



ORIGINAL

Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) en *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*

Alfonso Rodríguez-Maturino^a, Rosalba Troncoso-Rojas^b,
Alberto Sánchez-Estrada^b, Daniel González-Mendoza^{a,*}, Esau Ruiz-Sanchez^c,
Roberto Zamora-Bustillos^c, Carlos Ceceña-Duran^a, Onecimo Grimaldo-Juarez^a
y Mónica Aviles-Marin^a

^a Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Baja California (ICA-UABC), Ejido Nuevo León, Baja California, México

^b Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Dirección de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal, Hermosillo, Sonora, México

^c División de Estudios de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de Conkal, Conkal, Yucatán, México

Recibido el 5 de agosto de 2014; aceptado el 26 de diciembre de 2014

Disponible en Internet el 19 de febrero de 2015

PALABRAS CLAVE

Chiltepín;
Biocontrol;
Compuestos
bioactivos;
Alternaria alternata;
Fusarium oxysporum

Resumen En el presente estudio se evaluó el efecto de extractos fenólicos y de carotenoides procedentes de frutos de chiltepín sobre el crecimiento micelial y la germinación de conidios de *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*, 2 importantes hongos causantes de podredumbres en frutas y hortalizas. Los extractos fenólicos presentaron una inhibición en el crecimiento micelial de *A. alternata* del 38,46%, y redujeron significativamente la germinación de conidios al quinto día después del tratamiento al 92% en relación al control. No se observaron cambios significativos en el crecimiento micelial de *F. oxysporum*, pero sí se redujo significativamente al 85% en relación al control, el número de conidios germinados a los 5 días de tratamiento. Los extractos de carotenoides mostraron una inhibición del 38,5% en el crecimiento micelial y del 85,3% en la germinación de conidios de *A. alternata*, 5 días después del tratamiento. Frente a *F. oxysporum*, dichos extractos presentaron menor inhibición del crecimiento micelial (20,3%), mientras que hubo una mayor inhibición en la germinación de conidios (96%). Los extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín pueden ser una alternativa promisoriosa de importancia agrícola como fungicidas naturales.

© 2014 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: daniasaf@gmail.com (D. González-Mendoza).

KEYWORDS

Chiltepin;
Biocontrol;
Bioactive compounds;
Alternaria alternata;
Fusarium oxysporum

Antifungal effect of phenolic and carotenoids extracts from chiltepin (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) on *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum*

Abstract The effect of phenolic and carotenoid extracts from chiltepin fruits on mycelial growth and the inhibition of conidial germination of *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum* were investigated in the present work. Phenolic extracts inhibited mycelial growth of *A. alternata* by 38.46%, and significantly reduced conidial germination on the fifth day after treatment to 92% in relation to control. No significant changes were observed in the inhibition of mycelial growth in *Fusarium oxysporum*; however, the number of germinated conidia was reduced, showing 85% inhibition five days after treatment in relation to control. Moreover, carotenoid extracts showed 38.5% inhibition of mycelial growth and 85.3% inhibition of conidial germination of *A. alternata*, five days after treatment. Carotenoid extracts showed less inhibition of mycelial growth (20.3%) in *F. oxysporum*, with respect to *A. alternata*; while there was greater inhibition of conidial germination (96%) on the fifth day after treatment. Phenolic and carotenoid extracts from chiltepin may be a promising alternative as a natural fungicide against fungi of agricultural importance.

© 2014 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

Durante el almacenamiento y transporte de frutas y hortalizas, las infecciones causadas por hongos son consideradas las principales causas de podredumbres, lo cual ocasiona pérdidas económicas significativas durante su comercialización¹². La principal forma de control de los hongos causantes de podredumbres en frutas y hortalizas es mediante la aplicación de fungicidas químicos^{2,24}. Sin embargo, la presencia de hongos patógenos resistentes a la acción de los fungicidas derivados de síntesis química y la necesidad de contar con alimentos inocuos^{22,24} ha motivado la búsqueda de medidas alternativas al uso de agroquímicos que ayuden a reducir la presencia de hongos causantes de enfermedades en etapa productiva, sin afectar la salud del consumidor⁷.

