criopreservó en glicerol al 80 % (v/v) a -80 °C hasta su uso. El hongo se cultivó en placas de Petri con Agar Papa Dextrosa (PDA) (Becton Dickinson & Co., Estado de México, México) e incubó a 28 °C durante 3 días. La suspensión de esporas se preparó de la siguiente manera: se añadieron 15 mL de solución estéril de NaCl al 0.85 % al cultivo y se raspó con un asa estéril. El líquido se filtró y recolectó en un tubo cónico. La concentración de esporas se ajustó a  $1 \times 10^5$  esporas/mL con un hemocitómetro (LO-Laboroptik Ltd, Lancing, Reino Unido), según lo descrito por González-Gutiérrez *et al.* (2023).

#### **Actividad antifúngica *in vitro***

La actividad antifúngica *in vitro* se realizó de acuerdo a Covarrubias-Rivera *et al.* (2022). Diferentes concentraciones del extracto de *D. carthagenensis* (1, 3, 5, 7, and 9 mg/mL) fueron mezcladas individualmente con PDA y luego se vertieron en placas de Petri. El agar se dejó solidificar y secar a 25 °C durante 1 h. Cada placa se perforó en el centro y después se inocularon 20  $\mu$ L de la suspensión de esporas ( $1 \times 10^5$  esporas/mL) de *R. stolonifer* ATR1. El control positivo consistió en placas de Petri con PDA y el hongo patógeno. Las placas de Petri se incubaron a 28 °C durante ocho días. Al final del experimento, se midió la colonia fúngica y se calculó la inhibición del crecimiento micelial (Ec 2). Para calcular la concentración mínima inhibitoria (MIC), se obtuvieron los valores de la ecuación lineal trazando el diámetro del crecimiento

micelial contra la concentración del extracto. Se aplicó un diseño estadístico unifactorial y la variable de respuesta evaluada fue el porcentaje de inhibición *in vitro*. El experimento consistió en tres repeticiones y cinco réplicas por tratamiento.

$$\text{Inhibición del crecimiento micelial (\%)} = \left[ \frac{CP-ET}{CP} \right] \times 100 \quad \text{Ecuación 2.}$$

Donde: CP (control del patógeno) fue el diámetro promedio del hongo sin extracto y ET (tratamiento con extracto) fue el diámetro promedio del hongo en presencia del extracto de *D. carthagenensis*.

### Actividad antifúngica *in vivo*

La actividad antifúngica *in vivo* del extracto de *D. carthagenensis* se evaluó contra *R. stolonifer* en frutos de yaca cv. Romina. Brevemente, se hicieron tres orificios por yaca utilizando un punzón estéril (5 mm de profundidad y 5 mm de ancho). Cada orificio se roció con 2 mL del extracto (MIC 11.08 mg/mL) disuelto en agua destilada estéril. Las yacas se dejaron secar al aire durante 1 hora. Posteriormente, se inocularon 15  $\mu$ L de la suspensión de esporas de *R. stolonifer* ( $1 \times 10^5$  esporas/mL) en cada orificio (Ayón-Macias *et al.*, 2023). El tratamiento control solo fue inoculado con la suspensión de esporas. Los frutos se almacenaron en una cámara (Modelo CA-550, Novatech Ltd, Kingwood, EE.UU.) a  $25 \pm 1$  °C y 95 % de humedad relativa durante cinco días (González-Gutiérrez *et al.*, 2024). Al final del experimento, se evaluó la severidad de los síntomas utilizando una escala de categorías del 0 al 4, donde 0= sin pudrición visible; 1= 1 a 25 %; 2= 25 a 50 %; 3= 50 a 75 %; y 4= >75 % de la superficie de la yaca con pudrición blanda (Guarnaccia *et al.*, 2016). Además, se midió el diámetro de la lesión producida por *R. stolonifer* para determinar la severidad (mm), y se calculó la incidencia de la enfermedad (Ec 3). Se aplicó un diseño estadístico univariado y la variable de respuesta evaluada fue la incidencia de la enfermedad. El experimento consistió en tres repeticiones con tres réplicas por tratamiento y cinco yacas por réplica.

$$\text{Incidencia de la enfermedad (\%)} = \frac{\text{Numero de frutos infectados}}{\text{Frutos totales}} (100) \quad \text{Ecuación 3.}$$

