

Efecto de diferentes medios de cultivo sobre la patogenicidad de *Aspergillus flavus* en frutos de higo

Effect of different culture media on the pathogenicity of *Aspergillus flavus* in fig fruits

Margarita de Lorena Ramos-García*, **Pablo Fernando Aparicio-García**, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Facultad de Nutrición. Calle Iztaccihuatl S/N, Colonia Los Volcanes, Cuernavaca, Morelos, C.P. 62350. México; **Silvia Bautista-Baños**, **Mónica Hernández-López**, Instituto Politécnico Nacional. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Carretera Yautepec-Jojutla, Km 6.8, San Isidro, CEPROBI 8, Yautepec, C.P. 62731. Morelos México.*Autor para correspondencia: margarita.ramosg@uaem.edu.mx

Recibido: 20 de Marzo, 2019.

Aceptado: 23 de Mayo, 2019.

Ramos-García ML, Aparicio-García PF, Bautista-Baños S y Hernández-López M. 2019. Efecto de diferentes medios de cultivo sobre la patogenicidad de *Aspergillus flavus* en frutos de higo. Revista Mexicana de Fitopatología 37 (No. Esp. 1): 8-14.

DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1903-2

Resumen. *Aspergillus flavus* es un hongo que infecta diversos alimentos, entre ellos el higo. Se han utilizado diferentes medios de cultivo para su aislamiento y crecimiento. El objetivo de esta investigación fue evaluar la patogenicidad de *A. flavus* crecido en diferentes medios de cultivo sobre higos. Se incubó *A. flavus* en 5 medios de cultivo (CZAPEK, agar V8, PDA, Dextrosa Sabouraud y agar de Malta) y de éstos, se realizaron dos suspensiones de esporas (1×10^4 y 1×10^5 Esp mL⁻¹). Los frutos se inocularon y se evaluó porcentaje de infección y severidad. La cepa desarrollada en medio CZAPEK (1×10^4 Esp mL⁻¹) fue la que generó mayor porcentaje de infección (64%), sin embargo, fue estadísticamente similar al PDA y Agar de Malta

(53 y 51%, respectivamente). La cepa del medio PDA (1×10^4 Esp mL⁻¹) mostró mayor severidad (2.4) y fue estadísticamente similar a los medios evaluados, con excepción del agar V8. Los frutos inoculados con la cepa del agar V8 (1×10^4 Esp mL⁻¹) tuvieron el menor porcentaje de infección (24%) y severidad (1.64), siendo estadísticamente diferente al resto de los tratamientos. Las cepas de *A. flavus* incubada en CZAPEK y PDA tuvieron mayor patogenicidad en los frutos de higo.

Palabras clave: *Ficus carica*, medios de cultivo, esporulación, infección.

Abstract. *Aspergillus flavus* is a fungus that infects various foods, including fig. Different culture media have been used for their isolation and growth. The objective of this research was to evaluate the pathogenicity of *A. flavus* grown in different culture media on fig fruit. *A. flavus* was incubated in 5 culture media (CZAPEK, V8 agar, PDA, Sabouraud Dextrose, and Malt Agar) and of these, two spore

suspensions were performed (1×10^4 and 1×10^5 Esp mL⁻¹). The figs were inoculated and the percentages of infection and severity were evaluated. The strain developed in CZAPEK medium (1×10^4 Esp mL⁻¹) was the one that generated the highest percentage of infection (64%), however, it was statistically similar to the PDA and Malt Agar (53 and 51%, respectively). The PDA medium strain (1×10^4 Esp mL⁻¹) showed greater severity (2.4) and was statistically similar to the evaluated means, with the exception of V8 agar. The figs inoculated with the V8 agar strain (1×10^4 Esp mL⁻¹) had the lowest percentage of infection (24%) and severity (1.64), being statistically different from the rest of the treatments. Strains of *A. flavus* incubated in CZAPEK and PDA had higher pathogenicity in the fig fruit.