Entre las alternativas para reducir la presencia de hongos en la etapa de poscosecha se contempla el uso de extractos de plantas. Estos extractos pueden ser una opción viable para sustituir las medidas actuales de control de hongos, basada en las propiedades antifúngicas de tales extractos, en su baja o nula toxicidad y en la poca persistencia en el ambiente que estos presentan comparados con los compuestos químicos^{8,15}.

Los metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana que pueden estar presentes en los extractos vegetales son terpenoides, compuestos fenólicos, fenilpropanoides, estilbenos, alcaloides y saponinas¹¹. Estos metabolitos secundarios tienen la ventaja de ser rápidamente degradados en el suelo, generalmente no presentan un efecto tóxico en mamíferos y pueden ser empleados en los sistemas de agricultura orgánica y sustentable¹⁶. Entre los metabolitos secundarios, los compuestos fenólicos (como fenoles y flavonoides) se caracterizan por tener actividad antimicrobiana¹⁹. El efecto de estos compuestos se ha observado principalmente en hongos causantes de problemas de salud en humanos, como *Candida* spp.

Se considera que el mecanismo involucrado en la actividad antimicrobiana frente a este tipo de patógenos puede

estar relacionado con la inhibición de la germinación de los conidios del hongo^{9,14}. Otro posible mecanismo puede ser la inactivación de la síntesis de aminoácidos esenciales causada por la interferencia en las reacciones del fosfoenolpiruvato, la eritrosa-4-fosfato y el ácido shiquímico, lo cual favorece la producción de triptófano y disminuye la producción de fenilalanina o tirosina⁶.

Pagnussatt *et al.*¹⁷ encontraron que compuestos fenólicos presentes en extractos obtenidos de microalgas redujeron el desarrollo de *Fusarium graminearum* mediante la inhibición de la síntesis de aminoácidos. Por otra parte, los carotenoides como la capsantina y la capsorubina, que son componentes claves asociados a la coloración roja del género *Capsicum*, pueden presentar efectos antibacteriales y antifúngicos^{4,10}. En este sentido, Wilson *et al.*²⁸ observaron que extractos de carotenoides obtenidos de *Capsicum annum*, *C. chinense* y *C. frutescens* inhibieron hasta en un 99% la germinación de conidios de *Botrytis cinerea*. No obstante, aun cuando existe información sobre el efecto antifúngico de los extractos fenólicos y de carotenoides de diferentes especies de Chile, los estudios sobre las propiedades antifúngicas del chiltepin (*Capsicum annum* L. var. *glabriusculum*), que es cosechado y consumido principalmente en la parte noroeste de México, son escasos. En el presente estudio se planteó el objetivo de evaluar el efecto *in vitro* de fenoles totales y carotenoides presentes en extractos de frutos de chiltepin sobre *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*, que son hongos de importancia agrícola en México.

Materiales y métodos

Preparación de los extractos de chiltepin

Las muestras consistieron en frutos de chiltepin (*C. annum* L. var. *glabriusculum*) en estado rojo maduro, obtenidos al azar de mercados regionales de Mexicali, B.C.,

México, de febrero a marzo del 2012. Los frutos se lavaron con agua destilada estéril, seguido de la eliminación de semillas. Una vez realizado esto, se obtuvieron muestras compuestas de 10 g de peso fresco, que se colocaron por triplicado en recipientes de aluminio para efectuar el secado a 65 °C por 24 h en una estufa convencional (GRIEVE Modelo LO- 201C. Round Lake, Illinois, EE. UU.). Transcurrido el tiempo de secado, las muestras de chile se molieron y se pasaron por una malla o tamiz de 100 micrómetros.