### Perfil de polifenoles por HPLC-UV-Vis

El extracto se evaporó hasta quedar seco en un evaporador rotatorio a 50 °C. Los residuos secos se disolvieron en 2 mL de fase móvil. Después, la muestra fue filtrada a través de un filtro de jeringa PTFE de 0.45  $\mu$ m (Millipore, Milford, EE. UU.) directamente en viales de muestra (Marcillo -Parra *et al.*, 2021). La identificación de los HVBCs de *D. carthagenensis* se realizó de acuerdo con Lerma-Torres *et al.* (2019) utilizando un HPLC-UV-Vis (Modelo HPLC 210, detector UV-Vis Modelo 320, Varian ProStar, EE. UU.). La separación se llevó a cabo en una columna Shimadzu CLC-ODS (C18) (25 cm  $\times$  4.6 mm  $\times$  5  $\mu$ m) a 25 °C. La fase eluente consistió en el solvente A (3 % de ácido acético en agua) y el solvente B (acetonitrilo). Las condiciones del proceso fueron una inyección de 10  $\mu$ L, presión de 167 bares, una tasa de flujo de 1 mL/min, y un tiempo de corrida de 16 min. El programa se llevó a cabo en gradiente comenzando con 90 % de eluente A y 10 % de B, luego 6 min de 20 % A y 80 % B, y finalmente 10 min con 90 % A y 10 % de eluente B. La longitud de onda de detección

fue de 254 nm. La identificación de los HVBCs se logró comparando el tiempo de retención de los picos con estándares auténticos.

### Análisis estadístico

Los resultados se presentaron como la media  $\pm$  desviación estándar de tres repeticiones. El análisis estadístico se realizó utilizando el software STATISTICA versión 12.0 para Windows (StatSoft, Inc). Los datos se sometieron a un análisis de varianza de una vía. Para comparar las medias, se empleó la prueba post-hoc LSD de Fisher ( $p \leq 0.05$ ). Se utilizó Microsoft Office Excel 2019 (Microsoft Corporation, Redmond, CA, EE.UU.) para calcular los valores de la MIC a través de la actividad antifúngica *in vitro*.

## Resultados y Discusión

### Capacidad antioxidante del extracto de *D. carthagenensis*

La actividad antioxidante del extracto de *D. carthagenensis* cuantificada por ABTS<sup>+</sup> fue de  $48.34 \pm 1.3$  (mg TE/g dw) (Tabla 1). La actividad antioxidante de *D. carthagenensis* se debe a la estructura química de los compuestos fenólicos (anillo aromático hidroxilado, grupo carboxílico o grupo metoxilo) (El-Nagar *et al.*, 2020) que permiten la estabilización y reubicación de electrones no apareados, facilitando la donación de átomos de hidrógeno y electrones desde sus grupos hidroxilo (Chaves *et al.*, 2020). Para este parámetro, a medida que el valor aumenta, la actividad antioxidante también aumenta. Sin embargo, se han reportado valores más bajos en otros estudios, como los extractos de *Terminalia arjuna* ( $6.99 \pm 0.31$ ), *Glycyrrhiza glabra* ( $3.34 \pm 0.14$ ) y *Vitex negundo* ( $2.53 \pm 0.12$  mg TE/g dw) (Rajurkar & Hande, 2011). Además, la concentración del extracto para inhibir el 50 % de los radicales ABTS<sup>+</sup> fue de  $0.011 \pm 0.003$  mg/mL (Tabla 1). La actividad contra el radical DPPH fue relevante en comparación con otros, por ejemplo, el extracto de *Adelia ricinella* con IC<sub>50</sub> = 0.45 mg/mL (Berenguer-Rivas *et al.*, 2018). Esto evidencia que *D. carthagenensis* tiene una mayor actividad antioxidante, ya que se necesita menos extracto para inhibir la formación de radicales.

Por otro lado, el extracto de *D. carthagenensis* presentó  $52.23 \pm 0.57$  mg GAE/g de peso seco (Tabla 1). En contraste con otros estudios, *D. carthagenensis* mostró un SPC superior al del extracto etanólico de hojas de yaca ( $36 \pm 1.75$ ) (Vázquez-González *et al.*, 2020), al de la planta medicinal *Acacia nilotica* ( $15.88 \pm 0.54$ ) (Rajurkar & Hande, 2011) y al del extracto de *Colocasia esculenta* (15 mg GAE/g dw) (Eleazu, 2016). Las diferencias de SPC varían según la especie vegetal, el tejido vegetal, el estado de desarrollo y factores ambientales, como temperatura, estrés hídrico y condiciones de luz (Chaves *et al.*, 2020). El resultado para *D. carthagenensis* es aceptable, ya que un alto contenido de SPC conduce a un gran potencial antioxidante del extracto. La determinación de la actividad antioxidante de *D. carthagenensis* podría contribuir a revelar el valor de esta especie como una nueva fuente de compuestos antioxidantes.

**Tabla 1. Actividad antioxidante por ABTS, IC50 y contenido fenólico total del extracto de *D. carthagenensis*.**

Propiedades	Extracto etanólico <i>D. carthagenensis</i>
ABTS <sup>+</sup> (mg TE/g dw)	48.34 ± 1.3
IC50 radical ABTS <sup>+</sup> (mg/mL)	0.011 ± 0.003
Fenoles solubles totales (mg GAE/g dw)	52.23 ± 0.57

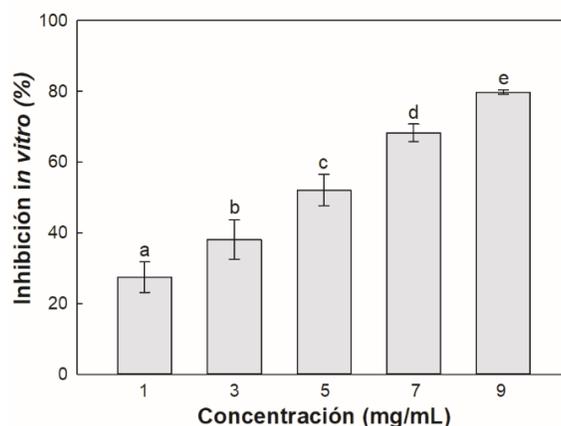
Fuente: Elaboración propia con base en resultados.

