

Aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*: alternativa de control para *Penicillium expansum* sobre pera en poscosecha*

Essential oil of *Cinnamomum zeylanicum*: control alternative for *Penicillium expansum* on pear in postharvest

Nadia Landero Valenzuela¹, Francisco Marcelo Lara Viveros^{1§}, Graciano Javier Aguado Rodríguez¹, Andrade Hoyos Petra¹, Dalia Encarnación Apolonio¹ y Yazmín Pérez Rivera¹

¹Universidad Politécnica de Francisco I. Madero. Conocido, Tepatepec, Hidalgo, México, C. P. 42660. Tel: 738 7241174. Conocido, Tepatepec, Hidalgo, México, C. P. 42660. (nlanderova@conacyt.mx; gjaguadoro@conacyt.mx; pandrade@upfim.edu.mx; eadali_081@hotmail.com; da_estra_4@hotmail.com). [§]Autor para correspondencia: fmclaravi@conacyt.mx.

Resumen

La principal infección de pera en poscosecha es causada por el hongo *Penicillium expansum*, resultando en pérdidas económicas globales significativas. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes concentraciones de aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre el desarrollo de *Penicillium expansum* *in vitro*, e *in vivo* sobre frutos de pera en poscosecha. Aceite esencial de canela fue probado en tres concentraciones diferentes (60, 120 y 300 $\mu\text{L L}^{-1}$), considerando variables que fueron crecimiento micelial, esporulación y severidad de la enfermedad producida en frutos de pera durante ocho días. Los resultados del experimento *in vitro* mostraron que cuando la concentración de aceite de canela fue de 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ el crecimiento micelial del patógeno se inhibió 81 h después de haber sido sembrado en el medio de cultivo. Los modelos matemáticos generados permitieron estimar que la producción de esporas disminuye en concentraciones superiores a 135 $\mu\text{L L}^{-1}$. En el experimento *in vivo* el desarrollo de la enfermedad fue estadísticamente similar cuando el patógenos estuvo creciendo sobre frutos de pera asperjados con 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ de aceite esencial de canela comparado con el desarrollo de la enfermedad sobre frutos de pera asperjados con Imazalil. Lo anterior soporta la

Abstract

The major postharvest pear infection is caused by the fungus *Penicillium expansum*, resulting in significant global economic losses. This study aimed to evaluate the effect of different concentrations of essential oil of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) on the development of *Penicillium expansum* *in vitro* and *in vivo* on postharvest pear fruit. The cinnamon essential oil was tested at three different concentrations (60, 120 and 300 $\mu\text{L L}^{-1}$), considering variables that were mycelial growth, sporulation and severity of the disease produced in pear fruit for eight days. The results of the *in vitro* experiment showed that when the concentration of cinnamon oil was 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ pathogen mycelial growth was inhibited 81 h after being sown in the culture medium. The generated mathematical models estimate that allowed spore production decreases in concentrations above 135 $\mu\text{L L}^{-1}$. In the experiment *in vivo* development of the disease it was statistically similar when the pathogen was growing on pear fruit sprinkled with 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ essential oil of cinnamon compared to the development of the disease on pear fruit sprinkled with Imazalil. This supports the idea that cinnamon oil can be a compound useful to maintain the shelf life of fruit postharvest pear.

* Recibido: marzo de 2016
Aceptado: junio de 2016

idea de que el aceite de canela puede ser un compuesto de utilidad para mantener la vida de anaquel de frutos de pera en poscosecha.

Palabras claves: canela, enfermedades en peras, extractos naturales, poscosecha.

Introducción

Las enfermedades poscosecha pueden ocasionar elevadas pérdidas económicas, debido al desecho de frutos que no llegan a su mercado final. En países desarrollados se estima que hasta 25% de los frutos pueden ser afectados por patógenos, mientras que en países en vías de desarrollo el porcentaje de pérdidas se duplica (Sharma *et al.*, 2009). La pera no es la excepción, la principal infección en estos frutos, que son almacenados durante largos períodos de tiempo es causada por *Penicillium expansum* y la presencia de este hongo puede resultar en pérdidas económicas globales significativas, motivo por el cual este patógeno es considerado el más importante en frutos de pera en poscosecha (Rosenberger, 1990).

La aplicación de fungicidas químicos sintéticos es la primera táctica de control de este hongo en las empacadoras de pera y en otros frutos con la finalidad de reducir la incidencia (Hao *et al.*, 2010); sin embargo, la aplicación repetida de estos productos ha generado una fuerte presión de selección sobre los patógenos, limitando el éxito en el control de las infecciones ocasionadas por *Penicillium* (Baraldi *et al.*, 2003).

De hecho, desde hace varios años, existen reportes de cepas de *Penicillium expansum* resistentes a los Benzimidazoles y en estudios *in vitro* se demostró la resistencia cruzada con benomilo, carbendazim, thiophanato y thiabendazole (Koffmann *et al.*, 1978). Sin embargo, el uso de fungicidas químicos sintéticos está siendo cada vez más restringido, no solo por la aparición de cepas resistentes, sino debido a los efectos nocivos causados en el ambiente y en la salud pública (Lima *et al.*, 2011). Por lo anterior, se incrementó la conciencia del consumidor acerca de alimentos seguros, más nutritivos y amigables con el ambiente. También se han explorado métodos alternativos en el control de las enfermedades en poscosecha.

Una de estas alternativas es el empleo de compuestos de extractos obtenidos de plantas con actividad antimicrobial, los cuales se sabe son eficaces, además que tienen menos

Keywords: cinnamon, pears diseases, postharvest, natural extracts.

Introduction

The post-harvest diseases can cause high economic losses due to the disposal of fruit not reach their final market. In developed countries it is estimated that up to 25% of the fruit may be affected by pathogens, while in developing country the percentage of loss doubles (Sharma *et al.*, 2009). The pear is no exception, the main infection in these fruits that are stored for long periods of time is caused by *Penicillium expansum* and the presence of this fungus can result in significant global economic losses, why this pathogen is considered the most important postharvest pear fruits (Rosenberger, 1990).

The application of synthetic chemical fungicides is the first tactical control of this fungus in packing pear and other fruits in order to reduce the incidence (Hao *et al.*, 2010); however, repeated application of these products has generated a strong selection pressure on pathogens, limiting the success in controlling infections caused by *Penicillium* (Baraldi *et al.*, 2003).

In fact, for several years, there are reports of *Penicillium expansum* strains resistant to benzimidazoles and *in vitro* studies demonstrated cross-resistance to benomyl, carbendazim, and thiabendazole thiophanato (Koffmann *et al.*, 1978). However, the use of synthetic chemical fungicides is becoming ever more restricted, not only by the emergence of resistant strains, but because of the harmful effects caused to the environment and public health (Lima *et al.*, 2011). Therefore, consumer awareness about safer, more nutritious and environmentally friendly food increased. They have also explored alternative methods to control postharvest diseases.