Extracción de carotenoides de los frutos secos de chiltepín

Para la obtención de los carotenoides de chiltepín, el procedimiento consistió en homogenizar 1 g de la muestra con 80 ml de acetona:hexano (1:1) durante 24 h a 25 °C en oscuridad, para evitar la degradación de los carotenoides. Posteriormente, la muestra fue centrifugada a 3.500 rpm 10 min, a 4 °C. El sobrenadante obtenido (30 ml) fue colocado en un evaporador rotatorio al vacío a 60 °C, para eliminar el solvente. El producto obtenido fue colocado en campana de extracción durante toda la noche para completar la evaporación del solvente. Finalmente, las muestras obtenidas fueron almacenadas a -20 °C hasta su uso.

Extracción de compuestos fenólicos de los frutos secos de chiltepín

El procedimiento consistió en homogenizar 100 mg de la muestra de chiltepín con 5 ml de metanol al 80 % durante 45 min usando un baño ultrasónico. Posteriormente, la muestra fue centrifugada a 4.500 rpm 5 min, a 4 °C, y el sobrenadante fue filtrado usando papel de filtro de 90 mm (Fisherbrand QL125).

El precipitado obtenido fue colocado en un evaporador rotatorio a 70 °C para eliminar el resto de metanol. Finalmente, las muestras obtenidas fueron almacenadas a -20 °C hasta su uso.

Origen y conservación de los hongos fitopatógenos

Cepas de *A. alternata* y *F. oxysporum* aisladas previamente de tejidos vegetales infectados se hicieron crecer en agar papa dextrosa (APD) a 27 °C. Los patógenos fueron identificados macro y microscópicamente, de acuerdo a las claves reportadas por Simmons²³. Para mantener viables a las cepas, se realizaron subcultivos de los fitopatógenos en APD, de acuerdo a lo propuesto por Tsror et al.²⁶.

Actividad antifúngica de los extractos fenólicos y carotenoides de chiltepín

Los bioensayos para determinar la actividad antifúngica de los compuestos extraídos de chiltepín sobre los hongos fitopatógenos mencionados se realizaron en medio de cultivo APD. Para tal fin, secciones de 0,5 cm de diámetro de cultivos de *A. alternata* y *F. oxysporum* en crecimiento activo (10 días de incubación) se sembraron en el centro de cajas de Petri con APD. A continuación se realizaron 4 perforaciones de 5 mm de diámetro alrededor del hongo, a una distancia

de aquel de 2 cm. En cada perforación se colocaron 50 µl de los extractos de fenoles y carotenoides a una concentración de 100 mg/ml, considerando los trabajos de Riaz et al.²⁰ y Kappel et al.¹⁴. Como testigo se utilizaron cajas de Petri con el hongo patógeno, donde en las 4 perforaciones se colocaron 50 µl del solvente usado para la extracción de fenoles (metanol 80 %) o de carotenoides (acetona:hexano).

A los 3 y 5 días se midió el crecimiento micelial de cada uno de los hongos fitopatógenos evaluados y se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial mediante la siguiente fórmula:

Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial

$$= (R1 - R2)/R1 \times 100$$

donde *R1* es valor promedio del radio de la colonia de referencia y *R2* es el valor promedio del radio de la colonia inhibida por los extractos, como se describe en Pandey et al.¹⁸.

Inhibición de la germinación de conidios de *A. alternata* y *F. oxysporum*

Para la determinación del efecto de los extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín sobre la germinación de conidios de *A. alternata* y *F. oxysporum*, se procedió a la obtención de conidios de ambos hongos fitopatógenos. Se realizó un raspado ligero de una cepa fúngica con una espátula Drigalsky, adicionando previamente 10 ml de agua destilada estéril al medio APD. La suspensión obtenida se filtró con gasas estériles para eliminar micelio y fragmentos del medio de cultivo. Posteriormente, la suspensión de conidios de cada hongo se ajustó a una concentración de 1×10^8 conidios/ml usando una cámara de Neubauer. Dicha suspensión de conidios se mezcló con los extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín a una relación 1:1 (v/v). Una vez realizada la mezcla, se realizaron 5 puntos de siembra colocando 10 µl en una caja Petri con APD, cubriendo con un cubreobjetos cada punto. A los 3 y 5 días después de la siembra se registró el porcentaje de germinación de conidios con ayuda de un microscopio compuesto, con el objetivo de 100×. La germinación de conidios se definió como positiva cuando un tubo germinativo se extendió más de la mitad de la longitud de la célula.