### **Evaluación *in vitro* del extracto de *D. carthagenensis* contra *R. stolonifer***

El extracto de *D. carthagenensis* a concentraciones inferiores a 5 mg/mL controló de manera moderada el crecimiento micelial de *R. stolonifer*. La actividad antifúngica fue mayor conforme aumentó la concentración del extracto ( $p < 0.05$ ) (Figura 1). *R. stolonifer* fue inhibido entre un 27.46 % y un 79.71 % (Figura 1). Estos resultados mostraron una mayor efectividad en comparación con los extractos herbales de Lamiaceae, que inhibieron a *R. stolonifer* en un 36.71 % (López *et al.*, 2007).

La efectividad del extracto en la inhibición de diferentes hongos se atribuye a diferencias en la composición de su pared celular (Covarrubias-Rivera *et al.*, 2022), características específicas de los patógenos, como la tasa de crecimiento, genes asociados con factores patogénicos, entre otros (Yang *et al.*, 2019), y al contenido total de fenoles (Chaves *et al.*, 2020). Los compuestos fenólicos en los extractos de plantas juegan un papel fundamental en las actividades antioxidante y antifúngica. Estos compuestos pueden actuar generalmente a través de cuatro mecanismos posibles: interferencia en la estructura celular y biosíntesis celular, inhibición del mecanismo energético y actividad multisitio (Aguilar-Veloz *et al.*, 2020).

En este estudio, a partir de 7 mg/mL de extracto, *R. stolonifer* presentó una importante sensibilidad *in vitro* (> 65 % de inhibición del crecimiento micelial). Basado en el resultado de la MIC (11.08 mg/mL), se logró la inhibición total de *R. stolonifer*. El coeficiente  $R^2$  fue 0.9484, el cual se ajustó adecuadamente con un valor superior a 0.8 (Tabla 2). Considerando que la efectividad depende de la concentración del extracto, así como de la susceptibilidad y características del hongo, se evaluó el efecto antifúngico del extracto de *D. carthagenensis* en frutos de yaca contra *R. stolonifer*.



**Figura 1. Inhibición *in vitro* de *R. stolonifer* con extracto de *D. carthagenensis*.** Los datos son la media y las líneas verticales representan la desviación estándar. Los valores medios con la misma letra minúscula indican que no existe diferencia significativa entre los tratamientos según la prueba LSD de Fisher ( $p < 0.05$ ). Fuente: Elaboración propia con base en resultados.

**Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria (MIC) de *R. stolonifer* con extracto de *D. carthagenensis*.**

Hongo fitopatógeno	Parámetro	Ecuación de regresión	R <sup>2</sup>	MIC (mg/mL)	Inhibición <i>in vitro</i> (%)
<i>R. stolonifer</i>	$\phi$ Max	$y = -0.6559x + 7.2662$	0.9484	11.08	100 ± 0.0

Fuente: Elaboración propia con base en resultados.

### Identificación de los HVBCs del extracto de *D. carthagenensis* por HPLC

Siete HVBCs del extracto de *D. carthagenensis* fueron identificados mediante HPLC-UV-Vis. El ácido gálico y la vainillina fueron los compuestos principales en las hojas de *D. carthagenensis*, con concentraciones en el extracto de 10.03 y 2.70 mg/mL, respectivamente (Tabla 3). El tiempo de retención de todos los compuestos coincidió con los estándares. Estos HVBCs han sido identificados en diversos extractos de plantas como *Cymbopogon citratus*, *Tinospora cordifolia*, *Mentha arvensis*, *Camellia sinensis*, *Foeniculum vulgare*, *Trachyspermum ammi* (Mueed *et al.*, 2023), *A. heterophyllus* (Vázquez-González *et al.*, 2020) y *Randia monantha* (Vilchis-Gómez *et al.*, 2024). Asimismo, se encuentran en frutas y vegetales como mango (Kumar *et al.*, 2021), col, apio, espinacas, lechuga, brócoli, tomate, manzana y durazno (Sakakibara *et al.*, 2003), entre otros.

Este es el primer estudio que reporta los HVBCs de *D. carthagenensis*. Esta investigación puede contribuir a definir las posibles propiedades farmacológicas, el valor como fuente de antioxidantes y la actividad antifúngica del extracto. En estudios previos, se ha elucidado el mecanismo antifúngico específico de los compuestos

identificados (Tabla 3). Con base a esto, identificar y entender el mecanismo de acción de las estructuras fenólicas es importante para diseñar y desarrollar estrategias naturales y efectivas para el control de enfermedades fúngicas, como es el caso de la aplicación *in vivo* del extracto contra *R. stolonifer* en yaca durante la etapa poscosecha.

