

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

**Centro Universitario de Ciencias Biológicas y
Agropecuarias**

División de Ciencias Biológicas y Agropecuarias



**“AISLAMIENTO DE HONGOS CAUSANTES DE ENFERMEDADES
DE POSTCOSECHA Y ALGUNOS POTENCIALES ANTAGONISTAS
DE FRUTOS DE MANGO (*Mangifera indica*) c.v. Tommy Atkins”**

TRABAJO DE TITULACIÓN EN LA MODALIDAD DE

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

MARCELA RAQUEL HERNÁNDEZ PINTADO

Zapopan, Jalisco, Enero 2008.



Universidad de Guadalajara
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y
Agropecuarias

Coordinación de Titulación y Carrera de Licenciatura
en Biología

1025/ C. C. BIOLOGÍA

C. MARCELA RAQUEL HERNÁNDEZ PINTADO
PRESENTE

Manifestamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de: Tesis e Informes opción Tesis con el título: "AISLAMIENTOS DE HONGOS CAUSANTES DE ENFERMEDADES DE POSTCOSECHA Y ALGUNOS POTENCIALES ANTAGONISTAS DE FRUTOS DE MANGO (*Mangifera indica*) C. V. TOMMY ATKINS" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director / a de dicho trabajo el/la: **DR. PORFIRIO GUTIERREZ MARTÍNEZ** y el asesor/es es el/la: **DRA. LUCILA MÉNDEZ MORÁN.**

Sin más por el momento, le envío un caluroso saludo.

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"
Las Agujas, Zapopan., 7 de Marzo del 2007.


DR. CARLOS ÁLVAREZ MOYA
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN



M en C. ISELA LETICIA ALVAREZ BARAJAS
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

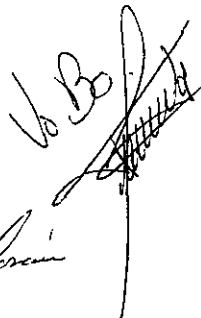
Dr. Fco. Martín Huerta Martínez.
 Presidente del Comité de Titulación.
 Carrera de Licenciado en Biología.
 CUCBA.
 Presente

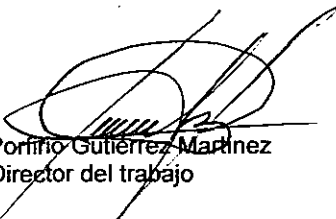
Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad Tesis o informes, opción Tesis con el título: "AISLAMIENTO DE HONGOS CAUSANTES DE ENFERMEDADES DE POSTCOSECHA Y ALGUNOS POTENCIALES ANTAGONISTAS DE FRUTOS DE MANGO (*Mangifera indica*) c.v. TOMMY ATKINS" que realizó la pasante Marcela Raquel Hernández Pintado, con número de código B00001651, consideramos que ha quedado debidamente concluido por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

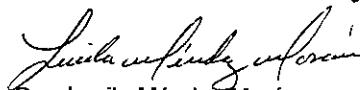
Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.


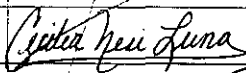


Atentamente

Las Agujas, Zapopan, Jal., 16 de Enero del 2008.

VB



 Dr. Porfirio Gutiérrez Martínez
 Director del trabajo


 Dra. Lucila Méndez Morán
 Asesor

Nombre completo de los Sinodales asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobado	Fecha de aprobación
Biol. Sergio Álvarez Barajas		16-01-08
Dra: Cecilia Neri Luna		30 NOV 2007
Dr. Ramón Rodríguez Macías		30 NOV 2007
Supl. Dr. Gil Virgen Calleros		16/01/2008

*A mis padres, Susana y Francisco, y a mi hermano,
por los sacrificios, el apoyo, el amor y la paciencia*

A mi hijo, Kaleb, por quien vivo y sigo adelante

AGRADECIMIENTOS

Al Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias y a mis maestros por la formación recibida y los maravillosos años de estudio.

Al Instituto Tecnológico de Tepic por proporcionarme sus instalaciones para la realización de este trabajo.

Al Dr. Porfirio Gutiérrez Martínez del Instituto Tecnológico de Tepic, por su excelente dirección, confianza, apoyo y sobretodo por su paciencia y buen humor.

A mi asesora la Dra. Lucila Méndez Morán por su tiempo y consejo.

A mi gran amiga Laura González Morelos por su compañía y ayuda en el laboratorio, por las palabras de aliento, los consejos, y por creer en mí.

Al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Nayarit (COCYTEN) por la beca otorgada para la realización de esta Tesis.

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS EN EL TEXTO	iv
LISTA DE FIGURAS EN EL TEXTO	v
RESUMEN	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
2.1 Generalidades del Mango	2
2.1.1 Taxonomía y aspectos botánicos	2
2.1.2 Historia, origen y distribución	3
2.1.3 Variedades	3
2.1.4 Producción	8
2.2 Postcosecha de Mango	12
2.2.1 Pérdidas postcosecha	13
2.2.2 Medidas para disminuir las pérdidas postcosecha	15
2.2.3 Control de enfermedades postcosecha	16
2.3 Control Biológico	23
2.3.1 Microorganismos antagonistas	23
2.3.2 Uso de microorganismos antagonistas en la postcosecha	27
2.4 Realce del Control Biológico	30
2.5 Control Biológico Postcosecha en Mango	35
III. OBJETIVOS	37
3.1 Objetivo General	37
3.1.1 Objetivos Particulares	37
IV. METODOLOGÍA	38

4.1 Aislamiento e Identificación de Hongos Patógenos de como Agentes Causales de Enfermedad en Mango c.v. Tommy Atkins	38
4.1.1 Muestreo y siembra de tejidos lesionados para el aislamiento de patógenos <i>in vitro</i>	38
4.1.2 Aislamiento de patógenos	39
4.1.3 Identificación de hongos patógenos	39
4.1.4 Pruebas de patogenicidad	39
4.2 Aislamiento de Microorganismos Antagonistas	41
4.3 Determinación de la Actividad Antagónica de los Aislados <i>in vitro</i>	41
4.3.1 Pruebas de antagonismo	42
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
5.1 Aislamiento e Identificación de Patógenos como Agentes Causales de la Enfermedad	43
5.1.1 Aislamiento e identificación de hongos patógenos	43
5.1.2 Pruebas de patogenicidad	49
5.2 Aislamiento de Microorganismos Antagonistas	50
5.3 Determinación de la Actividad Antagónica de los Aislados <i>in vitro</i>	54
5.3.1 Pruebas de antagonismo	54
VI. CONCLUSIÓN	65
VII. LITERATURA CITADA	67
VIII. APÈNDICE	80

LISTA DE TABLAS

Contenido	Página
Tabla 1 Producción agrícola de mango. Ciclo: Cíclicos y Perennes 2005.	9
Tabla 2 Origen de la fruta exportada 2005.	10
Tabla 3 Superficies sembrada y cosechada, volumen y valor de la producción de mango por municipios. Ciclo: Cíclicos y Perennes 2005.	11
Tabla 4 Producción agrícola mango Tommy Atkins. Ciclo: Cíclicos y Perennes 2005.	12
Tabla 5 Hongos patógenos aislados a partir de frutos de mango y género al que pertenecen.	43
Tabla 6 Antagonistas y su capacidad para crecer en los diferentes medios de cultivo.	50
Tabla 7 Aspecto de las colonias de potenciales antagonistas aislados.	51

LISTA DE FIGURAS

Contenido	Página
Figura 1 Mango c.v. Tommy Atkins.	4
Figura 2 Mango c.v. Haden.	5
Figura 3 Mango c.v. Manila.	5
Figura 4 Mango c.v. Kent.	6
Figura 5 Mango c.v. Keitt.	7
Figura 6 Mango c.v. Ataúlfo.	7
Figura 7 Producción mundial del mango 2005.	8
Figura 8 Principales exportadores de mango 2004.	10
Figura 9 Aspecto macroscópico y microscópico de la colonia del patógeno identificado como <i>Alternaria</i> sp. (H1).	45
Figura 10 Aspecto macroscópico y microscópico de la colonia del patógeno identificado como <i>Curvularia</i> sp. (H2).	46
Figura 11 Aspecto macroscópico y microscópico de la colonia del patógeno identificado como <i>Aspergillus</i> sp (H3).	47
Figura 12 Aspecto macroscópico y microscópico de la colonia del patógeno identificado como <i>Penicillium</i> sp (H4).	48
Figura 13 Aspecto macroscópico y microscópico de la colonia del patógeno identificado como <i>Penicillium</i> sp (H5).	49
Figura 14 Aspecto microscópico del antagonista 1 (A1) con tinción de Gram.	51
Figura 15 Aspecto microscópico del antagonista 2 (A2) con tinción de Gram.	52
Figura 16 Aspecto microscópico del antagonista 3 (A3) con tinción de Gram.	52
Figura 17 Aspecto microscópico del antagonista 4 (A4) con tinción de Gram.	53

- Figura 18** Crecimiento promedio en diámetro de *Alternaria* sp. (H1) en cada uno de los antagonistas potenciales (A) y porcentaje de inhibición del crecimiento miceliar (B). 55
- Figura 19** Crecimiento promedio en diámetro de *Curvularia* sp. (H2) en cada uno de los antagonistas potenciales (A) y porcentaje de inhibición del crecimiento miceliar (B). 57
- Figura 20** Crecimiento promedio en diámetro de *Aspergillus* sp. (H3) en cada uno de los antagonistas potenciales (A) y porcentaje de inhibición del crecimiento miceliar (B). 59
- Figura 21** Crecimiento promedio en diámetro de *Penicillium* sp. (H4) en cada uno de los antagonistas potenciales (A) y porcentaje de inhibición del crecimiento miceliar (B). 61
- Figura 22** Crecimiento promedio en diámetro de *Penicillium* sp. (H5) en cada uno de los antagonistas potenciales (A) y porcentaje de inhibición del crecimiento miceliar (B). 63

Figura 18	Crecimiento promedio en diámetro de <i>Alternaria</i> sp. (H1) en cada uno de los antagonistas potenciales (A) y porcentaje de inhibición del crecimiento miceliar (B).	55
Figura 19	Crecimiento promedio en diámetro de <i>Curvularia</i> sp. (H2) en cada uno de los antagonistas potenciales (A) y porcentaje de inhibición del crecimiento miceliar (B).	57
Figura 20	Crecimiento promedio en diámetro de <i>Aspergillus</i> sp. (H3) en cada uno de los antagonistas potenciales (A) y porcentaje de inhibición del crecimiento miceliar (B).	59
Figura 21	Crecimiento promedio en diámetro de <i>Penicillium</i> sp. (H4). en cada uno de los antagonistas potenciales (A) y porcentaje de inhibición del crecimiento miceliar (B).	61
Figura 22	Crecimiento promedio en diámetro de <i>Penicillium</i> sp. (H5) en cada uno de los antagonistas potenciales (A) y porcentaje de inhibición del crecimiento miceliar (B).	63

RESUMEN

Las enfermedades de postcosecha en los frutos de mango, son causantes de grandes pérdidas económicas para nuestro país debido a la importancia del cultivo; sobretodo aquellas enfermedades causadas por hongos.