El porcentaje de germinación del hongo se determinó contando al azar 100 conidios de cada punto de siembra y determinando la proporción de conidios germinados con respecto al total observado.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 3 repeticiones y se realizó el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación de $\alpha=0,05$. Además, se realizó una comparación de medias con la prueba de Tukey utilizando el paquete estadístico SAS (2000).

Resultados y discusión

Los extractos fenólicos de chiltepín inhibieron el crecimiento micelial de *A. alternata* en 41,28 % y 38,46 % al tercer

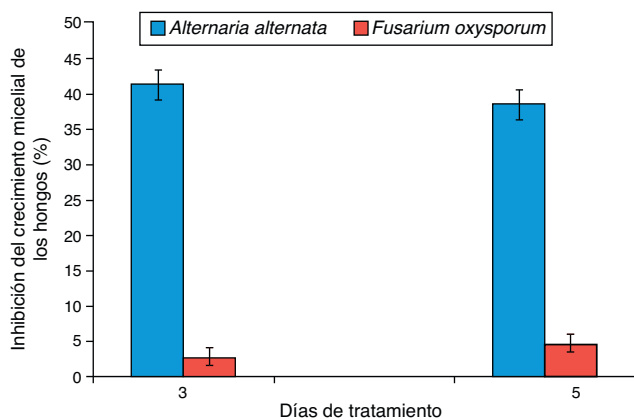


Figura 1 Inhibición del crecimiento de *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum* a los 3 y 5 días después del tratamiento con los extractos fenólicos de chiltepín.

y quinto día de evaluación, respectivamente (fig. 1). Con respecto al efecto de estos extractos sobre el número de conidios germinados, los resultados indicaron una disminución significativa al tercer y quinto día de evaluación (fig. 2). No obstante, fue al quinto día después del tratamiento donde se observó un mayor efecto inhibitorio ($5,7 \times 10^6$ conidios germinados/ml), lo que representa una reducción del 92 % en relación al control que presentó un valor de $7,1 \times 10^7$ conidios germinados/ml). Estos resultados sugieren que los compuestos fenólicos tal vez interactúan con la pared celular del hongo inhibiendo algunas enzimas fúngicas, con lo que se afectaría la germinación de conidios y el crecimiento del micelio²⁷.

En el caso de *F. oxysporum*, los extractos fenólicos no mostraron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial durante el período de evaluación (fig. 1). En cambio, se observó una disminución significativa con respecto al control en la germinación de conidios al tercer ($0,95 \times 10^7$ conidios germinados/ml) y quinto día ($1,0 \times 10^7$ conidios germinados/ml) después de la exposición (fig. 2); esta inhibición fue del 85 %. Carrillo-Parra *et al.*⁵ informaron similares resultados; estos autores observaron que el incremento

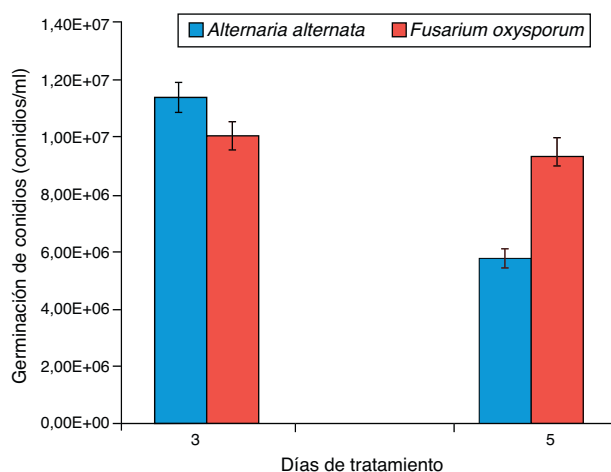


Figura 2 Germinación de conidios de *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum* a los 3 y 5 días después del tratamiento con los extractos fenólicos de chiltepín.