One such alternative is the use of compounds of extracts from plants with antimicrobial activity, which are known to be effective, also with less environmental effects and do not harm or even improve human health (Azzouz, 1982; Amadioha, 2000; Paranagama *et al.*, 2003). Essential oils are widely used compounds for this purpose with the advantage that some of them are volatile so they do not leave residues in fruits, as in the case of oil of cinnamon (Ayala *et al.*, 2008), whose main component it is the cinnamaldehyde (China Pharmacopeia Commission, 2010).

efectos ambientales y no dañan o hasta mejoran la salud humana (Azzouz, 1982; Amadioha, 2000; Paranagama *et al.*, 2003). Los aceites esenciales son compuestos ampliamente usados para esta finalidad con la ventaja de que algunos de ellos son volátiles por lo que no dejan residuos en los frutos, tal es el caso del aceite de canela (Ayala *et al.*, 2008), cuyo componente principal es el cinnamaldehído (China Farmacopeia Commission, 2010).

El aceite esencial de canela ha sido identificado por poseer propiedades antimicrobiales y antifúngicas (Chang *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2004; Singh *et al.*, 2007). La severidad ocasionada por enfermedades fungosas en frutos de fresa disminuyó después de tratamientos con vapores de aceite de canela, en comparación con frutos no tratados (Tzortzakis, 2007). También se ha demostrado su efectividad antifúngica en contra de *Fusarium moniliforme* (Paran *et al.*, 1996) y *Fusarium proliferatum*, este último, aislado de frutos de banano y en cuyo caso se requirió una concentración menor de aceite esencial de canela (0.05% v/v) que del fungicida benomilo (1% v/v) para alcanzar la dosis mínima necesaria para inhibir el crecimiento del hongo (Ranasinghe *et al.*, 2002).

Por otro lado se ha estudiado el efecto del aceite esencial de canela en la producción de micotoxinas provenientes de *Aspergillus flavus*, encontrando una reducción significativa de aflatoxina B₁ con una concentración de aceite esencial de canela al 2%, colocada en discos de polipropileno de los cuales se desprendían compuestos volátiles provenientes de dicho aceite, la inhibición total de la producción de aflatoxina B₁ se logró con una concentración de 4% de aceite esencial de canela (Manso *et al.*, 2014). Otros trabajos reportan la posible aplicación de aceite esencial de canela en los empaques debido al efecto antifúngico sobre los patógenos que afectan a los frutos de diversas especies en poscosecha (Nielsen y Ríos, 2000).

Tomando en consideración lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de aceite de canela a diferentes concentraciones en el desarrollo del hongo *Penicillium expansum* sobre frutos de pera en poscosecha.

Materiales y métodos

El trabajo de investigación fue realizado en las instalaciones de la Universidad Politécnica de Francisco I. Madero, en el municipio de Tepatepec, Hidalgo, específicamente en el Laboratorio de Análisis y química.

The essential oil of cinnamon has been found to possess antimicrobial and antifungal properties (Chang *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2004; Singh *et al.*, 2007). The severity caused by fungal diseases in strawberry fruits decreased after treatment with vapors of cinnamon oil, compared to untreated fruits (Tzortzakis, 2007). It has also been shown its antifungal effectiveness against *Fusarium moniliforme* (Paran *et al.*, 1996) and *Fusarium proliferatum*, the latter isolated from banana fruits and in which case was required a lower concentration of essential oil of cinnamon (0.05% v/v) than the fungicide benomyl (1% v/v) to achieve the minimum dose required to inhibit fungal growth (Ranasinghe *et al.*, 2002).

On the other hand we have studied the effect of essential oil of cinnamon mycotoxin production from *Aspergillus flavus*, finding a significant reduction in aflatoxin B₁ with a concentration of essential oil of cinnamon 2%, placed on disks polypropylene which volatiles from the oil came off, total inhibition of aflatoxin B₁ production was achieved with a concentration of 4% of essential oil of cinnamon (Manso *et al.*, 2014). Other studies report the possible application of essential oil of cinnamon in packaging due to antifungal effect on pathogens affecting fruit of various species in postharvest (Nielsen and Ríos, 2000).

Considering the above, the present work was to evaluate the effect of cinnamon oil at different concentrations in the development of the fungus *Penicillium expansum* on pear fruit postharvest.

Materials and methods

The research was conducted at the premises of the Polytechnic University of Francisco I. Madero, in the municipality of Tepatepec, Hidalgo, specifically in the analysis laboratory and chemistry.

Pathogen isolation and pathogenicity tests

The fungus *Penicillium expansum* was isolated pear fruit with symptoms characteristic of the disease, which were obtained from the central supply of Mexico City. The fragments of about 5 x 5 mm were used, with 20% of infected tissue and 80% of healthy tissue seeded in Petri dishes with Potato Dextrose Agar (PDA) and incubated at room temperature (26 ± 2 °C) for 10 days. A portion of

Aislamiento del patógeno y pruebas de patogenicidad

El hongo *Penicillium expansum* fue aislado de frutos de pera con síntomas característicos de la enfermedad, los cuales se obtuvieron de la central de abasto de la Ciudad de México. Se utilizaron fragmentos de aproximadamente 5 x 5 mm, con 20% de tejido infectado y 80% de tejido sano que se sembraron en cajas de Petri con Papa Dextrosa Agar (PDA, por sus siglas en inglés) y se incubaron a temperatura ambiente ($26 \pm 2^\circ\text{C}$) durante 10 días. Una porción de micelio fue transferida a otra caja Petri con PDA para purificar las cepas. Después de confirmada morfológicamente la identidad de *Penicillium expansum* mediante las claves morfológicas de Seifer *et al.* (2011), la cepa se sembró en medio de cultivo PDA donde estuvo desarrollándose por un período de 7 días, a una temperatura de 28°C .

Cuando la colonia tuvo una edad de más de una semana, las esporas fueron raspadas y se preparó una suspensión, ajustándola a una concentración de 10^6 conidios mL^{-1} . Dichos conidios se inocularon sobre frutos de pera var. Anjou (*Pyrus communis*) que fueron seleccionados de un comercio de frutas en el municipio de Actopan, Hidalgo, México. Todos los frutos a emplearse en el ensayo, estaban en madurez de consumo y se encontraban libres de daños, signos de infección y uniformes en tamaño. Cada uno de los frutos de pera se lavaron y desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1% v/v y se les realizaron dos heridas de aproximadamente 2 mm de diámetro por 2 mm de profundidad causadas con una aguja de disección estéril, en las que se agregaron 20 μL de esporas del patógeno a una concentración de 10^6 conidios mL^{-1} , lo anterior para reproducir la sintomatología, con el fin de corroborar la patogenicidad de *P. expansum*. A los frutos testigo se les colocó PDA sin el hongo. Las cepas que ocasionaron el desarrollo de síntomas se conservaron en aceite mineral y PDA para su posterior utilización.