Key words: *Ficus carica*, culture media, sporulation, infection

El higo (*Ficus carica*) es un fruto altamente perecedero que necesita de un cuidado especial durante su cultivo, cosecha y almacenamiento; la temperatura y la presencia de microorganismos fitopatógenos, son factores que pueden disminuir su calidad y periodo de vida útil (Kong *et al.*, 2013; Irfan *et al.*, 2013). Es un fruto propenso a sufrir contaminación por microorganismos, ya que posee un alto contenido de azúcar y agua, posee una piel delgada que muchas veces sufre heridas durante su cosecha y además presenta un orificio en su base denominado “ostiolo” por el cual pueden introducirse diversos microorganismos (Oliveira *et al.*, 2009; Souza *et al.*, 2013; Kong *et al.*, 2013; Irfan *et al.*, 2013). *Aspergillus flavus* es un hongo de importancia agronómica y nutricional, que infecta varios grupos de alimentos tanto en pre como postcosecha, generando pérdidas y ocasionando problemas

de salud en animales y humanos por la producción de toxinas (Accinelli *et al.*, 2018). En estudios recientes, se ha reportado la presencia de *A. flavus* en frutos de higo, lo cual es un problema latente para la población que consume esta fruta (Carvajal, 2013). En la actualidad, existe un creciente interés por evaluar métodos de control que reduzcan la aparición de este patógeno en los frutos, para ello es necesario desarrollar el hongo en condiciones controladas las cuales garanticen su patogenicidad así como su capacidad para infectar frutos, de este modo los nuevos tratamientos propuestos podrían ser más efectivos. Los medios nutritivos son una herramienta que nos permite cultivar a los hongos en un medio artificial y poder evaluar su desarrollo. Para desarrollar hongos del género *Aspergillus* se pueden utilizar concentraciones esporas de 1×10^4 y 1×10^5 Esp mL⁻¹ (Ramos-García *et al.*, 2012) para desarrollarse en diferentes medios de cultivo, entre los que podemos encontrar: CZAPEK, PDA, Dextrosa Sabouraud, Agar V8, y agar de malta, los cuales presentan composición variada (Cuadro 1). Estos medios de cultivo se han recomendado para el estudio de mohos y levaduras, incluso se ha reportado que los medios a base de extractos naturales (Agar V8) aumentan la velocidad de crecimiento y esporulación en comparación con los medios de cultivo utilizados convencionalmente (González-Peña *et al.*, 2014). El objetivo de esta investigación fue evaluar la patogenicidad de *A. flavus* proveniente de diferentes medios de cultivo sobre frutos de higo.

Se prepararon 5 medios nutritivos, CZAPEK DOX, PDA, dextrosa Sabouraud, agar de Malta, y agar V8 (jugo comercial) y agar bacteriológico, todos de la marca BD Bioxon, México y se colocaron en cajas Petri de 60 x 15 mm. Con la ayuda de un horador, se realizaron orificios (5mm) de la cepa *A. flavus* (donada por el CEPROBI-IPN), previamente activada (siete días antes), la cual se

Cuadro 1. Composición de diferentes medios de cultivo para inocular *A. flavus*

| Medio de cultivo | Componentes | Cantidad (g L ⁻¹) | pH | Referencia |
|--------------------|-----------------------------------|-------------------------------|-----|------------------------------------|
| CZAPEK | Sacarosa | 30 | 7.3 | Liofilchem, 2015 |
| | Nitrato de sodio | 2 | | |
| | Fosfato dipotásico | 1 | | |
| | Sulfato de magnesio | 0.5 | | |
| | Sulfato ferroso | 0.01 | | |
| | Agar | 15 | | |
| PDA | Extracto de papa | 4 | 5.6 | Neogen, 2015 |
| | Dextrosa | 20 | | |
| | Agar | 15 | | |
| Dextrosa Sabouraud | Digerido pancreático de caseína | 5 | 5.6 | BD, 2015 |
| | Digerido péptico de tejido animal | 5 | | |
| | Dextrosa | 40 | | |
| | Agar | 15 | | |
| Malta | Extracto de malta | 30 | 5.5 | Neogen, 2017 |
| | Agar | 15 | | |
| Agar V8 | Jugo de verduras "V8" | 160 (mL L ⁻¹) | 5.7 | González-Peña <i>et al.</i> , 2014 |
| | Sodio | 0.093 | | |
| | Potasio | 0.6 | | |
| | Azúcar | 4.66 | | |
| | Proteína | 1.33 | | |
| | Carbonato de calcio | 3 | | |
| | Agar | 20 | | |