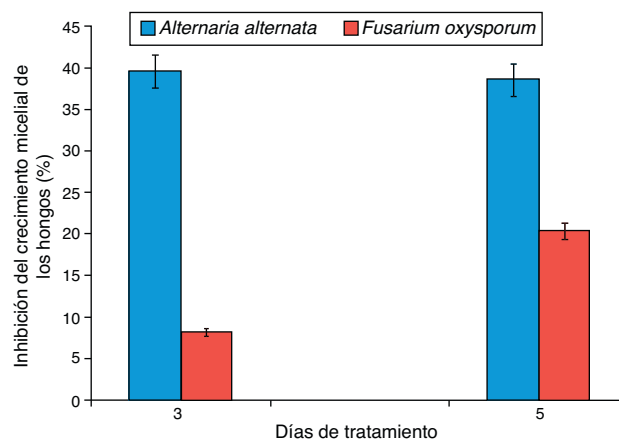


Figura 3 Inhibición del crecimiento de *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum* a los 3 y 5 días después del tratamiento con los carotenoides extraídos de chiltepín.

de las concentraciones de compuestos fenólicos y flavonoides puede inhibir de manera diferencial a *Coniophora puteana* y *Trametes versicolor*. Asimismo, Pagnussatt *et al.*¹⁷ comunicaron una disminución en el desarrollo de *Fusarium graminearum* al ser expuesto a extractos fenólicos obtenidos de microalgas. Recientemente, Ahn *et al.*¹ encontraron que el ácido gálico y el metil galato aislados de *Galla rhois* inhibe la ruta de señalamiento relacionada con el ciclo de la adenil ciclasa, que participa en la formación del apresorio de *Magnaporthe grisea*.

La actividad antifúngica observada en los extractos fenólicos de chiltepín podrían deberse a que estos compuestos podrían formar complejos con proteínas solubles y extracelulares, generando una disrupción de la pared celular de los hongos¹³. Otra posibilidad es la inhibición de rutas enzimáticas vitales, como el sistema enzimático P450 oxidasa-dependiente, mediante el bloqueo de las enzimas hidrolasas esteroides de esta ruta por los flavonoides presentes en chiltepín²⁵.

Por otra parte, los extractos de carotenoides procedentes de chiltepín generaron en *A. alternata* un efecto inhibitorio al tercer y quinto día de exposición de similar magnitud que el de los compuestos fenólicos (39,5% y 38,5%, respectivamente) (fig. 3). En cambio, el efecto inhibitorio fue menor en *F. oxysporum*: 8,75% y 20,3% al tercer y quinto día, respectivamente (fig. 3).

En cuanto al efecto de los extractos de carotenoides de chiltepín sobre la germinación de conidios, se observó que estos redujeron significativamente el número de conidios germinados de *A. alternata*, en un 85,3% a los 5 días ($7,20 \times 10^6$ conidios/ml), comparado con lo registrado al tercer día ($1,13 \times 10^7$ conidios/ml) después de la exposición. En *F. oxysporum*, el número de conidios germinados disminuyó en un 96% al pasar de $1,0 \times 10^7$ conidios/ml en el día tres a $1,5 \times 10^6$ conidios/ml observados en el día cinco (fig. 4). Estos resultados concuerdan con los hallazgos de Wilson *et al.*²⁸, quienes mencionan que extractos de carotenoides obtenidos de diferentes especies de *Capsicum* inhibieron hasta en un 99% la germinación de conidios de *B. cinerea*. En este sentido, Santos *et al.*²¹ demostraron una disminución del crecimiento y la producción de aflatoxinas de *A. flavus* al usar una mezcla de carotenoides a base de