Las yacas almacenadas a  $25 \pm 1$  °C mostraron síntomas de enfermedad después de 2 días. Al final de la prueba, los frutos tratados con extracto de *D. carthagenensis* y los frutos control presentaron una incidencia del 100 % ( $p > 0.05$ ). Sin embargo, el diámetro de las lesiones en los frutos tratados ( $5.0 \pm 0.44$  cm) fue 7.2 cm menor que en los controles ( $12.2 \pm 1.01$  cm) (Figura 2a). Además, de acuerdo con la escala de severidad, los frutos tratados y controles se categorizaron entre 1-25 % y 50-75 % de pudrición blanda, respectivamente (Figura 2b). El extracto de *D. carthagenensis* redujo la severidad de la pudrición blanda en un 59 % y los signos de la enfermedad se manifestaron como áreas marrones, acuosas y blandas cubiertas por micelio grisáceo y una masa de esporangios negros (Figura 2c).

Este estudio confirmó, por primera vez, la actividad antifúngica *in vitro* e *in vivo* del extracto de *D. carthagenensis* contra *R. stolonifer*. Considerando que el ácido gálico y la vainillina son los principales HVBCs en el extracto, el comportamiento en cuanto a la actividad antifúngica se debe principalmente a estos compuestos. De esta manera, el ácido gálico puede unirse al ergosterol (un componente de las membranas celulares fúngicas) y causar permeabilidad de la membrana e inhibición de las enzimas involucradas en la síntesis de ergosterol (Li *et al.*, 2017; Carvalho *et al.*, 2018). La vainillina puede interrumpir la membrana celular fúngica y producir una fuga de iones en las células, afectar la homeostasis de la membrana intracelular y extracelular, y generar explosiones oxidativas que atacan los ácidos grasos insaturados de la membrana (Li *et al.*, 2021; 2022).

Por otro lado, el ácido cafeico, el ácido clorogénico, el ácido vanílico, la escopoletina y la mangiferina, presentes en menores concentraciones, pueden contribuir a la inhibición de *R. stolonifer* y otros hongos patógenos. Algunos ejemplos son *Candida auris* (Possamai-Rossatto *et al.*, 2021), *Fusarium solani* (Martínez *et al.*, 2017), *Sclerotium rolfsii* (Yousaf *et al.*, 2023), *C. gloeosporioides* y *P. digitatum* (Vilchis-Gómez *et al.*, 2024), respectivamente, para cada compuesto. Estos compuestos químicos pueden causar permeabilidad de las células fúngicas, alteración del metabolismo celular, daño al material genético e inhibición de la síntesis de proteínas (Tabla 3). Estos mecanismos podrían impactar en la reducción de la germinación de esporas y la capacidad de *R. stolonifer* para formar el apresorio, afectando así el ciclo de vida y la estrategia de colonización del hongo.

### **Evaluación *in vivo* del extracto de *D. carthagenensis* contra *R. stolonifer* en yaca**

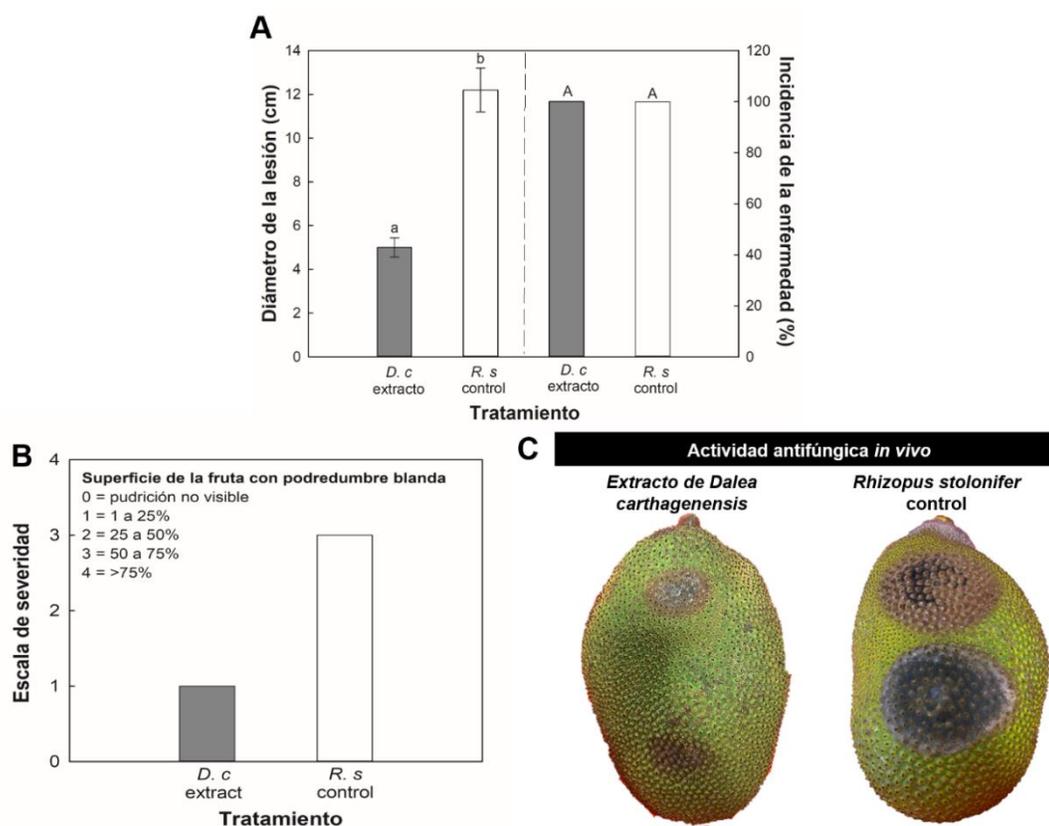
Aunque se han aplicado estrategias naturales considerables contra *R. stolonifer*, nuestros hallazgos mostraron que el extracto de *D. carthagenensis* solo disminuyó la severidad de la pudrición blanda en yacas. Este resultado se debe a que la eficacia de los antioxidantes está influenciada por factores como la concentración, las características estructurales, la temperatura y el estado físico del sistema (Shahidi &