sembró en cada medio de cultivo. Las cajas Petri se incubaron durante 7 días a 25 ± 2 °C. Una vez que se desarrolló el hongo en los diferentes medios de cultivo (8 días después), se prepararon dos soluciones dos esporas; 1×10^4 y 1×10^5 Esp mL⁻¹ de acuerdo a la metodología de Ramos-García *et al.* (2012). Para realizar la inoculación, los frutos se enjuagaron durante 10 s con una solución de cloro al 1% (v/v), y posteriormente con agua desionizada. Los frutos se secaron a temperatura ambiente (28 ± 2 °C) en bandejas con papel absorbente. Con ayuda de una aguja de disección se realizó una herida en la cara anterior y posterior de los frutos y se colocaron 10 µL de cada solución de esporas. Se evaluó la incidencia (% de infección) y la severidad de la infección, cuyo índice se determinó mediante una escala, donde, 1 = 0 %; 2 = 1-25 %; 3 = 26-50%; 4 = 51-75 % y 5 = 76-100% de síntomas de la

enfermedad en la superficie del fruto (Hernández *et al.*, 2018). Los frutos se almacenaron durante 4 días a temperatura ambiente a 27 ± 2 °C. Se utilizaron 90 frutos por cada medio de cultivo dividido en las 2 concentraciones (45 frutos por concentración) y se realizó un análisis de varianza con un método de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) a través del paquete estadístico INFOSTAT (v. 2017).

Los resultados mostraron que en el segundo día de almacenamiento, los porcentajes de infección más altos en el higo se obtuvieron de las cepas provenientes de los medios CZAPEK (31 %) y PDA (24 %) a la concentración 1×10^4 Esp mL⁻¹, aunque no se observaron diferencias estadísticas ($p < 0.05$). En el tercer día, el medio CZAPEK fue estadísticamente diferente al resto de los medios al tener un 62 % de infección. En el cuarto día, los medios CZAPEK, PDA y Malta fueron estadísticamente

similares ($p < 0.05$), al mostrar los porcentajes de infección más altos al final del almacenamiento (64%, 53% y 51%, respectivamente) (Cuadro 2; Figura 1). La cepa proveniente del medio agar V8 fue la que mostró menor porcentaje de infección durante los días de almacenamiento (4%, 13% y 24%, respectivamente).

En los días dos, tres y cuatro de almacenamiento, se observó el mayor porcentaje de infección en las cepas de *A. flavus* a una concentración de 1×10^5 Esp mL⁻¹, proveniente de los medios Dextrosa Sabouraud (27, 47 y 51%, respectivamente), CZAPEK (20, 42 y 51%, respectivamente) y PDA (13, 38 y 47%, respectivamente), es importante mencionar que se observó similitud estadística ($p < 0.05$), en los medios mencionados. Una vez más el medio agar V8 fue estadísticamente diferente ($p < 0.05$) al resto de los medios evaluados, al inducir la menor incidencia durante el almacenamiento (4, 4 y 36%, respectivamente) (Cuadro 3). En los resultados de severidad, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los medios evaluados. En los días de almacenamiento dos y tres, la cepa de *A. flavus* a una concentración de 1×10^4 Esp mL⁻¹ del medio CZAPEK presentó mayor índice de severidad (1.5 y 2, respectivamente), seguida de la cepa del medio PDA (1.4 y 1.9, respectivamente) (Cuadro 4), ambos medios fueron estadísticamente similares. En el día cuatro de almacenamiento, la cepa del medio PDA fue la que

Cuadro 2. Efecto de la incubación en diferentes medios nutritivos y la concentración de 1×10^4 Esp mL⁻¹ en la incidencia de *A. flavus* en frutos de higo almacenados durante 4 días a 20 ± 2 °C.