Control *in vitro* de *Penicillium expansum* con *Cinnamomum zeylanicum*

Para la preparación de cada tratamiento, se mezclaron 100 mL de medio de PDA (antes de gelificación) con cada una de las emulsiones del aceite de canela (60, 120 y 300 $\mu\text{L L}^{-1}$), con 5 repeticiones de cada tratamiento, además del testigo comercial (Imazalil 500 mg L^{-1}) y el testigo sin tratar, al cual no se le dio ningún tratamiento. Se permitió la gelificación de cada uno de los tratamientos, e inmediatamente *P.*

mycelia was transferred to another Petri dish with PDA to purify the strains. After morphologically confirmed the identity of *Penicillium expansum* by morphological keys Seifer *et al.* (2011), the strain was seeded on PDA culture medium was developed where for a period of 7 days, at a temperature of 28°C .

When the colony had an age of more than a week, spores were scraped and a suspension was prepared by adjusting a concentration of 10^6 conidium mL^{-1} . These conidium were inoculated on pear fruits var. Anjou (*Pyrus communis*) that were selected from a fruit trade in the municipality of Actopan, Hidalgo, Mexico. All fruits to be used in the trial were in consumption maturity and free of damage, signs of infection and uniform in size. Each of the fruits of pear were washed and disinfested with a solution of sodium hypochlorite 11% v/v and performed two wounds of about 2 mm diameter by 2 mm depth caused by a needle sterile dissection, in 20 μL of that pathogen spores at a concentration of 10^6 conidium mL^{-1} were added to reproduce the above symptoms, in order to corroborate the pathogenicity of *P. exapansum*. A control fruits were placed PDA without the fungus. Strains caused the development of symptoms were preserved in mineral oil and PDA for later use.

In vitro control of *Penicillium expansum* with *Cinnamomum zeylanicum*

For the preparation of each treatment were mixed, 100 mL of PDA medium (before gelling) with each of the emulsions of cinnamon oil (60, 120 and 300 $\mu\text{L L}^{-1}$), with 5 replications of each treatment in addition commercial witness (Imazalil 500 mg L^{-1}) and untreated control, which was not given any treatment. The gelation of each of the treatments was allowed, and immediately *P. expansum* was transferred in the center of Petri dishes. In Petri dishes are incubated at 28°C for 8 days.

The efficacy of each treatment was determined by the measurement of radial growth of the fungus colony every 24 h, the growth rate of the colony in the culture medium, and sporulation when applied different treatments; for this variable, the concentration of conidium was determined after 10 days when the maximum sporulation was achieved. Each petri dish was rinsed with sterile distilled water (15 mL), the surface was scraped with a glass rod and filtered through a sterile cotton mesh. The aliquots of spore suspension

expansum fue transferido en el centro de las cajas de Petri. Las cajas de Petri se incubaron a una temperatura de 28 °C durante 8 días.

La eficacia de cada tratamiento se determinó por la medición del crecimiento radial de las colonias del hongo cada 24 h, la velocidad de crecimiento de la colonia en el medio de cultivo, así como la esporulación al ser aplicados los diferentes tratamientos; para esta última variable, la concentración de conidios se determinó a los 10 días cuando se logró la máxima esporulación. Cada caja de Petri se enjuagó con agua destilada estéril (15 mL), la superficie se raspó con una varilla de vidrio y se filtró a través de una malla de algodón estéril. Alícuotas de la suspensión de esporas con un volumen de 0.5 mL de cada caja se transfirieron a una cámara de Newbauer para contar el número de conidios. El experimento se repitió dos veces, el segundo establecido a las 48 h posteriores al primero.

Efecto antifúngico *in vivo*

Se seleccionaron frutos de pera Var. Anjou de apariencia sana, sin daño ni infecciones, para ser inoculados artificialmente con *Penicillium expansum*.

Cada fruto se desinfectó con hipoclorito de sodio al 2% durante 3 min por inmersión, posteriormente se enjuagaron con agua destilada estéril y se secaron a temperatura ambiente sobre papel secante. De manera paralela, se preparó una suspensión acuosa de esporas de *P. expansum* a concentración de 10^6 conidios mL⁻¹, y concentraciones de aceite de canela a 60, 120 y 300 µL L⁻¹. Dichas emulsiones de aceite esencial fueron asperjadas sobre 25 frutos (5 repeticiones para 5 tratamientos) 24 h antes de la inoculación con *P. expansum*, se incluyó un testigo químico (Imazalil a una concentración de 500 mg L⁻¹) y uno absoluto (agua destilada estéril). La inoculación de los frutos se realizó haciendo dos heridas de 2 mm de profundidad con aguja de disección estéril, sobre dicha herida se colocaron 20 µL de una suspensión acuosa de 10^6 conidios mL⁻¹ con micropipeta.

Los frutos fueron colocados en grupos de dos dentro de recipientes plásticos herméticamente cerrados que mantenían una temperatura de 26 ± 2 °C y más de 90% de humedad relativa. El diámetro de la lesión fue determinado cada 24 h mediante el análisis de imágenes digitales obtenida de los frutos enfermos por medio de una cámara fotográfica. Los frutos dentro de la cámara húmeda fueron fotografiados diariamente mediante una cámara marca fuji®

with a volume of 0.5 mL of each box were transferred to a chamber Newbauer for counting the number of conidium. The experiment was repeated twice, the second set at 48 h after the first.

Antifungal effect *in vivo*

The fruits pear var Anjou were selected of healthy appearance, without damage or infection, to be artificially inoculated with *Penicillium expansum*.

Each fruit was disinfected with sodium hypochlorite 2% by immersion for 3 min, then rinsed with sterile distilled water and dried at room temperature on absorbent paper. In parallel, was prepared an aqueous spore suspension of *P. expansum* at 10^6 conidium mL⁻¹ concentration, and cinnamon oil concentrations of 60, 120 y 300 µL L⁻¹. Such emulsions of essential oil were sprayed on 25 fruits (5 replicates for 5 treatments) 24 h prior to inoculation with *P. expansum*, a chemical control was included (Imazalil at a concentration of 500 mg L⁻¹) and one absolute (distilled water sterile). Inoculation of the fruits were wounded by two 2 mm deep sterile dissection needle, placed over said wound 20 µL of an aqueous suspension of 10^6 conidium mL⁻¹ with micropipette.

The fruits were placed in groups of two in sealed plastic containers that maintained a temperature of 26 ± 2 °C and 90% relative humidity. The diameter of the lesion was determined every 24 hours by analyzing digital images obtained from diseased fruits by means of a camera. The fruits in the humid chamber were photographed daily by Fuji® of 12-megapixel camera brand, positioned at a constant height of 30 cm from the edge of the humid chamber. The images obtained were processed by the software Photoshop CS6. The diameter of the lesion that caused the pathogen was determined in number of pixels.