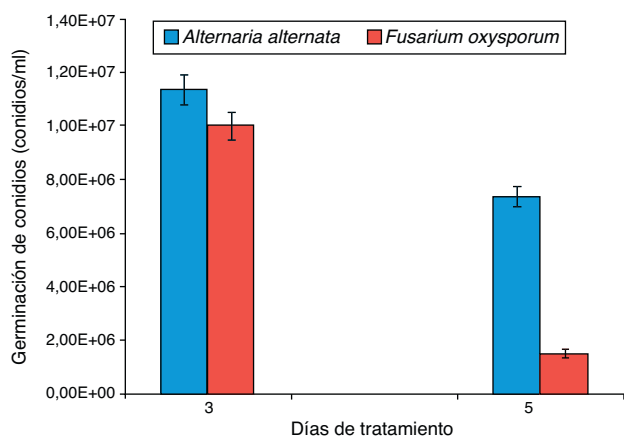


Figura 4 Germinación de conidios de *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum* a los 3 y 5 días después del tratamiento con los carotenoides extraídos de chiltepín.

capsantina y capsorubina, denominada Capsantal FS-30. Por otra parte, se debe considerar que propiedades químicas de los solventes tales como la polaridad pueden impactar diferencialmente en la eficiencia de los compuestos bioactivos. En este sentido, Bae *et al.*³ comunicaron que el uso de diferentes solventes (hexano, etil acetato, acetona, metanol y metanol-agua) puede afectar la capacidad antioxidante de los compuestos bioactivos presentes en el chile. Esto indica que se requieren nuevos estudios que permitan evaluar el efecto antifúngico de los compuestos fenólicos y carotenoides presentes en chiltepín usando diferentes mezclas de solventes.

La evaluación del efecto antifúngico de los extractos de chiltepín en otras especies de hongos de importancia agrícola también debe ser considerada, así como la posible realización de pruebas en condiciones de campo.

Conclusiones

Los extractos fenólicos y carotenoides de chiltepín mostraron un efecto diferencial sobre el crecimiento y la germinación de conidios de *A. alternata* y *F. oxysporum*, dos hongos de importancia agrícola. Dada la presencia de estos metabolitos secundarios en el chiltepín, este fruto adquiere el potencial de ser usado en la obtención de compuestos bioactivos, con probable aplicación en el área del control de enfermedades poscosecha. Serían necesarios estudios enfocados a evaluar el efecto de los distintos solventes en el proceso de extracción de los compuestos bioactivos, para identificar el solvente o la mezcla de estos que permita obtener los compuestos con mayor actividad biológica.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses. Referencias no citadas