Una alternativa para el control de estas enfermedades, que implica menos riesgo que los fungicidas tanto para el ser humano como para el ambiente, es el uso de microorganismos con capacidad antagonica. La actividad antagonica de microorganismos recuperados de la superficie de mangos c. v. Tommy Atkins de la zona de de Atonalisco Nayarit para controlar enfermedades de postcosecha causadas por hongos, fue evaluada *in vitro*. Se aislaron cinco hongos patógenos de mango c. v. Tommy Atkins en postcosecha los cuales fueron identificados por método tradicional hasta género como *Alternaria* sp. (H1), *Curvularia* sp. (H2), *Aspergillus* sp. (H3) y *Penicillium* sp. (H4 y H5), encontrándose dos especies distintas de éste último. A partir de la superficie del mango se aislaron cuatro microorganismos con potencial antagonista (A1, A2, A3 y A4); los cuales no fueron identificados en este trabajo.

Los antagonistas A1 y A4 mostraron ser los más efectivos en controlar el crecimiento de los hongos patógenos; el antagonista A4 inhibió completamente el crecimiento de *Aspergillus* y de las dos especies de *Penicillium*, asimismo redujo el crecimiento de *Alternaria* en un 81.35% y de *Curvularia* en un 85.9% a las 72 h de observación. El antagonista A1 inhibió el crecimiento de *Alternaria* y *Aspergillus* e inhibió en un 95.4%, 76.6% y 83.9% el crecimiento de *Curvularia* y *Penicillium* (H4 y H5) respectivamente. Los antagonistas A2 y A3 tuvieron menor o ningún éxito en controlar el crecimiento de los hongos patógenos.

I. INTRODUCCION

El mango es el frutal más importante en el estado de Nayarit, tanto por su volumen de producción como por su importancia económica, con una superficie de 20 814 ha, de las cuales 34% corresponden a las variedades “Ataulfo”, 25% a “Tommy Atkins”, 9% a “Kent”, 7% a “Manila, 6% a “Haden”, 5% a “Keitt”, y el resto corresponde a otros cultivares menos importantes (Vázquez y Pérez, 2006).

En el 2005, México ocupó el cuarto lugar en volumen de producción de mango a nivel mundial (FAO, 2005). Este fruto constituye una importante fuente de divisas para el país y de ingresos para numerosas familias, tanto en el estado de Nayarit como en otros estados de la República Mexicana. Sin embargo, se estima que al menos una tercera parte se pierde durante el manejo postcosecha, siendo la causa principal los problemas de índole fitopatológico que deterioran la calidad del producto y disminuyen su vida de anaquel, hasta su llegada al consumidor ocasionando costosas pérdidas económicas.

Las pérdidas de mango después de la cosecha en México pueden ir desde un 5 hasta un 40% debido a diversos factores, entre ellos las enfermedades postcosecha producidas por hongos (Chávez *et al.*, 2001); las pérdidas por estas enfermedades han sido reducidas principalmente por la aplicación de fungicidas y en menor grado a través de prácticas de manejo. Sin embargo, el uso en postcosecha de fungicidas ha ido decayendo debido al desarrollo de resistencia por parte del patógeno hacia muchos fungicidas, es así que ante la carencia de fungicidas de reemplazo y la percepción pública de que los plaguicidas son dañinos a la salud humana y al ambiente, es necesario generar métodos alternativos para el control de enfermedades postcosecha.

El control biológico ha emergido como una estrategia efectiva para combatir pérdidas masivas de frutos durante la postcosecha de los mismos.

II. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades del Mango

El mango es uno de los frutos de gran importancia a nivel mundial, ya que ocupa el quinto lugar dentro de los principales productos frutícolas (Chávez *et al.*, 2001).

2.1.1 Taxonomía y Aspectos Botánicos

El mango (*Mangifera indica* L.) pertenece a la familia Anacardiaceae. Esta familia incluye 14 géneros, en su mayoría árboles o arbustos que contienen una savia lechosa, amarga y en algunos casos puede ser venenosa. El género *Mangifera* comprende 62 especies arbóreas, de las cuales 15 producen frutos comestibles; estas son: *M. diuperreana*, *M. pentandra*, *M. cochinchinensis*, *M. longipes*, *M. caloneura*, *M. siamensis*, *M. oblongifolia*, *M. zeylanica*, *M. similis*, *M. altissima*, *M. lagenifera*, *M. foetida*, *M. odorata*, *M. caesia* y *M. superba* (Bally, 2006). El mango desarrolla una estructura siempre verde, erecta y ramificada, formando una copa con el follaje, ésta usualmente es de forma oval. El fruto es una drupa carnosa comprimida, el mesocarpio constituye la parte comestible, de color amarillo pálido a naranja oscuro (Bally, 2006; Chávez *et al.*, 2001; Crane y Campbell, 1991; Govender, 2005). Los mangos pueden ser verdosos, amarillo-verdosos, amarillos, rojos, naranjas o púrpuras (Crane y Campbell, 1991). Cada fruto de mango consta de una sola semilla, de forma ovoide u oblonga y están rodeadas por un endocarpio fibroso cuando maduran; las variedades de mango pueden producir semillas monoembrionicas o poliembrionicas. Estas últimas poseen más de un embrión y la mayoría de los embriones son genéticamente idénticos al árbol madre. Las semillas monoembrionicas contienen sólo un embrión, el cual posee genes de ambos progenitores (Bally, 2006; Crane y Campbell, 1991; Rodríguez *et al.*, 2002).

2.1.2 Historia, Origen y Distribución

El mango es originario del noroeste de la India (Chávez *et al.*, 2001; Crane y Campbell, 1991; Govender, 2005; Rodríguez *et al.*, 2002). La distribución de su cultivo se extendió primeramente por el sudeste asiático y más tarde al archipiélago Malayo; así los portugueses lo llevaron primero al continente africano y posteriormente a las costas de Brasil, y de ahí se distribuye al resto de América (Rodríguez *et al.*, 2002). En México la introducción del mango se inició en 1779, cuando el mango variedad Mania fue introducido por los españoles al puerto de Acapulco, proveniente de Filipinas. Posteriormente se trajeron otras variedades por antillas a las costas del golfo de México y de allí se extendió a todas las regiones del país que poseen condiciones ambientales para su desarrollo. (Chávez *et al.*, 2001; Crane y Campbell, 1991; SAGARPA, 2003). Actualmente es cultivado a través de las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Chávez *et al.*, 2001; Crane y Campbell, 1991; Govender, 2005; Rodríguez *et al.*, 2002).

2.1.3 Variedades

Existen alrededor de mil variedades de mango alrededor del mundo, con la India teniendo el mayor número (aproximadamente 500) (Bally, 2006). Se acepta generalmente que existen dos tipos principales de mangos, los Indúes y los Indochinos. Los de tipo Indú tiene generalmente semilla monoembrionica y frecuentemente los frutos tienen colores vivos. Los de tipo Indochino tiene típicamente semillas poliembriónicas y carecen de colores atractivos (Crane y Campbell, 1991; Rodríguez *et al.*, 2002). Las variedades actualmente cultivadas en México son Haden, Tommy Atkins, Kent, Keitt, Ataúlfo, Zill, Sensation, Oro, Manila, Manililla y otros materiales criollos (Rivera, 2006).

A continuación se describen algunas características de las variedades más importantes de la región Pacífico Centro de México (Chávez *et al.*, 2001):

Tommy Atkins

En el estado de Michoacán su época de producción es de mayo a junio, mientras que en otros estados productores es de principios de junio a fines de julio. El fruto es moderadamente tolerante a la antracnosis, es de excelente calidad, predominando el color rojo, de forma redonda, con peso de 300 a 470 g; la pulpa es jugosa, con poco contenido de fibra, si la fruta no se corta en la etapa óptima tiene problemas de maduración y manejo. Además es afectado por un desorden fisiológico que consiste en un ahuecamiento interno en la unión del fruto con el pedúnculo. (Figura 1).



Figura. 1 Mango c.v. Tommy Atkins

Haden

Esta variedad se cosecha de principios de mayo a mediados de julio en los estados de Nayarit, Colima y Jalisco; en Michoacán se realiza de mediados de abril a mayo. Los frutos presentan una base de color amarillo con chapeo rojo, con un peso de 200 a 430 g; la pulpa es jugosa, con poca fibra y buen sabor, el hueso es chico y plano, la cáscara es semigruesa y resistente al transporte pero susceptible a la antracnosis. Produce frutos que maduran rápidamente de la pulpa cercana al hueso, lo cual demerita su calidad. (Figura 2).



Figura. 2 Mango c.v. Haden

Manila

Se cosecha entre abril y mayo, los frutos presentan un peso de 200 a 275 g, de forma elíptica y color amarillo, con cáscara delgada pulpa amarilla firme dulce y sabrosa con bajo contenido de fibra. (Figura 3).



Figura. 3 Mango c.v. Manila

Kent

Llamado también petacón, se cosecha de mediados de julio a principios de septiembre en Jalisco, Nayarit y Colima, mientras que en Michoacán se cosecha de junio a julio. El fruto tiene un peso entre 500 a 825 g, la base es de color verde amarillento con chapeo rojo, llegando a ser rojizo con mayor exposición a la luz. Es susceptible a la antracnosis y al ataque de la mosca de la fruta por la coincidencia de su cosecha con el temporal de lluvias. (Figura 4).



Figura. 4 Mango c.v. Kent

Keitt

Se cosecha entre agosto y septiembre; el fruto es grande con un peso entre 600 y 800 g, la base del fruto es verde amarillo con un chapeo rosa-rojizo, tiene pulpa dulce con escaso contenido de fibra. Produce gran cantidad de fruta manchada por antracnosis y roña, enfermedades que se ven favorecidas por que la época de corte coincide con la temporada de lluvias. (Figura 5).

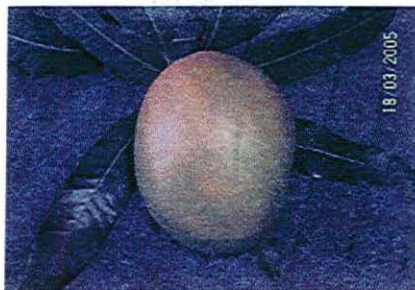


Figura. 5 Mango c.v. Keitt

Ataúlfo

Su producción ocurre de mayo a julio; el fruto es de excelente calidad, color amarillo, resistente al manejo y con un peso promedio de 200 a 370 g, el color de la pulpa es amarillo y no tiene fibra. (Figura 6).



Figura. 6 Mango c.v. Ataúlfo

2.1.4 Producción

La producción mundial de mango para el año 2005 fue de 27'965,749 toneladas de las cuales el 40% es generado por la India como principal país productor, en este contexto México ocupó el cuarto lugar en el mundo durante el mismo año contribuyendo apenas con el 5 % de la producción mundial (Figura 7) y son trece países (India, China, México, Tailandia, Filipinas, Pakistán, Indonesia, Nigeria, Brasil, Egipto, Haití, Congo y Madagascar) los que concentran el 92% de la producción total (FAO, 2005; INIFAP, 2004).