Statistical analysis

The data obtained from *in vitro* experiment regression analysis were performed for each treatment, generating an equation describing a curve representing each. Each curve generated under it an area that was calculated with the method previously reported by polygons (Liengme, 2002). The units resulting from this method are dimensionless. The results were subjected to analysis of variance using a completely randomized design and multiple tests Tukey mean separation using SAS v.9 program for Windows®.

de 12 megapíxeles, colocada a una altura constante de 30 cm del límite de la cámara húmeda. Las imágenes obtenidas fueron procesadas mediante el software Photoshop CS6. El diámetro de la lesión que ocasionó el patógeno fue determinado en número de píxeles.

Análisis estadístico

Con los datos obtenidos del experimento *in vitro* se realizaron análisis de regresión para cada tratamiento, generando una ecuación que describía una curva representativa de cada uno de ellos. Cada curva generó un área debajo de ella que fue calculada con el método de los polígonos reportado previamente por (Liengme, 2002). Las unidades resultantes de este método son adimensionales. Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza utilizando un diseño completamente al azar y pruebas de separación múltiple de medias de tukey mediante el programa SAS v.9 para Windows®. El incremento en el tamaño de la colonia fue calculado restando el tamaño de la colonia de un día determinado al tamaño de la colonia el día anterior y los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis de regresión. Para los resultados *in vivo* se determinó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad mediante el método antes descrito. Los valores de crecimiento micelial mínimos y de producción de esporas máximos fueron estimados a partir de la ecuación de regresión generada por el modelo con la ayuda del comando Solver de Microsoft Excel®.

Resultados y discusión

Experimentos *in vitro*

Crecimiento micelial

Los datos mostraron una disminución en el crecimiento del micelio de *P. expansum* en la concentración más alta de extracto de canela. El crecimiento micelial registrado en esta concentración fue estadísticamente igual al crecimiento registrado cuando el patógeno se desarrolló en presencia del testigo químico. En contraste los efectos de las concentraciones menores a 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ resultaron iguales a las observadas en el tratamiento testigo (Cuadro 1).

The increase in colony size was calculated by subtracting the colony size of a given day to the size of the colony the day before and the results obtained were subjected to regression analysis. For *in vivo* results the area under the curve of progress of the disease by the method described above. The minimum values mycelial growth and spore production maximum was estimated from the regression equation generated by the model using the Solver command of Microsoft Excel®.

Results and discussion

In vitro experiments

Mycelial growth

The data showed a decrease in the growth of mycelium of *P. expansum* at the highest concentration of cinnamon extract. The mycelial growth in this concentration was statistically the same as in growth when the pathogen was developed in the presence of chemical control. In contrast the effects of concentrations less than 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ were equal to those observed in the control treatment (Table 1).

The mycelial growth in Petri dishes containing cinnamon extract was lower compared to the control. Mathematical models allowed us to estimate that in the presence of the essential oil of cinnamon to a concentration of 300 $\mu\text{L L}^{-1}$, the pathogen stopped growing 81 h after seeding, while the fungus growing in medium free of essential oil of cinnamon never completely stopped its growth; however, he showed a minimal increase of size 90.3 h after plating, that is, about eight hours after treatment with 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ essential oil (Figure 1). In the present experiment the essential oil of cinnamon showed growth inhibition of the pathogen; however, after a few hours that growth was restored, so a fungistatic effect was observed.

The increase in the mycelial diameter of *Penicillium* growing in cinnamon extract was adjusted to an equation of the form $y = 9.6726 \times 10^{-5} X^2 + -0.015 X + 0.636$; where y = mycelial growth and X = hours after seeding. While the witness was adjusted to an equation of the form $y = 0.0001 X^2 - 0.0215 X + 0.984$. The coefficient of determination was 0.7 and 0.6 respectively.

Cuadro 1. Efecto del aceite esencial de canela sobre el crecimiento micelial del hongo *Penicillium expansum* a los ocho días después de la siembra y en el crecimiento total.**Table 1. Effect of essential oil of cinnamon on mycelial growth of the fungus *Penicillium expansum* eight days after sowing and overall growth.**

| Concentración de Canela (Porcentaje de extracto v/v) | Promedio de crecimiento 8 días después de la siembra (cm) [†] | Área bajo la curva del crecimiento micelial ^{††} |
|---|---|--|
| Testigo absoluto | 1.02 a | 6.47 a |
| Extracto de canela 60 $\mu\text{L L}^{-1}$ | 1.16 a | 6.22 a |
| Extracto de canela 120 $\mu\text{L L}^{-1}$ | 1.44 a | 5.78 a |
| Extracto de canela 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ | 0.81 b | 1.95 b |
| Imazalil (500 mg L^{-1}) | 0 b | 0 b |
| DMS* | 0.95 | 2.05 |

[†]Letras iguales entre columnas no indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p=0.05$). DMS= diferencia mínima significativa. ^{††}El cálculo del área bajo la curva arroja números adimensionales.

El crecimiento del micelio en las cajas de Petri que contenían extracto de canela fue menor en comparación con el testigo. Los modelos matemáticos permitieron estimar que en presencia del aceite esencial de canela a una concentración de 300 $\mu\text{L L}^{-1}$, el patógeno detuvo su crecimiento 81 h después de la siembra, mientras que el hongo que crecía en medio libre de aceite esencial de canela nunca detuvo por completo su crecimiento; sin embargo, mostró un incremento mínimo de su tamaño 90.3 h después de la siembra, esto es, aproximadamente ocho horas después del tratamiento con 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ de aceite esencial (Figura 1). En el presente experimento el aceite esencial de canela mostró una inhibición del crecimiento del patógeno; sin embargo, después de algunas horas dicho crecimiento se restableció, por lo cual se observó un efecto fungistático.

El incremento en el diámetro micelial de *Penicillium* creciendo en el extracto de canela se ajustó a una ecuación de la forma $y=9.6726 \times 10^{-5} X^2 + -0.015 X + 0.636$; donde y = crecimiento micelial y X = horas después de la siembra. Mientras que el testigo se ajustó a una ecuación de la forma $y=0.0001 X^2 -0.0215 X + 0.984$. El coeficiente de determinación fue de 0.7 y 0.6 respectivamente.

El efecto antimicrobiano de los extractos de canela se reportó previamente por (Tzortzakis, 2009), que logró inhibir el crecimiento de la colonia de dos especies del género *Colletotrichum* y una del género *Rhizopus* que afectan frutos en poscosecha, así como la producción de esporas de una especie del género *Botrytis* y otra del género *Aspergillus*. Desde hace algunos años se conoce que el aceite esencial de canela contiene concentraciones elevadas de cinamaldeído y eugenol compuestos que posiblemente sean los responsables de inhibir el crecimiento micelial (Helander, *et al.*, 1995).