Zhong, 2015). Por esta razón, para garantizar una mayor bioactividad y estabilidad de los HVBCs durante la prueba *in vivo*, es necesario desarrollar estrategias de aplicación del extracto como microcápsulas, recubrimientos comestibles o películas. Los resultados de este estudio son útiles para prevenir el daño causado por *R. stolonifer* en frutos y también ofrecen una alternativa ecológica para reducir el uso de fungicidas sintéticos y disminuir las pérdidas poscosecha de yaca.

**Tabla 3. Compuestos químicos identificados por HPLC-UV-Vis en el extracto de *D. carthagenensis*.**

Compuesto identificado	Formula molecular	RT (min)	Concentración del extracto (mg/mL)	Actividad antifúngica	Referencia
Ácido cafeico	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	1.95	1.73	-Inhibición de la 1,6-β- y 1,3-β-glucano sintetasa -Permeabilidad de las células fúngicas	(Ma & Ma, 2015; Possamai-Rossatto <i>et al.</i> , 2021)
Ácido clorogénico	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	1.33	1.23	-Permeabilización de la membrana en esporas fúngicas -Reducción de la germinación de esporas -Disminución de la capacidad para formar el apresorio -Inhibición de 1,6-β-glucano sintetasa	(Ma <i>et al.</i> , 2007; Martínez <i>et al.</i> , 2017)
Ácido gálico	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	0.74	10.03	-Inhibición de la biosíntesis de ergosterol (no regulación de las enzimas acopladas a la membrana y permeabilidad de la membrana)	(Li <i>et al.</i> , 2017)
Ácido vanílico	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	1.95	1.98	-Reducción del crecimiento -Alteración del metabolismo celular -Causa estrés oxidativo y daño a las hifas	(Yousaf <i>et al.</i> , 2023)
Escopoletina	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	2.55	1.64	-Permeabilidad de las células fúngicas -Aumento de la liberación de nucleótidos -Puede unirse a proteínas de transporte tipo ABC para obstaculizar la estructura terciaria e inhibir las funciones proteicas	(Vilchis-Gómez <i>et al.</i> , 2024)
Mangiferina	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	0.65	0.28	-Disrupción de la pared celular -Fuga de proteínas y enzimas -Daño al material genético -Inhibición de la síntesis de proteínas	(Kumar <i>et al.</i> , 2021)
Vainillina	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	2.35	2.70	-Destruye la integridad de las membranas celulares (componentes inherentes, sintetasa, canales/transportadores de iones) -Disrupción de las paredes celulares (capas internas y externas) -Produce explosiones oxidativas que atacan los lípidos de la membrana	(Li <i>et al.</i> , 2021; 2022)

RT: tiempo de retención, \* Actividad antifúngica reportada en otros estudios. Fuente: Elaboración propia en base a resultados.



**Figura 2. Inhibición *in vivo* de *R. stolonifer* con extracto de *D. carthagenensis* (A), escala de severidad de podredumbre blanda (B) y efecto del extracto en el control de la podredumbre blanda en el exocarpio de yacas almacenadas a 25 °C durante 5 días (C). *D.c.* extracto: extracto de *D. carthagenensis* y *R.s* control: control de *R. stolonifer*. Los datos son la media y las líneas verticales representan la desviación estándar. El experimento consistió en tres repeticiones con tres réplicas por tratamiento y cinco yacas por réplica. Los valores medios con la misma letra minúscula y los valores con la misma letra mayúscula indican que no existe diferencia significativa entre los tratamientos según la prueba LSD de Fisher ( $p < 0.05$ ). Fuente: Elaboración propia con base en resultados.**