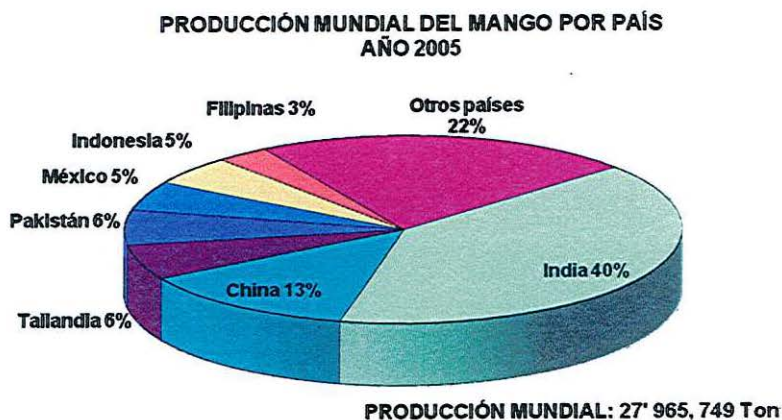


Figura 7. Producción mundial del mango 2005 (Fuente: <http://faostat.fao.org>)

A nivel nacional, para el año 2005, la superficie total establecida fue de 173,769.49 ha, 159,989.34 ha para cosecha y la producción fue de 1' 368,090.85 toneladas (Tabla 1).

TABLA 1. PRODUCCIÓN AGRÍCOLA DE MANGO
Ciclo: Cíclicos y Perennes 2005

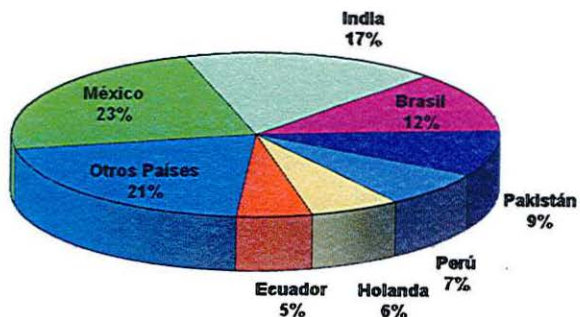
UBICACIÓN	SUP. SEMBRADA (ha)	SUP. COSECHADA (ha)	PRODUCCIÓN (ton)	RENDIMIENTO (ton/ha)	VALOR PRODUCCIÓN (Miles de pesos)
Guerrero	22,286.00	21,750.75	308,202.62	14.17	1'165,017.00
Nayarit	20,076.52	18,662.25	201,485.48	10.80	334,468.69
Oaxaca	17,507.00	17,247.00	200,035.88	11.60	241,191.44
Sinaloa	24,611.25	24,527.25	144,536.12	5.89	387,505.84
Chiapas	23,700.46	20,439.71	131,249.62	6.42	378,823.41
Michoacán	23,197.51	21,349.88	127,084.34	5.95	295,773.72
Veracruz	25,354.75	20,462.50	87,844.80	4.29	226,150.66
Jalisco	5,484.00	4,876.00	48,419.10	9.93	114,727.87
Colima	3,680.50	3,680.50	47,369.25	12.87	106,122.76
Campeche	2,755.00	2,746.00	30,989.00	11.28	46,154.50
Resto de estados productores (13 estados)	5,116.50	4,247.50	40,874.62	7.98	109,064.45
Total	173,769.49	159,989.34	1'368,090.85	8.55	3'405,000.32

(Fuente: SAGARPA, Anuario Estadístico de la Producción Agrícola año 2005
<http://www.siap.gob.mx/agricola/siap/icultivo/index.jsp>)

Los principales estados productores fueron: Guerrero, Nayarit, Oaxaca, Sinaloa, Chiapas, Michoacán y Veracruz, concentrando el 87.74% de la producción nacional.

En la figura 8 se representa el porcentaje de exportación de mango por país para el año 2004.

**PRINCIPALES EXPORTADORES DE MANGO POR PAÍS
AÑO 2004**



EXPORTACIÓN MUNDIAL: 908,435 Ton

Figura 8. Principales exportadores de mango 2004 (Fuente: <http://faostat.fao.org>)

En la tabla 2 se señala el origen de mango exportado por México en el año 2005, la cual muestra al estado de Nayarit como el principal exportador seguido por el estado de Sinaloa.

Tabla 2. ORIGEN DE LA FRUTA EXPORTADA 2005

ORIGEN	VOLUMEN (Ton) EXPORTADO POR VARIEDADES						Total
	Tommy Atk.	Haden	Kent	Keitt	Ataulfo	Manila	
Jalisco	136.0	31.9	3.1	0.0	0.0	0.0	171.0
Michoacán	13.7	13.3	60.4	0.0	0.0	0.0	87.0
Nayarit	8,781.8	286.3	1,120.8	157.5	9,330.8	39.7	19,716.9
Sinaloa	709.2	301.4	3,638.5	330.1	16.8	0.0	4,996.0
Colima	0.0	0.0	0.0	0.0	228.2	0.0	228.2
Total	9,640.7	632.8	4,822.8	487.6	9,575.8	39.7	25,199.5

(Fuente: <http://www.nay.sagarpa.gob.mx/agricultura/exportmango.htm>)

En la tabla 3 se puede observar la distribución de la producción de mango por municipios en el estado de Nayarit durante el año 2005.

Tabla 3. SUPERFICIES SEMBRADA Y COSECHADA, VOLUMEN Y VALOR DE LA PRODUCCIÓN DE MANGO POR MUNICIPIOS
Ciclo: Cíclicos y Perennes 2005

MUNICIPIO	SUPERFICIE SEMBRADA (Ha)	SUPERFICIE COSECHADA (Ha)	VOLUMEN (Ton)	VALOR (Miles de pesos)
SAN BLAS	5,286.00	5,286.00	53,097.75	125,113.22
COMPOSTELA	3,066.00	3,066.00	41,392.36	45,505.27
SANTIAGO IXCUINTLA	2,385.00	1,817.00	27,200.00	40,800.00
BAHIA DE BANDERAS	2,305.00	1,784.00	27,163.37	20,269.90
TEPIC	2,075.00	2,075.00	19,681.95	47,770.91
TECUALA	1,914.00	1,914.00	13,446.00	27,697.50
ACAPONETA	1,842.00	1,842.00	9,840.00	14,772.80
ROSAMORADA	1,003.02	696.50	8,608.50	10,367.00
RESTO DE MUNICIPIOS	200.50	181.75	1055.55	2172.08
TOTAL	20,076.52	18,662.25	201,485.48	334,468.68

(Fuente: SAGARPA, Anuario Estadístico de la Producción Agrícola año 2005
http://www.siap.gob.mx/agricola_siap/cultivo/index.jsp)

El municipio de San Blas figura como mayor productor de mango, seguido de Compostela, Santiago Ixcuintla y Bahía de Banderas.

En la tabla 4 se señala la producción de mango Tommy Atkins a nivel nacional en el año 2005.

TABLA. 4 PRODUCCIÓN AGRÍCOLA MANGO TOMMY ATKINS

Ciclo: Cíclicos y Perennes 2005

UBICACIÓN	SUP. SEMBRADA (ha)	SUP. COSECHADA (ha)	PRODUCCIÓN (ton)	RENDIMIENTO (ton/ha)	VALOR PRODUCCIÓN (Miles de pesos)
Nayarit	7,013.75	6,492.75	71,972.15	11.09	109,966.14
Campeche	2,416.00	2,407.00	28,364.00	11.78	39,952.75
Oaxaca	2,206.00	2,160.00	25,635.00	11.87	34,014.00
Michoacán	4,624.91	4,322.81	23,805.73	5.51	61,892.61
Guerrero	1,415.75	1,365.75	21,232.70	15.55	85,304.59
Sinaloa	3,135.00	3,135.00	15,682.00	5.00	34,601.70
Jalisco	1,543.00	1,409.00	13,403.50	9.51	25,727.83
Colima	613.00	613.00	8,484.25	13.84	14,305.38
Chiapas	155.35	155.35	1,337.25	8.61	1,710.30
Total	23,122.76	22,060.66	209,916.58	9.52	407,475.29

(Fuente: SAGARPA, Anuario Estadístico de la Producción Agrícola año 2005
http://www.siap.gob.mx/agricola_siap/cultivo/index.jsp)

Como puede observarse el estado de Nayarit es el mayor productor de la variedad de mango Tommy Atkins, seguido de los estados de Campeche, Oaxaca y Michoacán.

2.2 Postcosecha de Mango

La cosecha es el punto de inicio en el manejo postcosecha de mango. La determinación del momento óptimo para la cosecha es uno de los factores que más impactan en la vida postcosecha de los frutos de mango (Chávez *et al.*, 2001).

2.2.1 Pérdidas postcosecha

El fruto del mango es susceptible de daño durante el manejo postcosecha ocasionando pérdidas que van desde un 5 hasta un 40% (Chávez *et al.*, 2001) debido a múltiples factores:

Daños mecánicos. Tales como magulladuras, golpes y raspaduras que propician el deterioro de los frutos ya que aceleran la pérdida de agua, facilitan la invasión de patógenos y estimulan la respiración y producción de etileno (Chávez *et al.*, 2001; Govender, 2005; Kader, 2002).

Daños por insectos. La principal plaga que ocasiona daños en la postcosecha del mango es la mosca de la fruta, el principal problema no es el daño directo en sí, sino las medidas cuarentenarias que los países importadores imponen a los países productores. (Chávez *et al.*, 2001)

Daños por enfermedades. Los mangos son frutos climatéricos, lo que significa que presentan un gran incremento en la respiración durante la maduración, llamado ascenso climatérico. Este ascenso climatérico ocurre simultáneamente con la producción de etileno y con cambios internos y externos de color, sabor, aroma y firmeza, y con la reducción en la resistencia del fruto al ataque por hongos. Los patógenos frecuentemente infectan la fruta inmadura, causando un daño menor hasta la maduración cuando se establece un decaimiento extensivo (Arauz, 2000; Govender, 2005; Lounds, 2003). En México, las principales enfermedades en postcosecha del mango son la antracnosis, causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, éste se encuentra latente en los frutos inmaduros y se manifiesta en forma de manchas negras que llegan a invadir toda la superficie del fruto, en casos severos el hongo puede invadir la pulpa. Esta enfermedad se acentúa en condiciones de lluvia y alta humedad relativa (Chávez *et al.*, 2001; Govender, 2005; Kader,

2002) y la pudrición del pedúnculo causada por un complejo de hongos, entre los que se encuentran *Lasiodiplodia* sp., *Dothiorella* sp., *Citosphaera mangiferae* y *Pestalotiopsis* sp. Existen otras enfermedades como la pudrición por *Alternaria* o mancha negra, la roña causada por el hongo *Elsinoe mangiferae*. También se han identificado otros microorganismos causantes de enfermedades tales como, *Penicillium* sp., *Pestalotia* sp., *Stromiopsis* sp., *Aspergillus* sp. y *Curvularia* sp. (Allende *et al.*, 2002; Govender, 2005; Infoagro 2006; Pernezny y Simone, 2000; Rivera *et al.* 2006).

Desórdenes físicos y fisiológicos

Daño por frío. Se manifiesta cuando los frutos son almacenados a temperaturas inferiores a 12°C. Los síntomas son maduración anormal, decoloración interna y de la cáscara, incremento de pérdida de agua, mayor susceptibilidad al ataque de patógenos y cambios de sabor (Chávez *et al.*, 2001; Crane y Campbell, 1991; Kader, 2002).

Daño por látex. El látex que exudan los frutos puede dañar la cáscara causando manchas oscuras cerca del pedúnculo (Chávez *et al.*, 2001; Kader, 2002).

Abrasión por sol. La exposición de los frutos directamente al sol puede causar áreas negras y hundidas cuando es muy severo o decoloraciones y amarillamientos de la cáscara cuando no es tan severo (Chávez *et al.*, 2001; Kader, 2002).