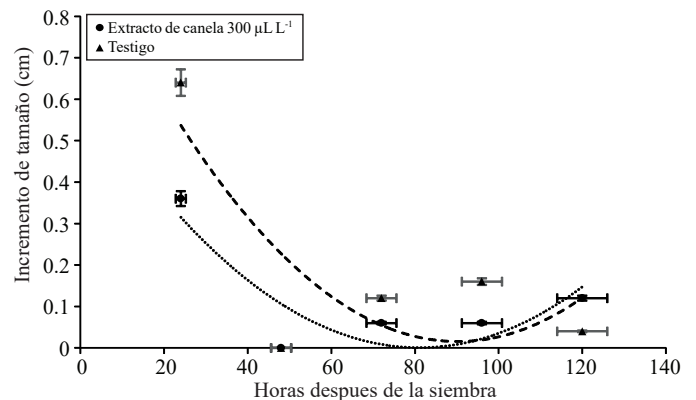


Figura 1. Efecto del aceite esencial de canela a 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ sobre el incremento en el diámetro micelial de *Penicillium* sp. en comparación con el tratamiento testigo (micelio creciendo en papa dextrosa-agar) en los primeros cinco días después de la siembra.

Figure 1. Effect of cinnamon essential oil to 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ on the increase in the mycelial diameter of *Penicillium* sp. compared to the control treatment (mycelium growing in agar potato-dextrose) in the first five days after planting.

The antimicrobial effect of cinnamon extracts previously reported by (Tzortzakis, 2009), which managed to inhibit the growth of the colony of two species of *Colletotrichum* and the genus *Rhizopus* affecting fruit in postharvest, and the production of spores a species of *Botrytis* and other of genus *Aspergillus*. For some years it is known that the essential oil of cinnamon contains high concentrations of cinnamaldehyde and eugenol compounds that may be responsible for inhibiting the mycelial growth (Helander *et al.*, 1995). Recently it used the essential oil of cinnamon to impregnate films that coat fruits for control of *Penicillium* (Montero-Prado *et al.*, 2011). In this paper the results showed that cinnamon oil achieved a significant decrease

Recientemente se ha utilizado el aceite esencial de canela para impregnar películas que recubren a los frutos para el control de *Penicillium* (Montero-Prado, *et al.*, 2011). En el presente trabajo los resultados mostraron que el aceite de canela logró una disminución significativa en el crecimiento del micelio del patógeno. Algunos autores han reportado que la efectividad de las aplicaciones de extractos de canela por medio de inmersión o aspersión son efectivos debido a que los compuestos hidrofóbicos presentes en los extractos se unen a los compuestos hidrofóbicos celulares afectando la actividad de las membranas celulares (Avila, *et al.*, 2012).

Esporulación

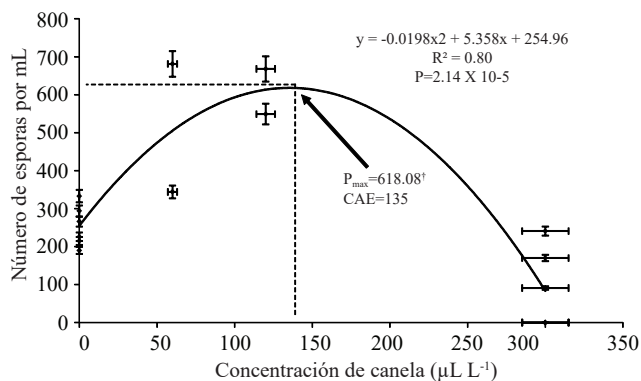
Los resultados mostraron que el aceite esencial de canela ocasionó un incremento en la cantidad de esporas producidas por *P. expansum*. Los modelos matemáticos permitieron estimar el valor máximo de dicha producción (618.08 esporas mL⁻¹) cuando el hongo se colocó en 135 µL L⁻¹ de aceite esencial de canela. El mismo modelo matemático permitió observar que al incrementar la concentración de extracto de canela por encima de ese valor (135 µL L⁻¹) la cantidad de esporas producidas disminuyó hasta inhibir por completo la producción de esporas con 312.38 µL L⁻¹ (Figura 2). Otros autores han encontrado un comportamiento similar en algunos otros procesos fisiológicos de los hongos cuando son expuestos a diferentes concentraciones de aceites esenciales de canela, por ejemplo (Tzortzakakis, 2009), encontraron un incremento en la germinación de las esporas y tamaño del tubo germinativo de *Aspergillus niger* cuando estas se colocaron en presencia de 25 o 50 ppm de extracto de canela, en contraste en concentraciones superiores a las 100 ppm ambas variables mostraron valores más bajos en relación con el testigo. Otras géneros como *Colletotrichum coccodes* y *Rhizopus stolonifer* mostraron una disminución en la germinación de las esporas por lo cual es posible que esta respuesta sea propia de cada especie.

La producción de esporas, conidios, cleistotecios y esclerocios está influenciada por factores relacionados con los compuestos presentes en el medio de crecimiento o factores ambientales (Calvo *et al.*, 2002). En el caso de *Penicillium* las condiciones necesarias para la producción de esporas, son mucho más restrictivas que las necesarias para el crecimiento vegetativo (Sekiguchi y Gaucher, 1977). Lo anterior, es un indicador de que este proceso fisiológico es mucho más propenso a cambios que el crecimiento micelial.

in mycelial growth of the pathogen. Some authors have reported that the effectiveness of applications cinnamon extracts by immersion or spraying are effective because the hydrophobic compounds present in the extracts bind to cellular hydrophobic compounds affecting the activity of cell membranes (Avila *et al.*, 2012).

Sporulation

The results showed that the essential oil of cinnamon caused an increase in the amount of spores produced by *P. expansum*. The mathematical models to estimate the maximum allowed value of production (618.08 spores mL⁻¹) when the fungus was placed in 135 µL L⁻¹ essential oil of cinnamon. The same mathematical model allowed us to observe that increasing the concentration of cinnamon extract above that value (135 µL L⁻¹) the amount of spores produced decreased to completely inhibit spore production with 312.38 µL L⁻¹ (Figure 2). Other authors have found similar behavior in some other physiological processes fungi when exposed to different concentrations of essential oils of cinnamon, for example (Tzortzakakis, 2009), found an increase in spore germination and size of the germ tube *Aspergillus niger* when these were placed in presence of 25 or 50 ppm cinnamon extract, in contrast to higher than 100 ppm both variables showed lower values in relation to the control concentration. Other genres such as *Colletotrichum coccodes* and *Rhizopus stolonifer* showed a decrease in germination of spores so it is possible that this response is characteristic of each species.