| Medio nutritivo | Incidencia (%) | | | |
|--------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|
| | Días de almacenamiento | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| PDA | 0 | 24 ^{cd} | 40 ^b | 53 ^{bc} |
| Agar de Malta | 0 | 16 ^{bc} | 40 ^b | 51 ^{bc} |
| Dextrosa Sabouraud | 0 | 9 ^{ab} | 27 ^{ab} | 44 ^b |
| CZAPEK | 0 | 31 ^d | 62 ^c | 64 ^c |
| V8 | 0 | 4 ^a | 13 ^a | 24 ^a |

Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p < 0.05$).

mostró la mayor severidad (2.4); sin embargo, fue estadísticamente similar ($p < 0.05$) al resto de los medios, excepto el medio agar V8, el cual mostró menor severidad durante los días dos, tres y cuatro de almacenamiento (1, 1.1 y 1.6, respectivamente). En general no se observaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) en la severidad de los frutos de higo inoculados con la concentración 1×10^5 Esp mL⁻¹ de los medio PDA, Agar de Malta, dextrosa Sabouraud y CZAPEK durante los cuatro días de almacenamiento. El agar V8 fue estadísticamente diferente al resto de los medios, durante los días dos y tres (0.2 y 0.4); sin embargo, en el día cuatro, no se observaron diferencias entre los medio evaluados (Cuadro 5).



Figura 1. Frutos de higo infectados con cepas de *A. flavus* a una concentración de 1×10^4 Esp mL⁻¹ al cuarto día de almacenamiento, provenientes de diferentes medios de cultivo: A) CZAPEK; B) PDA; C) agar de malta; D) dextrosa sabouraud y E) agar V8.

Cuadro 3. Efecto de la incubación en diferentes medios nutritivos y la concentración de 1×10^5 Esp mL⁻¹ en la incidencia de *A. flavus* en frutos de higo almacenados durante 4 días a 20 ± 2 °C.

| Medio nutritivo | Incidencia (%) | | | |
|--------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|
| | Días de almacenamiento | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| PDA | 0 | 13 ^{ab} | 38 ^{bc} | 47 ^{ab} |
| Agar de Malta | 0 | 16 ^b | 31 ^b | 56 ^b |
| Dextrosa Sabouraud | 0 | 27 ^c | 47 ^c | 51 ^{ab} |
| CZAPEK | 0 | 20 ^{bc} | 42 ^c | 51 ^{ab} |
| V8 | 0 | 4 ^a | 4 ^a | 36 ^a |

Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p < 0.05$).

En esta investigación el índice de severidad y el porcentaje de infección en los frutos, no se afectaron por la concentración de la solución de esporas de *A. flavus*, sino por el medio nutritivo utilizado. Las concentraciones de *A. flavus* (1×10^4 y 1×10^5 Esp mL⁻¹) proveniente del medio de cultivo CZAPEK, mostraron mayor incidencia sobre los frutos de higo durante todo el almacenamiento. Barajas-Ontiveros *et al.* (2009) reportan, que los medios de cultivo influyen en el crecimiento y en la germinación de esporas. Las esporas fúngicas contienen reservas de nutrientes que soportan el

crecimiento por un periodo determinado; sin embargo, esta composición se puede modificar por el medio donde se desarrolle y así afectar su proceso de germinación (Hassouni *et al.*, 2007). La cepa del medio CZAPEK mostró alta incidencia, seguido del medio PDA sobre los frutos inoculados con las concentraciones 1×10^4 Esp mL⁻¹ (64 y 53 %, respectivamente) y 1×10^5 Esp mL⁻¹ (51 y 47 %, respectivamente).