Daño por altas temperaturas. Cuando las temperaturas de tratamiento hidrotérmico son superiores a las recomendadas o si los frutos se exponen por largos períodos a temperaturas mayores de 30°C se presenta el daño por color, el cual causa una maduración anormal, moteado en la cáscara y sabor desagradable (Chávez *et al.*, 2001; Crane y Campbell, 1991; Kader, 2002).

Descomposición interna de la pulpa, ahuecamiento de la zona próxima a la cicatriz del pedúnculo. Se caracteriza por la descomposición de la pulpa y el desarrollo de

cavidades internas entre la semilla y el pedúnculo. Esta fisiopatía es más frecuente en mangos madurados en el árbol (Bally, 2006; Crane y Campbell, 1991; Kader, 2002).

Semilla gelatinosa, maduración prematura. Desintegración de la pulpa que rodea a la semilla en forma de una masa gelatinosa (Bally, 2006; Kader, 2002).

Punta blanda. Ablandamiento del tejido del ápice o punta floral. La pulpa luce sobremadura y puede alterar su color y volverse esponjosa. Esta fisiopatía puede estar relacionada con deficiencia de calcio (Bally, 2006; Crane y Campbell, 1991; Kader, 2002).

2.2.2 Medidas para disminuir las pérdidas postcosecha

Las medidas más comúnmente empleadas son: manejo cuidadoso evitando golpes al fruto, utilizar cajas de campo de plástico limpias y desinfectadas, evitar asolear los frutos y transportar al empaque la cosecha del día (Chávez *et al.*, 2001). El tratamiento hidrotérmico es una práctica cuarentenaria indispensable para la exportación de los frutos a EUA. Se utiliza para matar las larvas de la mosca de la fruta (Arauz, 2000; Chávez *et al.*, 2001; Lounds, 2003; Rivera *et al.*, 2006). Los frutos son sumergidos en agua a 46°C por 90 a 120 minutos, dependiendo de la variedad y del tamaño de los frutos (Arauz, 2000; Lounds, 2003; Mena, 2004). Sin embargo debido al daño que puede ocasionar este tratamiento al fruto, se está probando un tratamiento con aire caliente (Arauz, 2000; Chávez *et al.*, 2001; Lounds, 2003). Los daños incluyen el escaldado de la piel, desarrollo anormal e irregular del color mediante parches amarillos durante la maduración, desarrollo acelerado del color (amarillamiento), lenticelas dañadas (halo oscuro en el tejido que rodea las lenticelas), proporciones aceleradas de respiración durante el periodo preclimático y desarrollo de enfermedades de almacenaje como la antracnosis y la pudrición del pedúnculo (Lounds, 2003).

También se utiliza el enfriamiento en cuartos de temperatura controlada o con aire forzado a 12°C esencial para mango de exportación, especialmente para aquellos que van a ser transportados vía marítima (Chávez, et. al., 2001; Lounds, 2003; Mena, 2004; Muy *et al.*, 2004). Otro tratamiento es el encerado, que incrementa la vida útil del fruto, da brillo y presentación, mantiene su firmeza por más tiempo, reduce la pérdida de agua y disminuye la velocidad de los procesos fisiológicos (Arauz, 2000; Chávez *et al.*, 2001; Infoagro, 2006; Muy *et al.*, 2004). Sin embargo utilizando ceras muy gruesas con más de 5% de sólidos, en combinación con bajas temperaturas puede causar fermentación de los frutos (Chávez *et al.*, 2001).

2.2.3 Control de enfermedades en postcosecha

Para controlar la antracnosis y la pudrición del pedúnculo se recomienda la inmersión del fruto en fungicidas tales como thiabendazol y benomyl por 3 a 5 minutos a temperaturas que van de los 52 a los 55 °C según la variedad (Arauz, 2000; Chávez *et al.*, 2001; Govender, 2005; Guzmán, 2000; Kader, 2002). También se utilizan otros fungicidas para el control de la antracnosis tales como prochloraz el cual ha demostrado eficacia del 65% al 94%, esto en fruta transportada por mar para su exportación (Arauz, 2000; Govender, 2005; Ledger, 2004). Un fungicida similar, el imazalil ha mostrado eficacia variable aunque no está etiquetado para su uso en mango. Una ventaja de los fungicidas benzimidazoles como benomyl y thiabendazol es que son efectivos tanto para el control de la pudrición del pedúnculo como para la antracnosis. Por otro lado, Imidazoles como prochloraz o imazalil no son efectivos contra la pudrición del pedúnculo en mango (Arauz, 2000; Lonsdale, 1993; Kader, 2002). Otro fungicida también utilizado en postcosecha de mango es el carbendazim (Ledger, 2004; Lonsdale, 1993). Cabe mencionar que en EUA el uso del fungicida benomyl ya no está permitido, además de que no existen fungicidas registrados

para su uso en postcosecha (Arauz, 2000; EPA, 2002). La combinación de agua caliente y fungicidas es el tratamiento comercial más efectivo para el control de la antracnosis del mango. Ambas proporciones, tanto de fungicida como duración de la exposición al agua caliente son menores, y su eficacia es mayor que con cualquiera de los tratamientos considerados por separado (Arauz, 2000; Korsten, 2006; Mari *et al.*, 2003).

Se ha probado la inmersión de los frutos en etanol caliente al 40% durante 5 minutos a 51°C, el cual redujo la severidad de la antracnosis de un 54% a un 20% comparado con frutos sin tratamiento (Korsten, 2006; Sangchote, 1998).

Existen tecnologías emergentes para el control de enfermedades postcosecha para vegetales en general, tales como la inducción de la respuesta de resistencia. Las frutas usan un amplio rango de estrategias físicas y bioquímicas para defenderse del ataque de organismos patógenos, estas incluyen la acumulación de fitoalexinas (compuestos antifúngicos), modificación de las paredes celulares y síntesis de hidrolasas antifúngicas (Mari y Guizzardi, 1998). Sin embargo, la resistencia postcosecha de la fruta parece estar estrechamente ligada al proceso de maduración: la resistencia es inducida en el tejido joven por sustancias inhibitorias preformadas, que gradualmente desaparecen durante el envejecimiento (Mari y Guizzardi, 1998; Terry y Joyce, 2003). El uso de bajas temperaturas y atmósferas relativamente ricas en CO₂ (dióxido de carbono) y pobres en O₂ (oxígeno), retrasa el envejecimiento y la desaparición de las sustancias antimicrobianas preformadas en la fruta (Mari y Guizzardi, 1998). La resistencia puede ser inducida de forma física, química y biológica.

En cuanto a la inducción de resistencia por medios físicos, se encuentran los tratamientos con calor ya mencionados, así como la exposición postcosecha a altas concentraciones de CO₂ aplicado de diversas maneras; en frutos encerados y en diferentes estadios de madurez,

en conjunto con tratamientos de calor, a diferentes tiempos y concentraciones, éste ha realizado las concentraciones de compuestos antifúngicos preformados, induciendo resistencia a enfermedades postcosecha (Govender, 2005; Kumpoun, *et al.*, 1998; Mari *et al.*, 2003; Meiburg *et al.*, 1998).

También se han obtenido beneficios tanto de las atmósferas controladas (CA por sus siglas en inglés) como de las atmósferas modificadas (MA por sus siglas en inglés), éstas no son empleadas para el almacenamiento de cultivos tropicales, pero son utilizados para su transporte marítimo (Yahia, 2006). MA y CA se basan en el hecho de que disminuyendo el nivel de O₂ y aumentando la concentración de CO₂ en la atmósfera, se reduce la actividad metabólica y se preserva la calidad de la producción. El efecto benéfico primario de la reducción del nivel de O₂ y el incremento del nivel de CO₂ es la supresión de las tasas respiratorias, de maduración, senescencia y crecimiento de microorganismos en el fruto (Mari y Guizzardi, 1998; Pragne y DeLong, 2006; Terry y Joyce, 2003; Wang, 2006; Yahia, 2006).

También se han utilizado otros gases como el N₂O (óxido nitroso) y el Ar (argón), los cuales han demostrado ser efectivos en el mantenimiento de la calidad de numerosas frutas y vegetales (Wang, 2006). Las atmósferas controladas y modificadas tienen diversos beneficios potenciales para los cultivos tropicales, sin embargo la composición óptima del gas para los diferentes productos es variable y depende de muchos factores como el tipo de producto, edad fisiológica, temperatura y duración del tratamiento.

La exposición de los productos hortícolas a niveles de O₂ y de CO₂ por debajo o por encima de su rango óptimo tolerable puede iniciar o agravar ciertos desórdenes fisiológicos, maduración irregular, el incremento en la susceptibilidad a la pudrición, desarrollo de insipidez y eventualmente puede causar la pérdida del producto (Yahia, 2006).

Esta tecnología de atmósfera modificada o controlada se ha extendido para su uso en contenedores, y más recientemente, al empaquetado en atmósfera modificada. El sellado de ciertas frutas frescas en paquetes poliméricos promueve la extensión de su vida de almacén. Más allá, los nuevos desarrollos incluyen la elaboración de películas (films) “activas” o “inteligentes”, absorbedoras de etileno o bolsas anti-etileno (Korsten, 2006).

La radiación ionizante ha sido estudiada extensivamente desde 1950 y ha sido usada con éxito en muchos países en varios cultivos para extender la vida de anaquel y prevenir la pudrición. Recientemente, un tratamiento con radiación infrarroja de onda corta desarrollado en Sudáfrica resultó en niveles de antracnosis similares a los del tratamiento comercial de agua caliente, siendo más rápido y menos costoso (Arauz, 2000, Govender, 2005).

La radiación no ionizante tiene un potencial real entre los métodos físicos para el control de enfermedades postcosecha. Dosis bajas de luz ultravioleta de onda corta (UV-C, 190-280 nm de longitud de onda) pueden controlar muchas de las pudriciones en el almacenamiento de frutas y vegetales (Govender, 2005; Korsten, 2006; Mari y Guizzardi, 1998; Terry y Joyce, 2003), ya que el blanco de la irradiación UV-C en pequeñas dosis es el ADN de microorganismos. Por esta razón, el tratamiento con UV-C ha sido usado como un germicida o agente mutagénico. Además la irradiación UV-C puede estimular varios procesos biológicos como la respiración, biosíntesis de flavonoides y fitoalexinas, y la suscitación de proteínas relacionadas con la patogénesis, todos ellos implicados en la resistencia de la planta a enfermedades y factores ambientales (Mari y Guizzardi, 1998; Terry y Joyce, 2003). Sin embargo, se ha mostrado daño visible por dosis elevadas de UV-C (Govender, 2005; Korsten, 2006; Terry y Joyce, 2003).

Diversas sustancias naturales y sintéticas inducen resistencia postcosecha en productos hortícolas (Terry y Joyce, 2003). Se ha reportado que los niveles elevados de calcio celular en mangos disminuyen los daños por frío y extienden la vida de anaquel (Govender, 2005; Janisiewicz y Korsten, 2002; Joyce *et al.*, 1998; Petit *et al.*, 2004). El tratamiento postcosecha de mango con hipoclorito de calcio combinado con un surfactante (Tween 80) mejora la absorción del calcio en la piel y pulpa del mango. Los tratamientos con calcio retrasan significativamente la maduración y aumentan la firmeza de la fruta reduciendo la pudrición en comparación a las frutas sin tratamiento (Govender, 2005; Singh *et al.*, 2000). Sin embargo, también existen reportes contrarios en los que la aplicación o infiltración de calcio en los frutos (mango Kensington y Kent) no es comercialmente factible, porque las ganancias en la vida de anaquel resultaron ser pequeñas o nulas y debido a que el riesgo de inducir desórdenes tales como; oscurecimiento de lenticelas y coloración irregular de la piel es alto (Joyce *et al.*, 1998). Las aplicaciones de 0.5% de calcio combinado con cera comestible pueden reducir la tasa respiratoria, pérdida de peso y mejorar la apariencia externa de los frutos durante el almacenamiento por 15 días (Petit *et al.*, 2004).