## Conclusiones

La eficacia y el uso prospectivo del extracto de *D. carthagenensis* fueron evidenciados. El ensayo *in vitro* demostró el espectro de actividad antifúngica del extracto de *D. carthagenensis* contra *R. stolonifer*. La actividad antifúngica *in vivo* del extracto sugiere su potencial uso como una alternativa efectiva, segura y ecológica para controlar la pudrición blanda en yaca. Los hallazgos podrían contribuir a reducir el uso de fungicidas sintéticos, disminuir las pérdidas poscosecha y ofrecer una nueva solución natural para los productores de yaca. En el futuro, se llevará a cabo la microencapsulación del extracto para garantizar una alta bioactividad y estabilidad de los HVBCs y aumentar su potencial para aplicaciones futuras.

## Contribución de los autores

Conceptualización (MCS, JARS), Investigación (MCS, KNGG, DSVG), Metodología (MCS, KNGG, DSVG, JEDR, JARS) Supervisión (MCS, JARS), Validación (JARS), Adquisición de fondos (MCS, JARS), Redacción - revisión & edición (MCS, KNGG, DSVG, JARS), Visualización (MCS), Curación de datos (KNGG), Análisis formal (KNGG, DSVG, JEDR), Administración del proyecto (JARS). Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada.

## Financiamiento

Esta investigación no recibió financiamiento externo.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a CYTED por el apoyo a través de la red número 319RT0576.

## Conflicto de interés

Los autores declaran que no tienen conflictos de interés.

## Referencias

- Aguilar-Veloz, L. M., Calderón-Santoyo, M., Vázquez-González, Y. & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2020). Application of essential oils and polyphenols as natural antimicrobial agents in postharvest treatments: Advances and challenges. *Food Science & Nutrition*, 8(6), 2555–2568. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1437>
- Ayón-Macias, K. D., Ragazzo-Sánchez, J. A., Narváez-Zapata, J. A., Damasceno-Gomes, S. & Calderón-Santoyo, M. (2023). *Meyerozyma* strains as biocontrol agents against postharvest phytopathogens of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 56(15), 1180–1204. <https://doi.org/10.1080/03235408.2023.2276098>
- Barros-Castillo, J. C., Calderón-Santoyo, M., Cuevas-Glory, L. F., Pino, J. A. & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2021). Volatile profiles of five jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) cultivars grown in the Mexican Pacific area. *Food Research International*, 139. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109961>
- Bautista-Baños, S., Bósquez-Molina, E. & Barrera-Necha, L. L. (2014). *Rhizopus stolonifer* (Soft Rot). In Bautista-Baños, S. *Postharvest Decay*. (pp. 1–44). Ed. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411552-1.00001-6>
- Berenguer-Rivas, A. C., Mas-Ortiz, M., Batista-Corbál, P., Costa-Acosta, J. & Escalona-Arranz, J. C. (2018). Chemical composition and *in-vitro* antioxidant activity of extracts of *Adelia ricinella* L. *Revista Cubana de Química*, 30(2), 191–209. <https://cubanaquimica.uo.edu.cu/index.php/cq/article/view/3658>
- Calderón-Chiu, C., Calderón-Santoyo, M., Herman-Lara, E. & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2021). Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam) leaf as a new source to obtain protein hydrolysates: Physicochemical characterization, techno-functional properties and antioxidant capacity. *Food Hydrocolloids*, 112, 106319. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106319>