Donde: †P_{max} = producción máxima de esporas por mililitro; CAE = concentración de aceite esencial de canela en µL L⁻¹; ambos parámetros fueron estimados a partir de ecuación de la forma $y = ax^2 + bx + c$; y = Número de esporas por mililitro, x = concentración de aceite esencial de canela. Los coeficientes de la ecuación aparecen en la figura.

Figura 2. Efecto del extracto de canela sobre la producción de esporas en *Penicillium expansum*.

Figure 2. Effect of cinnamon extract on spore production in *Penicillium expansum*.

En el presente trabajo el crecimiento micelial se vio inhibido cuando el hongo creció en presencia de 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ de aceite esencial de canela (Figura 1), por otro lado, la producción de esporas se incrementó en presencia de dosis inferiores a 135 $\mu\text{L L}^{-1}$. Cuando el hongo creció dosis superiores a este valor disminuyó hasta inhibirse por completo (Figura 2).

Experimentos *in vivo*

Los frutos tratados con 300 $\mu\text{L/L}$ de aceite esencial de canela mostraron un desarrollo de la enfermedad similar al de los frutos tratados con Imazalil a 500 mg L^{-1} . En ambos casos el desarrollo de la enfermedad fue menor al del tratamiento testigo. En contraste las dosis de 60 y 120 $\mu\text{L L}^{-1}$ de aceite esencial de canela no mostraron diferencias estadísticas significativas en comparación con el tratamiento testigo (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto de diferentes concentraciones de aceite esencial de canela e imazalil sobre el desarrollo de la enfermedad durante ocho días producida por *Penicillium expansum* sobre frutos de pera en poscosecha.

Table 2. Effect of different concentrations of cinnamon essential oil and imazalil on the development of the disease for eight days produced by *Penicillium expansum* on pear fruit postharvest.

| Dosis de aceite de canela ($\mu\text{L L}^{-1}$) e Imazalil (mg L^{-1}) | Área bajo la curva del progreso de la enfermedad [†] |
|--|---|
| 0 | 5327.3 a |
| 60 | 4886.5 a |
| 120 | 4409.6 ab |
| 300 | 3425.9 b |
| Imazalil (500 mg/L) | 3784.1 b |
| DMS* | 1000.6 |

[†]Letras iguales entre tratamientos no indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p=0.05$). El cálculo del área bajo la curva arroja números adimensionales.

*DMS= diferencia mínima significativa.

Durante los primeros días después de la inoculación, los frutos testigo así como los tratados con aceite esencial de canela a 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ o imazalil a 500 mg L^{-1} , mostraron un comportamiento similar en cuanto al desarrollo de la enfermedad, sin embargo a partir del día número cinco, estos mismos frutos presentaron un desarrollo de los síntomas mucho más lentos en relación con los frutos no tratados.

A pesar de que tanto imazalil como el aceite esencial de canela mostraron un efecto significativo en el desarrollo de la enfermedad, *Penicillium expansum* continuo creciendo en los frutos tratados con ambos productos, aunque a un ritmo mucho menor que los frutos no tratados. En el último día de evaluación el área bajo la curva del progreso de la enfermedad de los frutos no tratados fue de 1 032 unidades, mientras que para los frutos tratados con aceite esencial de canela a 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ fue de 513 unidades, lo cual representa una disminución

The production of spores, conidium, sclerotia and cleistothecia is influenced by factors related to the compounds present in the growth medium or environmental factors (Calvo *et al.*, 2002). In the case of *Penicillium* necessary for spore production conditions are much more restrictive than those required for vegetative growth (Sekiguchi and Gaucher, 1977). This is an indication that this physiological process is much more prone to changes mycelial growth.

In this paper the mycelial growth was inhibited when the fungus grew in the presence of 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ essential oil of cinnamon (Figure 1), on the other hand, spore production was increased in the presence of lower doses at 135 $\mu\text{L L}^{-1}$. When the fungus grew doses above this value decreased to completely inhibited (Figure 2).

In vivo experiments

The fruit treated with 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ essential oil of cinnamon oil showed development similar to the fruit treated with Imazalil at 500 mg L^{-1} condition. In both cases the development of the disease was lower than the control treatment. In contrast doses of 60 and 120 $\mu\text{L L}^{-1}$ essential oil of cinnamon showed no statistically significant differences compared to the control treatment (Table 2).

During the first days after inoculation, the fruits witness as well as those treated with essential oil of cinnamon 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ or imazalil at 500 mg L^{-1} , they showed similar in the development of disease behavior, however from the day number five, the same fruits showed a development of symptoms much slower relative to untreated fruits.

en el progreso de la enfermedad de 49.7%, por otro lado los frutos tratados con imazalil mostraron una disminución en el progreso de la enfermedad de 47.8% (Figura 3).

El modelo de regresión ajustado para aceite esencial de canela fue; $y = -20.31549x + 4.31269624x^2 + 347.0032$, $R^2 = 0.74$; para Imazalil fue $y = 34.382655x - 1.281755x^2 + 288.6624$, $R^2 = 0.71$; para los frutos no tratados (testigo) el modelo fue; $y = -77.11011x + 15.594707x^2 + 462.82721$, $R^2 = 0.98$; donde: $y =$ días después de la inoculación de los frutos con *Penicillium*, $x =$ área bajo la curva del progreso de la enfermedad.

Desde hace algún tiempo es conocido que el aceite esencial de canela tiene una marcada efectividad biológica en contra de algunos microorganismos (Mahdi-Ojagh, *et al.*, 2010). Los extractos de aceite esencial de canela se utilizan para el control de patógenos asperjándolos sobre los frutos o bien sumergiendo los frutos directamente en el extracto logrando incrementar la vida de anaquel (Ranasinghe, *et al.*, 2003); sin embargo, en la mayoría de los trabajos de investigación se utilizan los extractos en combinación con otros métodos de control; por ejemplo, (Kyu Kyu Win, *et al.*, 2007) encontraron una disminución estadísticamente significativa de la severidad en frutos de bananos cuando se inoculaban con *C. musae* and *Fusarium* spp, sin embargo, estos autores almacenaron los frutos a 13 °C, por lo cual el efecto observado sobre la severidad se debe no solo al extracto, sino a la interacción de éste con las temperaturas utilizadas. En otros trabajos se reportan resultados con la misma tendencia utilizando metodologías similares, (Melgarejo-Flores, *et al.*, 2013) encontraron una disminución significativa en la severidad de las enfermedades ocasionadas por hongos en frutos de uva tratados con diferentes concentraciones de compuestos obtenidos de la canela; sin embargo, en la investigación antes mencionada los frutos fueron almacenados a 15 °C.