El ácido salicílico (SA por sus siglas en inglés) es conocido como un inductor natural de resistencia en plantas. Aplicaciones precosecha y/o postcosecha de 2.0 mg ml⁻¹ de SA tienden a suprimir la severidad de la antracnosis postcosecha en mango "Kensington Pride" (Terry y Joyce, 2003). También se ha demostrado que la actividad de enzimas de defensa en el fruto se ve favorecida significativamente mediante el tratamiento con SA (Zeng *et al.*, 2006).

El quitosano es usualmente extraído de restos de crustáceos y ha sido usado como una cubierta superficial en frutas y vegetales. Se ha reportado tratamientos con quitosano que retardan la maduración, prolongan la vida de anaquel y limitan la pudrición de varias

mercancías. Lo anterior ha sido atribuido a su actividad antifúngica directa, a los efectos de la modificación de la atmósfera y/o a las respuestas de inducción de resistencia en los tejidos vegetales (Korsten, 2006; Terry y Joyce, 2003; Umaña, 1996).

Existe un grupo extenso de metabolitos secundarios; los aceites esenciales producidos por diferentes géneros de plantas, son en muchos casos, biológicamente activos, ya que están dotados con propiedades antimicrobianas, alelopáticas, antioxidantes y biorreguladoras. Se ha demostrado que la actividad biológica de los aceites esenciales se debe a la acción de sus componentes (Ej. carvacrol y panisaidehído). Ciertos componentes aromáticos volátiles producidos por las frutas (Ej. acetaldehído en manzanas) durante la maduración muestran también actividad antifúngica (Govender, 2005; Korsten, 2006; Kulakiotu *et al.*, 2004; Mari y Guizzardi, 1998; Umaña, 1996).

Dentro de las sustancias naturales que se han empleado para el control de enfermedades postcosecha también podemos encontrar el carbonato, el bicarbonato de sodio y el ácido acético utilizadas como soluciones porcentuales para la inmersión de los frutos (Mondino, 2003; Vero *et al.*, 2004b).

Para frutas tropicales se han utilizado productos químicos en forma de 1-aminovinil glicina y 1-metileciclopropeno (MCP) para reducir la producción de etileno (acelerador de la maduración), que retrasa la maduración y aumenta la vida en almacén de varias frutas tropicales, incluyendo al plátano. Se encontró también que el MCP actúa de forma sinérgica con una solución de quitosano enzimáticamente hidrolizada para impedir la proliferación de hongos patógenos y prolongar la vida de las frutas del 80 al 100 %, incluso a temperatura ambiente (FAO, 2005). La inmersión o rociado con el antioxidante hidroxianisol (BHA por sus siglas en inglés), más el fungicida prochloraz es efectivo en el control de antracnosis en

aguacate, encontrándose que el antioxidante modula la resistencia natural de la fruta (Prusky *et al.*, 1995).

Por otra parte el uso de antagonistas microbianos (resistencia inducida biológicamente) para el control de la pudrición postcosecha ha sido empleado activamente. Numerosos microorganismos antagonistas son capaces de inducir reacciones de resistencia en el tejido del hospedero. Más aún, algunos inductores y extractos biológicos, como extractos de la pared celular de levaduras, pueden detonar reacciones de defensa general en plantas. El uso de cepas avirulentas o atenuadas, ya sea de microorganismos patogénicos o saprofitos inducen resistencia sistémica adquirida en el tejido vegetativo del hospedero y controlan las pudriciones postcosecha (Terry y Joyce, 2003; Umaña, 1996; Yakoby *et al.*, 2002).

La Agencia de Protección Ambiental de EUA (EPA por sus siglas en inglés) ha definido como biopesticidas a plaguicidas de origen natural, que incluyen sustancias de origen microbiano, animal, vegetal o mineral. Dentro de los ingredientes activos aceptados por la EPA se encuentran las sustancias mencionadas anteriormente, como el bicarbonato de sodio (origen mineral), el quitosano (origen animal), aceites esenciales (origen vegetal) y microorganismos biocontroladores (antagonistas) como *Pseudomonas syringae* cepa ESC-10 (Vero *et al.*, 2004b; Vero y Mondino, 2002).

La biotecnología mediada por ingeniería genética tiene potencial para controlar, entre otras cosas, las enfermedades durante la producción del mango y la maduración (FAO, 2005; Rivera, 2006). La transformación genética del mango con genes de defensa (defensinas y manaininas) así como los genes de quitinasas y glucanasas, podría conferirle resistencia contra enfermedades ocasionadas por bacterias y hongos tanto en precosecha como en postcosecha (Rivera, 2006).

La investigación actual sobre medidas de control, específicamente en la fase de postcosecha, usa una combinación de métodos como tratamientos con calor, sales de calcio o bicarbonato y agentes de control biológico.

La implementación del control biológico como un método de control alternativo de enfermedades postcosecha está basado en el conocimiento actual y conciencia de los procesos naturales de interacción antagonista-patógeno (Janisiewicz y Korsten, 2002; Korsten, 2006).

2.3 Control Biológico

El término "control biológico" y su sinónimo abreviado "biocontrol", ha sido utilizado en diferentes campos de la biología, más notablemente en entomología y en patología vegetal. En patología vegetal, el término aplica al uso de antagonistas microbianos para suprimir enfermedades, así como el uso de patógenos específicos del hospedero para controlar poblaciones de maleza. En ambos casos, el organismo que suprime la peste o patógeno es referido como el agente de control biológico (BCA por sus siglas en inglés) (Pal y McSpaden, 2006). La definición más utilizada para el control biológico es la formulada por Baker y Cook (1983) la cual lo define como "la reducción de la cantidad de inóculo o de la actividad productora de enfermedad del patógeno, debido a uno o más organismos, incluida la planta hospedera y excluido el hombre" (Viñas *et al*, 2005).

2.3.1 Microorganismos Antagonistas

En la naturaleza las plantas viven en permanente interacción con poblaciones de microorganismos (hongos filamentosos, levaduras y bacterias) los cuales viven en la cercanía de las plantas y están en contacto con ellas, sobre la superficie de las hojas, flores

y frutos (microflora filosférica), alrededor de las raíces (microflora rizosférica), sobre semillas (microflora espermaférica) o incluso en el interior de la planta (microorganismos endófitos) (Korsten, 2006; Mondino, 2003).

Las poblaciones de microorganismos interactúan entre sí y con la planta. Estas interacciones pueden ser beneficiosas para la planta, neutras o perjudiciales. Algunos ejemplos de acciones benéficas para la planta son: la solubilización de nutrientes, la fijación de nitrógeno, la producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal y la inducción de resistencia frente a fitopatógenos. Indirectamente las plantas también se ven favorecidas cuando estos microorganismos antagonizan a los patógenos de las plantas (Mondino, 2003).

En la naturaleza, existe una interacción continua entre los potenciales patógenos y sus antagonistas de forma tal que estos últimos contribuyen a que no haya enfermedad en la mayoría de los casos; es decir, existe un control biológico que funciona naturalmente (Mondino, 2003; Vero y Mondino, 1999).

Mecanismos de acción de los antagonistas

La actividad antagonista puede ser expresada de varias maneras: Antibiosis, competencia por espacio o nutrientes, interacciones directas con el patógeno (parasitismo y lisis enzimática) e inducción de resistencia (Everett *et al.*, 2005; Fernández, 2001; Guerrero, 2004; Janisiewicz y Korsten, 2002; Janisiewicz *et al.*, 2001; Vero *et al.*, 2004b; Vero y Mondino, 2002).

Antibiosis. Se refiere a la producción por parte de un microorganismo de sustancias tóxicas para otros microorganismos (antibióticos), las cuales actúan en bajas concentraciones (menores a 10 ppm). La antibiosis es el mecanismo de antagonismo entre microorganismos más estudiado (Mondino, 2003; Vero y Mondino, 1999; Vero *et al.*,

2002). Por ejemplo, *Brevibacillus subtilis* produce iturina, un poderoso péptido antifúngico, así como gramicidina S. *Pseudomonas cepacia* sintetiza pirrolnitrina, la cual utilizada sola, puede controlar los ataques de *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum* en frutos tipo pomo. Sin embargo, la significancia de la antibiosis en estos casos no es clara, es posible que estén involucrados otros mecanismos. Este es el caso de cepas de *Penicillium digitatum* e *itallicum* resistentes a la pirrolnitrina, las que aún así son inhibidas por *P. cepacia* (Janisiewicz y Korsten, 2002; Mari y Guizzardi, 1998; Spadaro y Gullino, 2004).

El uso de bacterias productoras de antibióticos en alimentos trae la preocupación por el desarrollo de patógenos humanos y animales resistentes a estas sustancias y la posible resistencia en los patógenos de frutas (Mari y Guizzardi, 1998; Spadaro y Gullino, 2004; Vero y Mondino, 2002).

Competencia. Puede ser por nutrimentos, factores de crecimiento o espacio. Es probable que este sea el mecanismo más común mediante el cual, los agentes de control biológico antagonizan a los patógenos. Una mayor velocidad de crecimiento, o una mayor eficiencia en el uso de un determinado recurso por parte del antagonista, hace que el mismo no pueda ser utilizado o no quede disponible para el patógeno. Para que exista la competencia, el recurso debe ser escaso en el medio (Calvente *et al.*, 1999; Chávez *et al.*, 2001; Guerrero, 2004; Koomen y Jeffries, 1993; Korsten, 2006). Esta competencia se da particularmente en las levaduras, por ejemplo la competencia por nutrimentos limitantes entre *Aureobasidium pullulans* y *Penicillium expansum* en manzana (Janisiewicz *et al.*, 2000). En la competencia por nutrimentos, las levaduras son ayudadas por la formación de una cápsula de polisacárido que promueve la adhesión a la superficie del fruto (Janisiewicz y Korsten, 2002; Spadaro y Gullino, 2004). Ha sido demostrado que *Pseudomonas* fluorescentes producen sustancias de alta afinidad con el hierro (sideróforos). Estas

bacterias son capaces de secuestrar el escaso hierro disponible en suelo impidiendo que este sea utilizado por los patógenos (Mondino, 2003; Pal y McSpaden, 2006). Igualmente *Rhodoturla glutinis* (una levadura antagonista) compete produciendo sideróforos en la herida de manzanas cosechadas evitando la podredumbre azul ocasionada por *Penicillium expansum* (Calvente *et al.*, 1999; He, *et al.*, 2003). Levaduras del género *Kluyveromyces* mostraron competencia por nutrientes con cepas de *Aspergillus* en postcosecha de maíz logrando su inhibición (La Penna *et al.*, 2004). En las heridas de los frutos, la competencia por nutrimentos probablemente se extienda a compuestos nitrogenados presentes en bajas concentraciones (Janisiewicz y Korsten, 2002; Spadaro y Gullino, 2004; Vero *et al.*, 2002).