Varios autores (Liofilchem, 2015; Cota-Arriola *et al.*, 2017) han reportado que el medio CZAPEK favorece el desarrollo de este patógeno, incluso Luna *et al.* (2010) afirmaron que en las cepas de *Aspergillus* desarrolladas en este medio, se observaron diferencias macroscópicas (micelio blanco con pigmento amarillo difundido en el medio) al compararla con medio PDA (micelio blanco), lo cual podría garantizar su capacidad de infección en el fruto. Los resultados de la presente investigación concuerdan con lo reportado por Cota-Arriola *et al.* (2017) y Hassouni *et al.* (2007), los cuales mostraron que hongos del género *Aspergillus* desarrollados en medio CZAPEK tuvieron una mayor germinación de esporas (6.5 esporas h⁻¹) comparado con los desarrollados en Papa dextrosa y azúcar de bagazo de caña (5.6 esporas h⁻¹). La germinación

Cuadro 4. Efecto de la incubación en diferentes medios nutritivos y la concentración de 1×10^4 Esp mL⁻¹ en la severidad de *A. flavus* en frutos de higo almacenados durante 4 días a 20 ± 2 °C.

| Medio nutritivo | Índice de severidad | | | |
|--------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | Días de almacenamiento | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| PDA | 1 ± 0.0 | 1.4 ± 0.8 ^{bc} | 1.9 ± 1.2 ^{bc} | 2.4 ± 1.5 ^b |
| Agar de Malta | 1 ± 0.0 | 1.2 ± 0.6 ^{ab} | 1.6 ± 0.9 ^{ab} | 2.1 ± 1.3 ^{ab} |
| Dextrosa Sabouraud | 1 ± 0.0 | 1.0 ± 0.2 ^{ab} | 1.4 ± 0.7 ^{ab} | 2.1 ± 1.4 ^{ab} |
| CZAPEK | 1 ± 0.0 | 1.5 ± 0.8 ^c | 2.0 ± 0.9 ^c | 2.3 ± 1.1 ^{ab} |
| V8 | 1 ± 0.0 | 1.0 ± 0.2 ^a | 1.1 ± 0.4 ^a | 1.6 ± 1.3 ^a |

Escala de severidad: 1= 0%, 2= 1-25%, 3= 26-50%, 4= 51-75%, 5= 76-100% de infección en los frutos de higo.

Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p < 0.05$).

Cuadro 5. Efecto de la incubación en diferentes medios nutritivos y la concentración de 1×10^5 Esp mL⁻¹ en la severidad de *A. flavus* en frutos de higo almacenados durante 4 días a 20 ± 2 °C.

| Medio nutritivo | Índice de severidad Días de almacenamiento | | | |
|--------------------|---|-------------------------|------------------------|------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| PDA | 1 ± 0.0 | 1.1 ± 0.4 ^{ab} | 1.6 ± 0.9 ^b | 2.0 ± 1.2 ^a |
| Agar de Malta | 1 ± 0.0 | 1.2 ± 0.5 ^{ab} | 1.5 ± 1.0 ^b | 2.4 ± 1.4 ^a |
| Dextrosa Sabouraud | 1 ± 0.0 | 1.4 ± 0.7 ^b | 1.7 ± 0.8 ^b | 1.9 ± 0.9 ^a |
| CZAPEK | 1 ± 0.0 | 1.2 ± 0.4 ^{ab} | 1.6 ± 0.8 ^b | 1.9 ± 0.9 ^a |
| V8 | 1 ± 0.0 | 1.0 ± 0.2 ^a | 1.0 ± 0.4 ^a | 1.9 ± 1.3 ^a |

Escala de severidad: 1= 0%, 2= 1-25%, 3= 26-50%, 4= 51-75%, 5= 76-100% de infección en los frutos de higo.

Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p < 0.05$).

de esporas es de vital importancia en la patogenicidad del hongo debido a que es la primera etapa del crecimiento y es indicativo para la adaptación en el fruto (Cota-Arriola *et al.*, 2017). El medio Agar V8, se ha utilizado cuando los medios tradicionales no desarrollan esporas en los hongos (Mogollón y Castaño, 2012). González-Peña (2014) reportó que la biomasa producida por el hongo *Phytophthora nicotianae* fue mayor en el medio V8, favoreciendo el crecimiento y la esporulación. Contrario a esto, en la presente investigación, el medio Agar V8 fue el que mostró el menor porcentaje de infección al compararlo con el resto de los medios evaluados. Esto concuerda con lo reportado McAlpin y Donald (2005), quienes reportaron que este medio produjo una baja cantidad de estromas (102) al compararlo con el medio CZAPEK (2672), PDA (2218) y Agar de Malta (657). El medio Agar V8 contiene en su formulación azúcar, carbonato de calcio y NaCl, componentes que podrían estar influyendo en su patogenicidad. Reyes-Ocampo *et al.* (2013), analizaron el metabolismo de *A. niger* en medio sólido y concluyeron que el metabolismo del hongo del género *Aspergillus* se afectó cuando hubo un incremento de glucosa en la formulación, ya que la alta concentración de glucosa en el medio se indica

como un factor de estrés osmótico en el microorganismo, lo que genera un mayor gasto energético y un menor desarrollo, además la presencia de otra fuente de carbono diferente a la glucosa perturba el metabolismo normal cuando se usa conjuntamente con ésta. En general los hongos muestran diversas respuestas metabólicas, patrones de crecimiento y estrategias reproductivas, por lo tanto el estrés osmótico puede reducir su crecimiento al incrementar la tasa de respiración. Tijerina-Ramírez *et al.* (2014) reportan que al utilizar NaCl, KCl y sacarosa en medios sólidos, se redujo el potencial osmótico y esto ocasionó la disminución del crecimiento y desarrollo de hongo *Macrophomina phaseolina*, del mismo modo, se observó que la cepa del hongo desarrollada en el medio que contenía NaCl, redujo significativamente su patogenicidad en frijol. Sin embargo, se ha reportado que el Agar V8 favorece la expresión de enzimas hidrolíticas (González-Peña, 2014), lo que explicaría su similitud estadística con el resto de los medios evaluados en la variable de severidad al término del almacenamiento.

En conclusión, la cepa de *A. flavus* incubada en los medios de cultivo CZAPEK y PDA, independientemente de la concentración utilizada, indujo la mayor patogenicidad en los frutos de higo, lo que

es de interés para futuras investigaciones que evalúen métodos de control efectivos contra la inhibición del crecimiento de *A. flavus*.