En el presente trabajo los frutos fueron almacenados en condiciones de temperatura ambiente ($25 \pm$ °C) y una alta humedad relativa (+90%) lo cual podría incrementar la tasa respiratoria de los frutos, con el consecuente incremento en la producción de CO₂ y etileno (Taiz y Zeiguer, 2010). Algunos autores (Chilea *et al.*, 1985) han señalado que este gas puede actuar como un factor de patogenicidad en las infecciones ocasionadas por *Penicillium*. Debido a lo anterior, las condiciones en las cuales se realizó el presente estudio pudieron proporcionar al patógeno una ventaja significativa para ocasionar daños en los frutos de pera, a pesar de las condiciones mencionadas anteriormente, el aceite esencial de canela fue tan eficiente como el imazalil para disminuir el progreso de la enfermedad en comparación con el testigo,

Although both imazalil as cinnamon essential oil showed a significant effect on the development of the disease, *Penicillium expansum* continued to grow in the fruits treated with both products, although at a much slower pace than untreated fruits. On the last day of assessment the area under the curve of progress of disease of untreated fruit was 1 032 units, whereas for fruit treated with essential oil of cinnamon 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ was 513 units, which a decrease in disease progression 49.7%, on the other hand the fruits treated with imazalil showed a decrease in disease progression 47.8% (Figure 3).

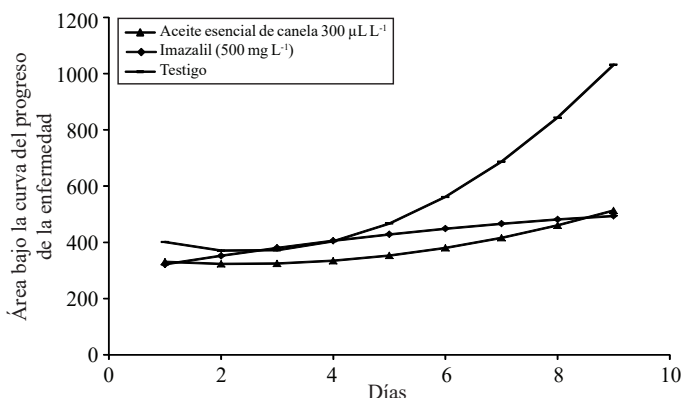


Figura 3. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad en frutos de pera tratados con aceite esencial de canela a 300 $\mu\text{L L}^{-1}$, imazalil a una concentración de 500 mg L^{-1} y frutos no tratados.

Figure 3. Area under the curve of progress of the disease in pear fruit treated with essential oil of cinnamon 300 $\mu\text{L L}^{-1}$, imazalil at a concentration of 500 mg L^{-1} and untreated fruit.

The regression model adjusted for cinnamon essential oil was; $y = -20.31549x + 4.31269624x^2 + 347.0032$, $R^2 = 0.74$; for Imazalil was $y = 34.382655x - 1.281755x^2 + 288.6624$, $R^2 = 0.71$; fruits for untreated (control) was the model; $y = -77.11011x + 15.594707x^2 + 462.82721$, $R^2 = 0.98$; where: $y =$ days after inoculation fruit with *Penicillium*, $x =$ area under the curve of disease progression.

For some time it is known that the essential oil of cinnamon has a strong biological effectiveness against certain microorganisms (Mahdi-Ojagh *et al.*, 2010). Extracts of essential oil of cinnamon is used to control sprinkling them pathogens on fruit or by immersing the fruits directly in the extract thereby increasing shelf life (Ranasinghe *et al.*, 2003); however, in most research extracts are used in combination with other control methods; for example, (Kyu Kyu Win *et al.*, 2007) found a statistically significant decrease in the severity fruits of bananas when inoculated with *C. musae* and *Fusarium* spp however, these authors fruits stored at

con la ventaja de que el aceite esencial de canela ofrece un riesgo mínimo para la salud de los seres humanos, ya que se utiliza como ingrediente habitual de algunos alimentos.

Conclusiones

Los resultados del experimento *in vitro* mostraron que el aceite esencial de canela a una concentración de 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ logró inhibir el crecimiento micelial de *Penicillium expansum*. A partir de 135 $\mu\text{L L}^{-1}$ se disminuyó la producción de esporas; sin embargo, a dosis menores a esta, la cantidad de esporas se incrementó. En el experimento *in vivo* *Penicillium expansum* mostró un crecimiento micelial estadísticamente igual cuando creció sobre frutos de pera asperjados con 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ de aceite esencial de canela en comparación al patógeno creciendo en presencia del testigo químico (Imazalil). Lo anterior soporta la idea de que el aceite de canela puede ser un compuesto de utilidad para mantener la vida de anaquel de frutos de pera en poscosecha.

Agradecimientos

Se agradece a la Universidad Politécnica de Francisco I. Madero por su valioso y continuo apoyo para la realización del presente trabajo.

Literatura citada

- Amadioha, A. C. 2000. Controlling rice blast in vitro and in vivo with extracts of *Azadirachta indica*. *Crop Protection*. 19:287-290.
- Avila, S. R.; Palou, E.; Jiménez, M. M. T.; Nevárez, M. G. V.; Navarro, C. A. R. and López, M. A. 2012. Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. *Int. J. Food*. 153:66-72.
- Ayala, Z. J. F.; Del Toro, S. L.; Alvarez, P. E.; Soto, V. H.; Martin, B. O.; Ruiz, C. S. and González, A. G. 2008. Natural antimicrobial agents incorporated in active packaging to preserve the quality of fresh fruits and vegetables. *Stewart Postharvest Review*. 4:1-9.
- Azzouz, M. A. and Bullerman, L. B. 1982. Comparative antimycotic effects of selected herbs, spices, plant components and commercial antifungal agents. *J. Food Protection*. 45:1298-1301.
- Baraldi, E.; Mari, M.; Chierici, E.; Pondrelli, M.; Bertolini, P. and Pratella, G. C. 2003. Studies on thiabendazole resistance of *Penicillium expansum* of pears: pathogenic fitness and genetic characterization. *Plant Pathol*. 52:362

13 °C, so the observed effect on the severity is due not only to extract, but its interaction with the temperatures used. In other work results with the same trend are reported using similar methodologies (Melgarejo-Flores *et al.*, 2013) found a significant decrease in the severity of disease caused by fungus grape fruits treated with different concentrations of compounds obtained from the cinnamon; however, in the above research fruits they were stored at 15 °C.

In this work the fruits were stored at ambient temperature (25 \pm °C) and high humidity (+ 90%) which could increase the respiration rate of the fruit, with the consequent increase in CO₂ production and ethylene (Taiz and Zeiguer, 2010). Some authors (Chilea *et al.*, 1985) have pointed out that this gas can act as a pathogenic factor in infections caused by *Penicillium*. Because of this, the conditions under which this study was able to provide the pathogen a significant advantage to cause damage to the fruits of pear, despite the above conditions, the essential oil of cinnamon was as efficient as imazalil to slow the progress of the disease compared to the control, with the advantage that the essential oil of cinnamon provides minimal risk to the health of humans, since it is used as a typical ingredient of some foods.