Parasitismo y lisis enzimática. El término parasitismo puede ser definido como una simbiosis antagonica entre organismos. Consiste en la utilización del patógeno como alimento por su antagonista. Generalmente se ven implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas y celulasas, β -1,3-glucanasas y proteasas que lisan o digieren las paredes de los hongos. Los ejemplos más conocidos de hongos hiperparásitos son *Trichoderma* y *Gliocadium* (Vero y Mondino, 2002). Muchos microorganismos producen y liberan enzimas liticas que pueden hidrolizar una gran variedad de compuestos poliméricos, incluyendo la quitina, proteínas, celulosa, hemicelulosa y ADN (ácido desoxirribonucleico). La expresión y secreción de estas enzimas por diferentes microorganismos, puede algunas veces resultar en la supresión directa de las actividades de patógenos vegetales (Pal y McSpaden, 2006). Algunos ejemplos de microorganismos productores de enzimas liticas son *Serratia marcescens* (quitinasa y β -1,3-glucanasa) que controla a *Sclerotium rolfsii* y a *Sclerotinia minor* (El-Tarabily *et al.*, 2000; Pal y McSpaden, 2006), *Aureobasidium pullulans* (β -1,3-glucanasa y quitinasa) controla pudriciones en manzana y otras frutas, *Pichia gillermondi* (β -1,3-glucanasa) que antagoniza

con *Botrytis cinerea* en manzana y con *Penicillium digitatum* en uva (Janisiewicz y Korsten, 2002; Mari y Guizzardi, 1998; Spadaro y Gullino, 2004). Por el momento, no está claro cuánto de la actividad enzimática que puede ser detectada en un ambiente natural representa respuestas específicas a interacciones microorganismo-microorganismo. Parece más bien que tales actividades son en su mayoría un indicativo de la necesidad de degradar polímeros complejos para obtener al carbono como nutrimento. No obstante, los microorganismos, que muestran una preferencia por colonizar y lisar patógenos vegetales se pueden clasificar como BCAs (Pal y McSpaden, 2006).

Inducción de resistencia. Como fue mencionado anteriormente, los microorganismos pueden evitar el desarrollo de enfermedades en plantas al actuar indirectamente en la inducción de resistencia en la planta, la cual se entiende como el aumento de las respuestas de defensa de las plantas provocado por un estímulo externo. Se ha demostrado que diferentes microorganismos actúan estimulando estas defensas, por ejemplo la levadura *Candida oleophila* inoculada en heridas de naranja aumentó la acumulación de fitoalexinas (scoparon y scopoletin) (Janisiewicz y Korsten, 2002; Spadaro y Gullino, 2004; Vero *et al.*, 2004b).

Dentro de las comunidades microbianas, puede ocurrir más de un tipo de interacción al mismo tiempo, dependiendo de la fase de crecimiento de diferentes organismos, densidad poblacional y diversidad de especies (Janisiewicz y Korsten, 2002; Mari *et al.*, 2003; Pal y McSpaden, 2006).

2.3.2 Uso de microorganismos antagonistas en la postcosecha

El sistema postcosecha presenta relativa simplicidad y características favorables para el desarrollo y aplicación práctica de microorganismos antagonistas. El ambiente de la postcosecha se caracteriza por ser confinado y controlado, lo cual facilita la aplicación de

los antagonistas y la adaptación de estos a las condiciones ambientales (manejo de condiciones de humedad relativa y temperatura). Además, pueden ser aplicados de manera simple directamente sobre las heridas de frutos (propiciadas durante la cosecha) utilizando las mismas instalaciones que se emplean para los tratamientos con fungicidas (duchas, aspersores en línea, inmersiones en línea). Dado el alto valor agregado de los productos cosechados, la aplicación de altas concentraciones de antagonistas en la superficie de los frutos es económicamente viable, mientras que bajo condiciones de campo este uso no sería costeable (Janisiewicz y Korsten, 2002; Spadaro y Gullino, 2004; Umaña, 1996; Vero *et al.*, 2004a; Viñas *et al.*, 2005).

La superficie de la fruta es una fuente natural de antagonistas (Guerrero, 2004; Janisiewicz y Korsten, 2002). Una vez que la fruta es colectada, su población microbiana estable empezará a cambiar y cada paso a lo largo de la cadena de postcosecha impactará el total de ésta (Korsten, 2006). El cambio y disminución en la flora microbiana después de los tratamientos postcosecha con fungicidas, desinfectantes y tratamientos físicos, favorece el desarrollo de los patógenos (Korsten, 2006; Mari *et al.*, 2003). Además, una vez que los frutos son colocados en almacenamiento a bajas temperaturas las proporciones metabólicas del hospedero y de la microflora asociada declinará. La búsqueda de antagonistas para controlar la invasión de patógenos a las heridas en postcosecha debe limitarse a colonizadores rápidos del sitio de la herida que puedan ser metabólicamente activos aún en almacenamiento a bajas temperaturas.

Como se explicó anteriormente, los antagonistas no tienen un único modo de acción y la multiplicidad de éstos es una característica importante para su selección como agentes de control biológico. Si el antagonista posee varios modos de acción, reduce los riesgos de desarrollo de resistencia en el patógeno (Fernández, 2001; Vero y Mondino, 1999).

Para que el biocontrol sea exitoso, las condiciones que favorecen al potencial antagonista deben ser las mismas o similares a aquellas que favorecen al patógeno (Janisiewicz y Korsten, 2002).

Los requisitos con los que debe cumplir el antagonista ideal son: (1) estabilidad genética, (2) eficacia a bajas concentraciones y contra un amplio rango de patógenos en varios productos frutales, (3) requerimientos nutricionales simples, (4) supervivencia en condiciones ambientales adversas, (5) crecimiento sobre sustratos baratos en fermentadores, (6) no patógenos para la planta huésped y (7) no producir metabolitos potencialmente tóxicos para el humano, resistencia a la mayoría de los pesticidas que se usan más frecuentemente y compatibilidad con otros tratamientos físicos y químicos (Wilson y Wisniewski, 1989).

A través de la selección de microorganismos por su habilidad para antagonizar o controlar a los patógenos de plantas, se ha logrado obtener cepas eficientes con las que se han podido desarrollar formulados comerciales cuyo ingrediente activo son hongos, levaduras o bacterias (Janisiewicz y Korsten, 2002; Mari y Guizzardi, 1998; Mondino, 2003). Recientemente, algunos de los taxos de microorganismos que han probado ser antagonistas exitosos incluyen bacterias pertenecientes al género *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, y *Streptomyces*, cepas de los géneros *Sporobolomyces*, *Ampelomyces* levaduras como, *Candida* y *Cryptococcus* y el hongo *Trichoderma* (Arauz, 2000; Fernández, 2001; Govender, 2005; Janisiewicz y Bors, 1995; Sadfi *et al.*, 2002; Vero *et al.* 2002). También se ha reportado a un hongo del género *Gliocladium* como un antagonista efectivo (Calvente *et al.*, 1999; Korsten, 2006) entre otros para diferentes frutos y hortalizas (Guerrero, 2004; Infoagro, 2006; Lele *et al.*, 1981; Sangachote, 1998; Singh *et al.*, 2000; Spadaro y Gullino, 2004). Algunas de las especies de microorganismos registradas

comercialmente en EUA para el control de patógenos del suelo son *Gliocadium vierenis*, *Trichoderma harzianum*, *Agrobacterium radiobacter* K84, *Pseudomona fluorescens*, *Burkholderia cepacia*, *Bacillus subtilis* GB03 y *B. subtilis* MBI 600 (EPA, 2007).

Algunos de los productos comerciales cuyo principio activo es un microorganismo antagonista para su uso como biocontrolador de enfermedades postcosecha de frutas son: Aspire (Ecogen Inc., Langhorn, USA) basado en una cepa de *Candida oleophila*, YieldPlus (Anchor Yeast, Cape Town, South Africa) basado en una cepa de *Cryptococcus albidus*, Bio-Save 100 y Biosave-111 (EcoScience, Orlando, Florida, USA) basados en diferentes cepas bacterianas pertenecientes a la especie *Pseudomonas syringae* (Janisiewicz y Korsten, 2002; Leibinger *et al.*, 1997; Mari y Guizzardi, 1998; Vero *et al.*, 2004; Vero *et al.*, 2002; Viñas *et al.*, 2005). La formulación comercial Avogreen que contiene el agente de biocontrol *Bacillus subtilis* aislado de la filósfera del aguacate está registrado en Sudáfrica para el control postcosecha de *Cercospora* y antracnosis de éste (Janisiewicz y Korsten, 2002).

2.4 Realce del biocontrol

Los principales avances en el mejoramiento del control biológico de enfermedades de postcosecha son: a) manipulación del ambiente, b) uso de mezclas de antagonistas, c) manipulación fisiológica y genética de los antagonistas, d) aplicaciones precosecha, e) manipulación de fórmulas, y f) uso integrado (Janisiewicz y Korsten, 2002; Spadaro y Gullino, 2004).

Manipulación del ambiente

Es posible manipular el ambiente físico y químico para la ventaja de los antagonistas en almacenamiento, tomando siempre en cuenta que la calidad de los frutos debe mantenerse.

La temperatura, humedad y frecuentemente la composición de los gases son predeterminados, para mantener la calidad de los frutos y los antagonistas deben adaptarse a tales condiciones (Janisiewicz y Korsten, 2002; Spadaro y Gullino, 2004). La adición de nutrimentos, preferentemente aquellos que puedan ser metabolizados por el antagonista y no por el patógeno ha sido sugerida en varias interacciones antagonista-patógeno dando ventaja al antagonista (Janisiewicz y Korsten, 2002). La aplicación de compuestos nitrogenados realza las poblaciones del antagonista *P. syringae* en heridas de manzana debido a que el nitrógeno es un nutrimento limitado en ambientes ricos en carbono (Janisiewicz y Korsten, 2002; Spadaro y Gullino, 2004). La adición de sideróforos puede reducir la pudrición en manzanas, ya sea secuestrando el hierro requerido por los patógenos o promoviendo la producción de sideróforos por parte del antagonista (Calvente *et al.*, 1999; He *et al.*, 2003). Si los nutrimentos que limitan el crecimiento de los patógenos o de los antagonistas fueran conocidos, entonces las sustancias o nutrientes limitantes podrían ser manipuladas para estimular a las poblaciones de antagonistas y/o a los mecanismos de biocontrol.

Mezclas de antagonistas

Para realizar un sistema de biocontrol, pueden ser necesarias las mezclas de cepas de antagonistas compatibles, que provean un espectro de acción más amplio, resultando así un control más efectivo al basado en un solo antagonista. Estas cepas deben ser complementarias y no competitivas entre sí. Las mezclas tienen varias ventajas: (1) pueden incrementar la eficacia (menos biomasa necesaria), (2) son más confiables y permiten una reducción en el número de aplicaciones y (3) reducción costos del tratamiento. Además, permiten la combinación de diferentes características genéticas, minimizando la necesidad por la ingeniería genética (Janisiewicz y Bors, 1995; Janisiewicz y Korsten, 2002;

Leibinger *et al.*, 1997; Spadaro y Gullino, 2004). Por ejemplo una mezcla de los antagonistas *Pseudomona syringae* y *Sporobolomyces roseus* en una biomasa aproximadamente igual realizó el biocontrol de *Penicillium expansum* comparado con el control en tratamientos con antagonistas aplicados por separado a biomasas equivalentes a las de la mezcla (Janisiewicz y Bors, 1995).