Bibliografía

- Ahn YJ, Lee HS, Oh HS, Kim HT, Lee YH. Antifungal activity and mode of action of Gallarhois-derived phenolics against phytopathogenic fungi. *Pest Biochem Physiol.* 2005;81:105–12.
- Allen TW, Enebak SA, Carey WA. Evaluation of fungicides for control of species of *Fusarium* on longleaf pine seed. *Crop Protect.* 2004;23:979–82.
- Bae H, Jayaprakasha GK, Jifon J, Patil BS. Extraction efficiency and validation of an HPLC method for flavonoid analysis in peppers. *Food Chemistry.* 2012;130:751–8.
- Brito-Argáez L, Moguel-Salazar F, Zamudio F, González-Estrada T, Islas-Flores I. Characterization of a *Capsicum chinense* seed peptide fraction with broad antibacterial activity. *Asian J Biochem.* 2009;4:77–87.
- Carrillo-Parra A, Rosales M, Wehenkel C, Foroughbakhch R, González H, Garza F. Phenols and flavonoids concentration and fungistatic activity of wood and bark of five common tropical species. *Trop Subtrop Agroecosyst.* 2012;15:621–8.
- Castro HGde, Perini VB, Santos GR, Leal TCAB. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. *Rev Ciênc Agron.* 2010;41:308–14.
- Chebotar VK, Makarova NM, Shaposhnikov AI, Kravchenko LV. Antifungal and phytostimulating characteristics of *Bacillus subtilis* Ch-13 rhizospheric strain, producer of biopreparations. *App Biochem Micro.* 2009;45:419–23.
- Corato U, Maccioni O, Trupo M, di Sanzo G. Use of essential oil of *Laurus nobilis* obtained by means of a supercritical carbon dioxide technique against post harvest spoilage fungi. *Crop Prot.* 2010;29:142–7.
- Cushnie TPT, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents.* 2006;26:343–56.
- Daood H, Illes V, Gnayfeed M, Mezaros B, Horvath G, Biach P. Extraction of pungent spice pepper by super-critical carbon dioxide and subcritical propane. *J Super-crit Fluid.* 2002;23:143–52.
- Dixon RA. Natural products and plant disease resistance. *Nature.* 2001;411:843–7.
- Gatto MA, Ippolito A, Linsalata V, Cascarano NA, Nigro F, Vanadia S, di Venere D. Activity of extracts from wild edible herbs against postharvest fungal diseases of fruit and vegetables. *Postharvest Biol Technol.* 2011;61:72–82.
- Harborne JB, Williams CB. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry.* 2000;55:481–504.
- Kappel VD, Costa GM, Scola G, Silva FA, Landell MF, Valente P, Souza DG, Vanz DC, Reginatto FH, Moreira JC. Phenolic content and antioxidant and antimicrobial properties of fruits of *Capsicum baccatum* L. var *pendulum* at different maturity stages. *J Med Food.* 2008;11:267–74.
- Mahlo SM, McGaw LJ, Eloff JN. Antifungal activity of leaf extracts from South African trees against plant pathogens. *Crop Prot.* 2010;29:1529–33.
- Okwu DE, Nnamdi FU. Evaluation of the chemical composition of *Dacryodes edulis* and *Raphia hookeri* Mann and Wendl exudates used in herbal medicine in South Eastern Nigeria. *Afr J Trad Comp Alt Med.* 2008;5:194–200.

17. Pagnussatt FA, Kupski L, Toralles Darle F, Freitas Filoda P, Medeiros del Ponte É, Garda-Buffon J, Badiale-Furlong E. *Fusarium graminearum* growth inhibition mechanism using phenolic compounds from *Spirulina sp.* Ciênc Tecnol Aliment Campinas. 2013;33:78–80.
18. Pandey DK, Tripathi NN, Tripathi RD, Dixit SN. Fungitoxic and phytotoxic properties of essential oil of *Hyptis suaveolens*. Z Pflanzenkr Pflanzenschutz. 1982;89:344–9.
19. Pietarinen SP, Willför SM, Vikström FA, Holmbom BR. Aspen knots, a rich source of flavonoids. J Wood Chem Technol. 2006;26:245–58.
20. Riaz T, Khan SN, Javaid A. Effect of co-cultivation and crop rotation on cork-rot disease of *Gladiolus*. Sci Hort. 2009;121:218–22.
21. Santos L, Marín Sanchis V, Ramos AJ. Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in *Capsicum* powder samples available on the Spanish market. Food Chem. 2010;122:826–30.
22. Sharma RK, Agrawal M, Marshall FM. Heavy metal in vegetables collected from production and market sites of tropical urban area of India. Food Chem Toxicol. 2009;47:583–91.
23. Simmons EG. *Alternaria* themes and variations (244-286): Species on *Solanaceae*. Mycotaxon. 2000;65:1–115.
24. Song W, Zhou L, Yang C, Cao X, Zhang L, Liu X. Tomato Fusarium Wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system. Crop Protect. 2004;23:243–7.
25. Treutter D. Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. Plant Biol. 2005;7: 581–91.
26. Tsror L, Hazanovsky M, Mordechi-Lebiush S, Sivan S. Aggressiveness of *Verticillium dahliae* isolates from different vegetative compatibility groups to potato and tomato. Plant Pathol. 2001;50:477–82.
27. Vidhyasekaran P. Fungal Pathogenesis. En: Vidhyasekaran P, editor. Plants and Crops: Molecular Biology and Host Defense Mechanisms. Boca Raton, Florida: CRC Press; 2007. p. 1–21.
28. Wilson CL, Solar JM, el Ghaouth A, Wisniewski ME. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. Plant Dis. 1997;81: 204–10.