Conclusions

The results of the *in vitro* experiment showed that the essential oil of cinnamon to a concentration of 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ was able to inhibit the mycelial growth of *Penicillium expansum*. From 135 $\mu\text{L L}^{-1}$ spore production was decreased; however, at lower at this dose, the amount of spores increased. In the *in vivo* experiment *Penicillium expansum* mycelial growth showed a statistically equal when it grew on pear fruit sprinkled with 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ essential oil of cinnamon compared to the pathogen to grow in the presence of chemical control (imazalil). This supports the idea that cinnamon oil can be a compound useful to maintain the shelf life of fruit postharvest pear.

End of the English version



- Calvo, A. M.; Wilson, R. A.; Woo, B. J. and Keller, N. P. 2002. Relationship between secondary metabolism and fungal development. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 3:447-459.
- China Pharmacopoeia Commission, 2010. Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2010. Chinese Medical Science and Technology Press, Beijing, China. 63-127 pp.

- Chang, S. T.; Chen, P. F. and Chang, S. C. 2001. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *J. Ethnopharmacol.* 77:123-127.
- Chilea, O.; Fuchs, Y.; Chalutz, E. and Rot, I. 1985. The contribution of host and pathogen to ethylene biosynthesis in *Penicillium dig&turn*-infected citrus fruit. *Physiol. Plant Pathol.* 27:55-63.
- Goubran, F. H. and Holmes, R. J. 1993. The development of alternative fungicides from essential oils. Victoria, Australia: Institute for Horticultural Development, Knoxfield, Department of Agriculture. 45 p.
- Hao, W.; Zhong, G.; Hu, M.; Luo, J.; Weng, Q. and Rizwan-ul-Haq, M. 2010. Control of citrus postharvest green and blue mold and sour rot by tea saponin combined with imazalil and prochloraz. *Postharvest Biol. Technol.* 56:39-43.
- Helander, I. M.; Alakomi, H. L. and Latva-Kala, K. M. 1995. Characterization of the action of selected essential oil components on Gramnegative bacteria. *J. Agric. Food Chem.* 46:3590-3595.
- Kim, H. O.; Park, S. W. and Park, H. D. 2004. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 by cinnamic aldehyde purified from *Cinnamomum cassia* shoot. *Food Microbiol.* 21:105-110.
- Koffmann, W.; Penrose, L. J.; Menzies, A. R.; Davis, K. C.; Kaldor, Jill. 1978. Control of benzimidazole-tolerant *Penicillium expansum* in pome fruit. *Sci. Hortic.* 9:31-39.
- Kyu Kyu Win, N.; Jitareerat, P.; Kanlayanarat, S. and Sangchote, S. 2007. Effects of cinnamon extract, chitosan coating, hot water treatment and their combinations on crown rot disease and quality of banana fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 45:333-340.
- Liengme B. V. 2002. A guide to microsoft excel for scientists and engineers. 2 (Ed.). Butterworth-Heinemann. Oxfordshire, England. 271 p.
- Lima, G.; De Curtis, F; Castoria, R. and De Cicco, V. 2011. Activity of the yeasts *Cryptococcus laurentii* and *Rhodotorula glutinis* against post-harvest rots on different fruits. *Bio. Sci. Technol.* 8:257-267.
- Mahdi-Ojagh, S.; Rezaei, M.; Hadi-Razavi, S. and Hashem-Hosseini, S. M. 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chem.* 122:161-166.
- Manso, S.; Pezo, D. and Gómez, L, R. 2014. Diminution of aflatoxin B1 production caused by an active packaging containing cinnamon essential oil. *Food Control.* 45:101-108.
- Melgarejo, F. B. G.; Ortega, R. L. A.; Silva, E. V. C.; González, A. G. A.; Miranda, M. R. A. and Ayala, Z. J. F. 2013. Antifungal protection and antioxidant enhancement of table grapes treated with emulsions, vapors, and coatings of cinnamon leaf oil. *Postharvest Biol. Technol.* 86:321-328.
- Montero, P. P.; Rodríguez, L. A. and Nerin, C. 2011. Active label-based packaging to extend the shelf-life of "Calanda" peach fruit: changes in fruit quality and enzymatic activity. *Postharvest Biol. Technol.* 60:211-219.
- Nielsen, P. V. and Rios, R. 2000. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *Int. J. Food Microbiol.* 60:219-229.
- Paran, B.; Sharma, R. K.; Singh, R. S.; Ghosh, A. C. and Baruah, P. 1996. Fungicidal activity of some naturally occurring essential oils against *Fusarium moniliformae*. *J. Essential Oil Res.* 8:411-412.
- Paranagama, P. A.; Abeysekera, K. H. T.; Abeywickrama, K. and Nugaliyadd, L. 2003. Fungicidal and anti-aflatoxigenic effects of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (lemongrass) against *Aspergillus flavus* Link. isolated from stored rice. *Letters Appl. Microbiol.* 37:86-90.
- Ranasinghe, L.; Jayawardena, B. and Abeywickrama, K. 2002. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L. M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. *Letters Appl. Microbiol.* (35):208-211.
- Ranasinghe, L.; ayawardena, B. and Abeywickrama, K. 2003. Use of waste generated from cinnamon bark oil (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) extraction as a post harvest treatment for Embul banana. *J. Food Agric. Environ.* 1:340-344.
- Rosenberger, D. A. 1990. Blue mold. *In*: Jones, A. L. and Aldwinkle, H. S. (Eds.). Compendium of apple and pear diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. 54-55 pp.
- Sharma, R.; Singh, D. and Singh, R. 2009. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: a review. *Biological Control.* 50:205-221.
- Seifer, K.; Morgan, J. G.; Gams, W. and Bryce, K. 2011. The genera of Hyphomycetes. CBS-KNAW fungal biodiversity Centre Utrecht, The Netherlands. 997 p.
- Sekiguchi, J. and Gaucher, G. M. 1977. Conidiogenesis and secondary metabolism in *Penicillium urticae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 33:147-158.
- Singh, G.; Maurya, S.; Lampasona, M. P. and Catalán, A. N. C., 2007. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food and Chemical Toxicology.* 45:1650-1661.
- Taiz, L. and Zeiguer, E. 2010. *Plant Physiology*. 5 ed. Sinauer Associates. United States. 623 p.
- Tzortzakis, N. G. 2007. Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds. *Inn. Food Sci. Emer. Technol.* 8:111-116.
- Tzortzakis, N. G., 2009. Impact of cinnamon oil-enrichment on microbial spoilage of fresh produce. *Inn. Food Sci. Emer. Technol.* 10:97-110.