LITERATURA CITADA

- Accinelli C, Abbas H, Little N, Kotowicz and Shier T. 2018. Biological control of aflatoxin production in corn using non-aflatoxigenic *Aspergillus flavus* administered as a bio-plastic-based seed coating. *Crop Protection*, 107: 87-92. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.02.004>
- Barajas-Ontiveros C, Morales-Romano MD, Pozo-Nuñez EM, Rodríguez-Aguilar ML y Nuñez-López JJ. 2009. Condiciones para el desarrollo de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control biológico de chapulín frijolero. *Tecnociencia Chihuahua*, 1: 33-38. <https://docplayer.es/19708552-Condicion-para-el-desarrollo-de-beauveria-bassiana-y-metarhizium-anisopliae-para-el-control-biologico-de-chapulín-frijolero.html>
- BD. 2015. BBL Sabouraud Dextrose Agar. <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=22894>. (Consulta, febrero 2019).
- Carvajal M. 2013. Transformación de la aflatoxina B1 de alimentos, en el cancerígeno humano, aducto AFB1-ADN. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 16(2): 109-120. <http://www.scielo.org.mx/pdf/tip/v16n2/v16n2a4.pdf>
- Cota-Arriola O, Plascencia-Jatomea M, Lizardi-Mendoza J, Robles-Sánchez R, Ezquerro- Brauer J, Ruiz-García J, Vega-Acosta J and Cortez-Rocha M. 2017. Preparation of chitosan matrices with ferulic acid: physicochemical characterization and relationship on the growth of *Aspergillus parasiticus*. *CYTA Journal of Food* 15: 65-74. <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/19476337.2016.1213317?needAccess=true>
- González-Peña D, Costales D y Falcón-Rodríguez AB. 2014. Efecto de diferentes medios de cultivo sobre el desarrollo de *Phytophthora nicotianae*. *Breda de Haan. Revista de Protección Vegetal*, 29(1): 33-41. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v29n1/rpv04114.pdf>
- Hassouni H, Ismaili A, Lamrani K, Gaime I, Augur C and Roussos S. 2007. Comparative spore germination of filamentous fungi on solid state fermentation under different culture conditions. *Micología Aplicada Internacional*, 19: 7-14. <https://www.redalyc.org/pdf/685/68519101.pdf>
- Hernández M, Guillén J, Bautista S y Guillén D. 2018. Evaluación de películas biodegradables en el control de hongos postcosecha de la papaya. *Cultivos Tropicales*, 39: 52-60. <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v39n1/ctr06118.pdf>
- Irfan P, Vanjakshi V, Keshava M, Ravi, R and Kudachikar V. 2013. Calcium chloride extends the keeping quality of fig fruit (*Ficus carica* L.) during storage and shelf-life. *Postharvest Biology and Technology*, 82: 70-75. <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.02.008>
- Kong M, Lampinen B, Shackel K and Crososto C. 2013. Fruit skin side cracking and ostiole-end splitting shorten postharvest life in fresh figs (*Ficus carica* L.), but are reduced by deficit irrigation. *Postharvest Biology and Technology*, 85: 154-161. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.06.004>
- Liofilchem. 2015. Czapec Dox Agar. http://www.liofilchem.net/login/pd/ifu/10017_IFU.pdf (Consulta, febrero 2019).
- Luna M, Lozada Y y Trigos A. 2010. Aislamiento de cepas de *Aspergillus niger* productoras de ocratoxina A, en café verde (*Coffea arabica*) almacenado. *Revista Mexicana de Micología*, 32: 63-68. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmm/v32/v32a8.pdf>
- McAlpin E and Donald T. 2005. Culture media and sources of nitrogen promoting the formation of stromata and ascocarps in *Petromyces alliceus* (*Aspergillus* section *flavi*). *Canadian Journal of Microbiology*, 51: 765-771. <https://www.nrcresearchpress.com/doi/pdf/10.1139/w05-057>
- Mogollón A y Castaño J. 2012. Evaluación *in vitro* de inductores de resistencia sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *Revista Facultad Nacional de Agronomía de Medellín*, 65: 6327-6336. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179924340004>
- Neogen. 2015. Agar papa dextrosa – Potato Dextrose Agar (7149). https://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia_pi/7149_sp_pi.pdf (consulta, febrero 2019).
- Neogen. 2017. Malt agar (7456). https://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia_pi/7456_pi.pdf (consulta, febrero 2019).
- Oliveira A, Valentao P, Pereira J, Silva B, Tavares F and Andrade P. 2009. *Ficus carica* L: Metabolic and biological screening. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 2841-2846. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.09.004>
- Ramos-García M, Bosquez-Molina E, Hernández-Romano J, Zavala-Padilla G, Terrés-Rojas E, Alia-Tejagal I, Barrera-Necha L, Hernández-López M and Bautista-Baños S. 2012. Use of chitosan-based edible coatings in combination with other natural compounds, to control *Rhizopus stolonifer* and *Escherichia coli* DH5a in fresh tomatoes. *Crop Protection* 38: 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.02.016>
- Reyes-Ocampo I, González-Brambila M y López- Isunza F. 2013. Un análisis del metabolismo de *Aspergillus niger* creciendo sobre un sustrato sólido. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 12: 41-56. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v12n1/v12n1a5.pdf>
- Souza M, Jemni M, Otón M, Leonel S, Melgarejo P y Artés F. 2013. Caracterización morfológica, química y sensorial de cuatro variedades de brevas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 14:48-52. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81327871009>
- Tijerina-Ramírez N, Lira-Méndez K, Moreno-Medina V, González-Prieto J y Mayek-Pérez N. 2014. Efecto de estrés osmótico *in vitro* en el crecimiento, patogenicidad y producción de osmolitos en *Macrophomina phaseolina*. *Revista Mexicana de Micología* 39, 31-39. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmm/v39/v39a5.pdf>