- Carvalho, R. S., Carollo, C. A., de Magalhães, J. C., Palumbo, J. M. C., Boaretto, A. G., Nunes e Sá, I. C., Ferraz, A. C., Lima, W. G., de Siqueira, J. M. & Ferreira, J. M. S. (2018). Antibacterial and antifungal activities of phenolic compound-enriched ethyl acetate fraction from *Cochlospermum regium* (mart. Et. Schr.) Pilger roots: Mechanisms of action and synergism with tannin and gallic acid. *South African Journal of Botany*, 114, 181–187. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.11.010>
- Chaves, N., Santiago, A. & Alías, J. C. (2020). Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. *Antioxidants*, 9(1), 76. <https://doi.org/10.3390/antiox9010076>
- Chen, F., Miao, X., Lin, Z., Xiu, Y., Shi, L., Zhang, Q., Liang, D., Lin, S. & He, B. (2021). Disruption of metabolic function and redox homeostasis as antibacterial mechanism of *Lindera glauca* fruit essential oil against *Shigella flexneri*. *Food Control*, 130, 108282. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108282>
- Covarrubias-Rivera, L., López-Cruz, R., Ragazzo-Sánchez, J. A., Iñiguez-Moreno, M. & Calderón-Santoyo, M. (2022). Determination by isothermal microcalorimetry of the sensitivity of phytopathogenic fungi of tropical fruits against an ethanolic extract of jackfruit leaf (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). *Journal of Microbiological Methods*, 195, 106457. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2022.106457>
- El-Nagar, A., Elzaawely, A. A., Taha, N. A. & Nehela, Y. (2020). The antifungal activity of gallic acid and its derivatives against *Alternaria solani*, the causal agent of tomato early blight. *Agronomy*, 10(9), 1402. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091402>
- Eleazu, C. O. (2016). Characterization of the natural products in cocoyam (*Colocasia esculenta*) using GC–MS. *Pharmaceutical Biology*, 54(12), 2880–2885. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1190383>
- Ghosh, R., Barman, S., Mukhopadhyay, A. & Mandal, N. C. (2015). Biological control of fruit-rot of jackfruit by rhizobacteria and food grade lactic acid bacteria. *Biological Control*, 83, 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.12.020>
- González-Gutiérrez, K. N., Ragazzo-Sánchez, J. A., Barros-Castillo, J. C., Narváez-Zapata, J. A. & Calderón-Santoyo, M. (2023). Yeasts with potential biocontrol of *Colletotrichum gloeosporioides* in avocado (*Persea americana* Mill. cv. Hass) and characterization of *Yamadazyma mexicana* mechanisms. *European Journal of Plant Pathology*, 165(3), 525–543. <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02625-4>
- González-Gutiérrez, K. N., Ragazzo-Sánchez, J. A. & Calderón-Santoyo, M. (2024). Bioformulation of *Yamadazyma mexicana* LPa14 by electrospraying process: Anthracnose control and effect on postharvest quality of avocado fruit. *Biological Control*, 190, 105449. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2024.105449>
- Guarnaccia, V., Vitale, A., Cirvilleri, G., Aiello, D., Susca, A. & Epifani, F., Perrone, G. & Polizzi, G. (2016). Characterisation and pathogenicity of fungal species associated with branch cankers and stem-end rot of avocado in Italy. *European Journal of Plant Pathology*, 146, 963–976. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-0973-z>
- Hu, Z., Yuan, K., Zhou, Q., Lu, C., Du, L. & Liu, F. (2021). Mechanism of antifungal activity of *Perilla frutescens* essential oil against *Aspergillus flavus* by transcriptomic analysis. *Food Control*, 123, 107703. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107703>
- Hussin, N. M., Muse, R., Ahmad, S., Ramli, J., Mahmood, M., Sulaiman, M. R., Shukor, M. Y. A., Rahman, M. F. A. & Aziz, K. N. K. (2009). Antifungal activity of extracts and phenolic compounds from *Barringtonia racemosa* L. (Lecythidaceae). *African Journal of Biotechnology*, 8(12), 2835–2842.

- Kumar, M., Saurabh, V., Tomar, M., Hasan, M., Changan, S., Sasi, M., Maheshwari, C., Prajapati, U., Singh, S., Prajapat, R. K., Dhumal, S., Punia, S., Amarowicz, R. & Mekhemar, M. (2021). Mango (*Mangifera indica* L.) leaves: Nutritional composition, phytochemical profile, and health-promoting bioactivities. *Antioxidants*, 10(2), 299. <https://doi.org/10.3390/antiox10020299>
- Laribi, B., Amri, I., Bettaieb, T. & Hamrouni, L. (2021). Phytochemical evaluation and *in vitro* antifungal activities of *Melaleuca styphelioides* leaves: Comparison between volatile and non-volatile extracts. *Plant Biosystems*, 155(1), 54–63. <https://doi.org/10.1080/11263504.2020.1727986>
- Lázaro, E., Makowski, D. & Vicent, A. (2021). Decision support systems halve fungicide use compared to calendar-based strategies without increasing disease risk. *Communications Earth & Environment*, 2(1), 224. <https://doi.org/10.1038/s43247-021-00291-8>
- Jerma-Torres, J. M., Navarro-Ocaña, A., Calderón-Santoyo, M., Hernández-Vázquez, L., Ruiz-Montañez, G. & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2019). Preparative scale extraction of mangiferin and lupeol from mango (*Mangifera indica* L.) leaves and bark by different extraction methods. *Journal of Food Science and Technology*, 56(10), 4625–4631. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03909-0>
- Li, Q., Zhu, X., Zhong, Y. & Xie, Y. (2021). *o*-Vanillin, a promising antifungal agent, inhibits *Aspergillus flavus* by disrupting the integrity of cell walls and cell membranes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(12), 5147-5158. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11371-2>
- Li, Q., Zhu, X., Zhao, Y. & Xie, Y. (2022). The antifungal activity of *o*-vanillin against *Aspergillus flavus* via disrupting ergosterol biosynthesis and promoting oxidative stress, and an RNA-seq analysis thereof. *LWT - Food Science and Technology*, 164, 113635. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113635>
- Li, Z., Liu, M., Dawuti, G., Dou, Q., Ma, Y., Liu, H. & Aibai, S. (2017). Antifungal activity of gallic acid *in vitro* and *in vivo*. *Phytotherapy Research*, 31(7), 1039–1045. <https://doi.org/10.1002/ptr.5823>
- Liu, S., Lin, J., Wang, C., Chen, H. & Yang, D. (2009). Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) flowers. *Food Chemistry*, 114(2), 577–581. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.088>
- López, V., Akerreta, S., Casanova, E., García-Mina, J. M., Cavero, R. Y. & Calvo, M. I. (2007). *In vitro* antioxidant and anti-rhizopus activities of Lamiaceae herbal extracts. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62(4), 151–155. <https://doi.org/10.1007/s11130-007-0056-6>
- Ma, C., Kully, M., Khan, J. K., Hattori, M. & Daneshalab, M. (2007). Synthesis of chlorogenic acid derivatives with promising antifungal activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15(21), 6830–6833. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.07.038>
- Ma, J. & Ma, C. (2015). Antifungal inhibitory activities of caffeic and quinic acid derivatives. In Preedy, V. *Coffee in Health and Disease Prevention*. (pp. 635-641). Ed. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00071-1>
- Marcillo-Parra, V., Anaguano, M., Molina, M., Tupuna-Yerovi, D. S., & Ruales, J. (2021). Characterization and quantification of bioactive compounds and antioxidant activity in three different varieties of mango (*Mangifera indica* L.) peel from the Ecuadorian region using HPLC-UV/VIS and UPLC-PDA. *NSF Journal*, 23, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2021.02.001>
- Martínez, G., Regente, M., Jacobi, S., Del Río, M., Pinedo, M. & de la Canal, L. (2017). Chlorogenic acid is a fungicide active against phytopathogenic fungi. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 140, 30–35.