A pesar de que los beneficios del uso de una mezcla de antagonistas es clara, su implementación requiere de la aprobación de la industria productora de agentes de biocontrol, porque duplicaría el costo para comercializar la mezcla de antagonistas comparado con el de uno solo. La viabilidad económica de este alcance es favorecida si las mezclas incluyeran por lo menos uno de los antagonistas que ya han sido comercializados (Janisiewicz y Korsten, 2002).

Manipulación fisiológica y genética de los antagonistas

Con técnicas de ingeniería genética o aditivos aplicados junto con el antagonista pueden ser transferidos a un éste rasgos para la explotación de productos vegetales, para la resistencia a fungicidas, para colonización de la superficie del fruto en condiciones de almacenaje, y para la síntesis de compuestos que favorezcan el antagonismo (antibióticos o sideróforos) (Spadaro y Gullino, 2004).

La manipulación fisiológica de los antagonistas ha sido enfocada al mejoramiento de su aptitud ecológica (fitness), la cual es particularmente importante en aplicaciones hortícolas donde las condiciones ambientales fluctúan ampliamente.

Los esfuerzos actuales en manipulación genética de antagonistas están enfocados en desarrollar procedimientos eficientes para la transformación de bacterias y levaduras antagonistas y en insertar genes para encaminar a los antagonistas a una mejor adaptación

al ambiente en lugar de realzar el biocontrol (Janisiewicz y Korsten, 2002; Spadaro y Gullino, 2004).

Aplicaciones precosecha

La aplicación de antagonistas en el campo podría habilitar la colonización temprana de la superficie de los frutos protegiéndolas de infecciones que puedan establecerse y permanecer latentes en la postcosecha (Janisiewicz y Korsten, 2002; Spadaro y Gullino, 2004). Para que la aplicación precosecha tenga éxito, los antagonistas potenciales debe ser capaces de tolerar baja disponibilidad de nutrimentos, rayos UV, altas temperaturas y condiciones de sequía (Janisiewicz y Korsten, 2002). Las levaduras antagonistas *Cryptococcus infirmo-miniatus*, *Cryptococcus laurentii* y *Rhodoturula glutinis*, aplicadas a peras d' Anjou y Bosc en el campo tres semanas antes de la cosecha, mantuvieron alta densidad poblacional a través de la cosecha y en el mejor de los casos, redujeron el moho gris en peras Bosc de un 13% a un 4%, y en peras d' Anjou de un 7% a un mínimo de 1% en frutos con heridas en postcosecha y almacenadas por 4 meses a 0.5°C (Benbow y Sugar, 1999). Aislados seleccionados de *Aureobasidium pullulans*, *Rhodotorula glutinis*, y *Bacillus subtilis* redujeron el tamaño y número de lesiones causadas por los patógenos postcosecha *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea* y *Pezizola malicoticis* en manzanas heridas. Se aplicaron combinaciones de los microorganismos antagonistas a los árboles de manzana en la época de crecimiento durante dos años consecutivos (Leibinger *et al.*, 1997).

Manipulación de fórmulas

Uno de los mayores problemas con el uso de antagonistas es su actuación insuficiente e inconsistente bajo condiciones comerciales (Spadaro y Gullino, 2004). Las fórmulas tienen un efecto profundo en los agentes y productos de biocontrol, incluyendo vida de anaquel, facilidad de operación y aplicación, y costo. La formulación de microorganismos de

biocontrol de patógenos vegetales está subdesarrollada en comparación con otras aplicaciones de microorganismos (Janisiewicz y Korsten, 2002; Spadaro y Gullino, 2004); por ejemplo, ciertos agentes protectores del frío y sequía, así como medios de rehidratación, realizaron la viabilidad de una cepa antagonista de *Pantoea agglomerans* (Costa, *et al*, 2000). Las fórmulas también pueden influenciar la supervivencia y la actividad de los agentes de biocontrol en la superficie del fruto y en heridas (Janisiewicz y Korsten, 2002).

Uso integrado

En ocasiones el uso de antagonistas en postcosecha no ha sido del todo eficaz, obteniendo resultados poco satisfactorios o únicamente preventivos. Debido a lo anterior, se ha planteado el uso integrado de los antagonistas con otros métodos, por ejemplo, se ha demostrado que la eficacia de algunos antagonistas ha incrementado con la adición de fungicidas (Korsten, 2006; Mari *et al.*, 2003; Mari y Guizzardi, 1998). Otras estrategias han sido evaluadas a lo largo de los últimos años, la combinación de tratamientos biológicos con técnicas alternativas a los químicos: termoterapia, rayos ultravioleta, productos naturales vegetales y animales, infiltraciones de calcio, bicarbonato de sodio o etanol, aplicación de suscitadores de resistencia natural a enfermedades (Janisiewicz y Korsten, 2002; Mari y Guizzardi, 1998; Spadaro y Gullino 2004; Terry y Joyce, 2003; Vero *et al.*, 2004a; Zhang *et al.*, 2004). También se ha probado con la adición de suplementos nutricionales benéficos para los antagonistas como aminoácidos y vitaminas, mejorando la supresión de patógenos (Korsten, 2006).

A su vez, para que el uso de microorganismos antagonistas sea efectivo éste debe ser compatible con ciertos tratamientos y prácticas postcosecha comunes tales como tipo de manejo y almacenamiento de los frutos, cubierta de cera a bajas temperaturas, tratamientos

antioxidantes, y almacenamiento a niveles ultra bajos de oxígeno (Janisiewicz y Bors, 1995; Mari *et al.*, 2003; Mari y Guizzardi, 1998).

El tratamiento químico con análogos del azúcar, cloruro de calcio o la exposición a atmósferas altas en CO₂ (12% por 4-6 semanas) redujo la severidad de la enfermedad causada por un hongo patógeno de las peras cuando se integro al tratamiento con levaduras antagonistas (Mari *et al.*, 2003). Además el cloruro de calcio facilitó el control de *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum* por *Cryptococcus albidus* en manzana (Fan y Tian, 2001).

En durazno, con la combinación de la aplicación de *Candida oleophila*, agua caliente y almacenamiento en una atmósfera modificada, se logró la más alta eficacia en el control de enfermedades postcosecha (Govender, 2005).

El bicarbonato de sodio exhibió una habilidad consistente para favorecer la acción biocontroladora (efecto curativo y protector) contra *Botrytis* y *Penicillium* en manzanas.

Se está estudiando la posibilidad de combinar al antagonista *Aureobasidium pullulans* con sustancias naturales potenciadoras del biocontrol como el quitosano o derivados del mismo, ya que se ha comprobado que el antagonista es capaz de colonizar las heridas (en manzana) en presencia de estas sustancias (Korsten, 2006; Vero *et al.*, 2003).

Se debe hacer hincapié, en que la mayoría de los antagonistas identificados son efectivos contra un número limitado de patógenos y en cosechas específicas y que la efectividad es frecuentemente específica del cultivar (Mari y Guizzardi, 1998).

2.5 Control biológico postcosecha en mango

Se ha intentado aplicar el control biológico en enfermedades postcosecha de mango, aunque son pocas las investigaciones al respecto. Por ejemplo, una cepa de *Bacillus* sp. exhibió actividad *in vitro* contra *Colletotrichum gloeosporioides*, se encontró que el control

de la enfermedad *in vivo* se obtenía cuando los frutos eran inoculados con la bacteria 24 h previas a la inoculación con el hongo; pero no cuando los frutos se inoculaban primero con el patógeno, lo cual indicó que la fase latente del hongo no fue afectada por el antagonista. No está claro, si la estructura latente en el mango es un apresorio durmiente o una hifa subcuticular, esta información puede ser crítica para una aplicación postcosecha exitosa de agentes de control biológico (Arauz, 2000). La cepa de *Bacillus* sp. 359 fue aislada de la superficie del aguacate y fue probada con éxito como antagonista de *C. gloesporioides* al reducir su esporulación en mango “Kensington Pride” (Coates *et al.* 1998).

Otro ejemplo, es la aplicación del aislado 558 de *Pseudomonas fluorescens*. La bacteria redujo significativamente el desarrollo de la antracnosis, pero el modo de acción involucrado no fue claro (Koomen y Jeffries, 1993).

Bacillus licheniformis, inicialmente aislado de la superficie de las hojas de mango, obtuvo éxito al ser evaluado en su habilidad para inhibir *Colletotrichum gloesporioides* y *Botryosphaeria parva in vitro*. El aislado usado en este estudio, mostró antibiosis como uno de sus modos de acción. Además, se confirmó la producción de un compuesto volátil no identificado en este estudio. También se evaluó la producción de sideróforos, la adición de sales de calcio, entre otros. Este estudio mostró que *Bacillus licheniformis* utilizó más de un modo de acción contra patógenos postcosecha de frutos de mango (Govender, 2005). Igualmente, se aislaron y evaluaron *in vitro* las bacterias *Bacillus licheniformis* y *B. subtilis* las cuales inhibieron la tasa de crecimiento micelial de *Colletotrichum gloesporioides* y redujeron el porcentaje de germinación, aunque incrementando la densidad de esporulación, lo que sugiere un efecto fungistático debido a la producción de metabolitos fungitóxicos (Gutiérrez *et al.*, 2003).

III. OBJETIVOS

Este estudio tiene los siguientes objetivos:

3.1 Objetivo General

Evaluar la efectividad de microorganismos antagonistas como un método biológico potencial, para su aplicación en el control de enfermedades postcosecha de frutos de mango c.v. Tommy Atkins.

3.1.1 Objetivos Particulares

- Aislar microorganismos causantes de enfermedades postcosecha en frutos de mango c.v. Tommy Atkins.
- Aislar microorganismos antagonistas de la superficie de frutos de mango c.v. Tommy Atkins.
- Evaluar mediante pruebas *in vitro* el control de microorganismos patógenos por microorganismos antagonistas.

IV. METODOLOGÍA

Se utilizaron frutos de mango c.v. Tommy Atkins de la zona de Atonalisco, municipio de Tepic, en Nayarit, los cuales fueron cosechados en madurez fisiológica a finales del mes de Mayo del año 2006. Los frutos fueron trasladados a las instalaciones del Instituto Tecnológico de Tepic, al laboratorio de investigación del Departamento de Química y Bioquímica. Se realizó una clasificación eliminando frutos con daños visibles, tanto mecánicos como patológicos. Posteriormente, treinta frutos fueron lavados con agua corriente, una vez secos, fueron colocados en cámaras de alta humedad relativa (80%) y a temperatura ambiente con el fin favorecer el desarrollo de síntomas, así como el desarrollo de los hongos causantes de deterioro en postcosecha.

4.1 Aislamiento e identificación de hongos patógenos de como agentes causales de enfermedad en mango c.v. Tommy Atkins

4.1.1 Muestreo y siembra de tejidos lesionados para el aislamiento de patógenos *in vitro*

Después de la aparición de micelio y desarrollo de síntomas de enfermedad en los frutos colocados en cámara húmeda, se obtuvieron muestras de tejido infectado. En condiciones asépticas y con un bisturí, se tomaron muestras de tejido de la epidermis de 1 cm², con 50% de tejido sano y 50% de tejido enfermo, las cuales fueron desinfectadas superficialmente por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio (1%) por un minuto y medio, posteriormente se les practicaron dos lavados de un minuto cada uno en agua destilada estéril para eliminar el exceso de hipoclorito, se pusieron a secar por ambos lados durante dos minutos y medio cada vez sobre papel filtro estéril, para ser sembradas en cajas petri con agar dextrosa papa (ADP), de 3-4 secciones de tejido por caja, y posteriormente incubadas a temperatura ambiente hasta el desarrollo de micelio.