<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.05.012>

- Montes-de-Oca-Márquez, C., Hernández-Delgado, C. T., Orozco-Martínez, J., García-Bores, A. M., Ávila-Acevedo, J. G., Ortiz-Melo, M. T., Peñalosa-Castro, I., López-Moreno, G. & Serrano-Parrales, R. (2017). Actividad antibacteriana y antifúngica de *Dalea carthagenensis* (JACQ.) *Revista Fitotecnia Mexicana*, 40(2), 161–168. <https://doi.org/10.35196/rfm.2017.2.161-168>
- Mueed, A., Shibli, S., Al-Quwaie, D. A., Ashkan, M. F., Alharbi, M., Alanazi, H., Binothman, N., Aljadani, M., Majrashi, K. A., Huwaikem, M., Abourehab, M. A. S., Korma, S. A. & El-Saadony, M. T. (2023). Extraction, characterization of polyphenols from certain medicinal plants and evaluation of their antioxidant, antitumor, antidiabetic, antimicrobial properties, and potential use in human nutrition. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1125106. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1125106>
- Possamai-Rossatto, F. C., Tharmalingam, N., Escobar, I. E., Zimmer, K.R., d' Azevedo P. A. & Mylonakis, E. (2021). Antifungal activity of the phenolic compounds ellagic acid (EA) and caffeic acid phenethyl ester (CAPE) against drug-resistant *Candida auris*. *Journal of Fungi*, 7, 763. <https://doi.org/10.3390/jof7090763>
- Rajurkar, N. & Hande, S.M. (2011). Estimation of phytochemical content and antioxidant activity of some selected traditional Indian medicinal plants. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73(2), 146. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.91574>
- Sakakibara, H., Honda, Y., Nakagawa, S., Ashida, H. & Kanazawa, K. (2003). Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (ACS Publications). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 571–581. <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf020926i>
- Shahidi, F. & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>
- Torgbo, S., Sukatta, U., Kamonpatana, P. & Sukyai, P. (2022). Ohmic heating extraction and characterization of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel extract with enhanced antioxidant and antifungal activity as a bioactive and functional ingredient in white bread preparation. *Food Chemistry*, 382, 132332. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132332>
- Vázquez-González, Y., Ragazzo-Sánchez, J. A. & Calderón-Santoyo, M. (2020). Characterization and antifungal activity of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) leaf extract obtained using conventional and emerging technologies. *Food Chemistry*, 330, 127211. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127211>
- Vilchis-Gómez, D. S., Calderón-Santoyo, M., Barros-Castillo, J. C., Zamora-Gasga, V. M. & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2024). Ultrasound assisted extraction of polyphenols from *Randia monantha*: Optimization, characterization, and antifungal activity. *Industrial Crops and Products*, 209, 117932. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117932>
- Yang, Q., Qian, X., Dhanasekaran, S., Boateng, N. A. S., Yan, X., Zhu, H., He, F. & Zhang, H. (2019). Study on the infection mechanism of *Penicillium digitatum* on postharvest citrus (*Citrus reticulata* blanco) based on transcriptomics. *Microorganisms*, 7(12), 1–13. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120672>
- Yousaf, M., Shoaib, A., Fatima, Q., Bukhari, S., Ali, N. & Fatima, U. (2023). *In Vitro* antifungal potential of vanillic acid against *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Bioresource Management* 10(2), 01-08.
- Zohra, S. F., Meriem, B. & Samira, S. (2013). Some extracts of mallow plant and its role in health. *APCBEE Procedia*, 5, 546–550. <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2013.05.091>