4.1.2 Aislamiento de patógenos

A partir del desarrollo de micelio se tomaron muestras con características morfológicas macroscópicas (tipo de crecimiento, coloración del micelio, color de las esporas, etc.) y microscópicas (tipo de estructura reproductiva, características de las hifas, etc.) diferentes. En condiciones asépticas, se tomó una sección del cultivo, se introdujo en un matraz Erlenmeyer con 100 ml de agua destilada estéril, se agitó vigorosamente y se hicieron diluciones ($1:10^4$) que se sembraron en ADP, incubándose a temperatura ambiente ($23 \pm 1^\circ\text{C}$). Las unidades formadoras de colonias (UFC's) con 24 h de desarrollo, se pasaron a cajas petri estériles con medio ADP nuevamente, para observar su crecimiento. Esta etapa se repitió sucesivamente obteniendo cultivos con características macroscópicas y microscópicas homogéneas, y se procedió a su identificación y asignación de una clave de identificación con letra H (hongo) y un número arábigo consecutivo, iniciando con el número 1.

4.1.3 Identificación de hongos patógenos

Para la identificación de los hongos patógenos se realizaron preparaciones en fresco de las estructuras reproductivas desarrolladas, primero en agua destilada y luego con azul de metileno. Las preparaciones fueron observadas al microscopio y comparadas con la clave taxonómica de Barnett y Hunter (1972) y con Carrillo (2003) identificando los hongos hasta el nivel de género.

4.1.4 Pruebas de patogenicidad

Para comprobar que los hongos aislados, purificados e identificados fueran los causantes de las enfermedades en los frutos de mango, se realizaron pruebas de patogenicidad.

Preparación del inóculo

El inóculo se preparó a partir de placas con crecimiento micelial de 5-7 días.

Para preparar la suspensión se agregó agua destilada estéril en las placas de cultivo y se separaron las esporas mecánicamente con un asa bacteriológica, la suspensión se filtró con gasa estéril para la eliminación de restos de micelio y se vació en tubos de ensayo se ajustó la concentración a 100 000 esporas por ml^{-1} (10^6) con ayuda de un hemocitómetro.

Preparación de los frutos

Los frutos (tres repeticiones de tres frutos y un control para cada hongo aislado) fueron lavados con agua corriente y desinfectados externamente sumergiéndolos en una solución de hipoclorito de sodio (1 %) por 2 minutos. Una vez desinfectados fueron lavados tres veces por inmersión en agua destilada estéril durante 5 minutos cada vez y se les dejó secar al aire bajo condiciones asépticas. Posteriormente se procedió a la inoculación de los frutos.

Inoculación

Con un bisturí estéril se hizo un corte longitudinal superficial de 1cm, y se depositaron sobre la herida 10 μl de la suspensión de esporas 10^6 . La herida se hizo en el área de donde se tomó el hongo en la muestra original de tejido enfermo (peduncular, apical).

Los mangos inoculados (tres repeticiones de tres frutos para cada hongo aislado) fueron incubados en la cámara húmeda a temperatura ambiente hasta la manifestación de los síntomas de la enfermedad. Las lesiones presentadas por los hongos inoculados fueron comparadas con las lesiones de los tejidos originales enfermos, y una vez comprobada la similitud de su aspecto, se procedió a la comprobación de la presencia del hongo inoculado en las lesiones, de acuerdo con los postulados de Koch.

Para demostrar la presencia del hongo patógeno inoculado en los frutos, y relacionarlo con el desarrollo de la enfermedad, se extrajo bajo condiciones asépticas una muestra de tejido enfermo, y se sembró en ADP, empleando la misma metodología descrita anteriormente

para la toma original de la muestra. Una vez desarrolladas las colonias a partir del tejido enfermo, se identificó a los microorganismos en base a claves taxonómicas descritas por Barnett y Hunter (1972) y Carrillo (2003).

4.2 Aislamiento de microorganismos antagonistas

Se lavaron treinta mangos en madurez fisiológica, con agua estéril para aislar antagonistas potenciales a partir de la microflora natural de su superficie. A partir del agua de lavado de los frutos se tomaron 10 ml y se realizó una serie de diluciones (1:10⁴). Una vez preparado el medio se tomó una asada y se sembró en cajas petri por estría cruzada en agar dextrosa Saboraud (SAB), agar dextrosa papa (ADP), y agar nutritivo haciendo este procedimiento por duplicado en cada dilución. Las cajas sembradas se incubaron a temperatura ambiente (23 ± 1°C) por 48 h. Las colonias que presentaron características morfológicamente similares en color, forma, etc., y características similares al microscopio, fueron resembradas sucesivamente hasta lograr cultivos puros. A cada uno se le asignó una clave de identificación con una letra A y un número un número arábigo consecutivo, iniciando con el número 1. Las muestras fueron almacenadas en refrigeración a una temperatura de 4 ± 1°C.

La actividad antagónica de los microorganismos aislados de mango c.v. Tommy Atkins, se probó sobre los patógenos aislados en condiciones *in vitro*.

4.3 Determinación de la actividad antagónica de los aislados *in vitro*

Dependiendo del éxito de cada aislado obtenido a partir del agua de lavado de la superficie de los frutos c.v. Tommy Atkins en crecer en cada tipo de agar (agar nutritivo, SAB y ADP), se sembraron por estría central en cajas petri sobre el medio correspondiente, el

número de cajas con agar para cada uno de los aislados se determinó por el número de patógenos obtenidos y por duplicado (dos cajas para cada patógeno).

4.3.1 Pruebas de antagonismo

Después de dos días de incubación del posible antagonista a temperatura ambiente ($23 \pm 1^\circ\text{C}$), se extrajo un cilindro central del medio de cultivo, cortado con sacabocado estéril de 9 mm de diámetro. El espacio vacío se sustituyó con un cilindro de medio de cultivo del patógeno con 5-10 días de desarrollo, cortadas con un sacabocado estéril de 9 mm de diámetro, 50% micelio y 50% medio. Todos los patógenos se probaron contra cada uno de los aislados de antagonistas por duplicado. Se dejó un control del patógeno para cada tratamiento. El desarrollo microbiano se observó tanto en los tratamientos como en los controles a las 24, 48 y 72 h verificando en éstos últimos, si el hongo invadió la zona de crecimiento del potencial antagonista. Se midió el diámetro de la colonia en cada tratamiento y en los controles con un vernier digital Truper® y se calculó el porcentaje de inhibición de acuerdo a la fórmula:

$$\text{Porcentaje de inhibición} = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Donde C es el diámetro de la colonia del control y T es el diámetro de la colonia del tratamiento. Los datos obtenidos fueron representados en gráficas.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Aislamiento e identificación de patógenos como agentes causales de la enfermedad

5.1.1 Aislamiento e identificación de hongos patógenos

A través de la purificación de los cultivos de los patógenos aislados del fruto del mango, se obtuvieron cinco hongos distintos en sus características macroscópicas por lo que se procedió a la observación de preparaciones en fresco de cada hongo, para después compararlos con la clave de Barnett y Hunter (1972) y Carrillo (2003) hasta identificarlos a nivel de género.

En la tabla 5 se enlistan los hongos aislados y los géneros a los que pertenecen.

Tabla 5. Hongos patógenos aislados a partir de frutos de mango y género al que pertenecen.

Patógeno	Género
H1	<i>Alternaria</i> sp.
H2	<i>Curvularia</i> sp.
H3	<i>Aspergillus</i> sp.
H4	<i>Penicillium</i> sp. (1)
H5	<i>Penicillium</i> sp. (2)

Los hongos aislados (con la clave H1 a H5) fueron identificados como *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Aspergillus* sp., y dos especies de *Penicillium* sp.

En la literatura se reporta ampliamente al hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, causante de la antracnosis, como la enfermedad más importante en mango y causante de la mayoría de las pérdidas postcosecha a nivel mundial. Chávez *et al.* (2001), Mena (2004), Allende *et al.*, (2002) y Guzmán (2000), señalan a esta enfermedad como la principal enfermedad de postcosecha del mango en México.

Arauz *et al.* (1986, 1994, 2000), han estudiado esta enfermedad en mango por su importancia e impacto económico, evaluando su incidencia y ocurrencia, determinando las

fuentes de inóculo y evaluando medidas de control en Costa Rica. Se han hecho diversos estudios para su control mediante tratamientos alternativos, químicos, biológicos etcétera (Govender, 2005; Koomen y Jeffries, 1993; Prusky y Keen, 1993; Yakoby *et al.*, 2002; Patiño *et al.*, 2005).

Sin embargo en este estudio, *Colletotrichum gloeosporioides* no se presentó en ninguno de los mangos colocados en cámara húmeda. Existen distintas razones por las cuales esta enfermedad no se presentó: 1) No hay registro de que las huertas de mango de la zona de Atonalisco presenten mayor incidencia de esta enfermedad; 2) La infección no se estableció en los frutos inmaduros (Chávez *et al.*, 2001) por lo que no se manifestó en la postcosecha; 3) La humedad relativa de las cámaras húmedas (80%) no fue suficiente para el desarrollo de la enfermedad, la cual se manifiesta a humedad relativa mayor a 95% (Arauz, 2000); 4) La resistencia a la antracnosis por la c.v. Tommy Atkins, ha sido reportada como superior con respecto a otras variedades (Páez, 1997).

La presencia del hongo *Alternaria* sp. coincide con lo señalado por Prusky *et al.* (1993; 2004), Allende *et al.* (2002), Mena (2004) así como con el listado de enfermedades del mango reportado por Pernezny y Simone (2000) como agente causal de la pudrición o mancha negra del fruto del mango.

En la figura 9 se presenta el aspecto macroscópico y microscópico de la colonia del patógeno aislado e identificado como *Alternaria* sp.

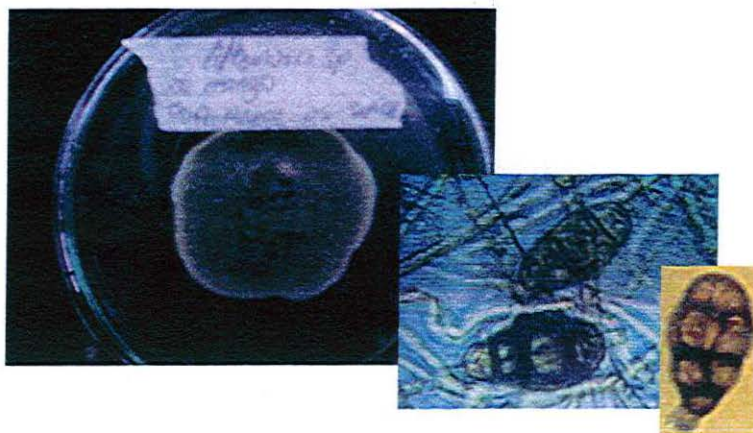


Figura 9. Aspecto macroscópico y microscópico de la colonia del patógeno identificado como *Alternaria* sp. (H1).

El hongo *Alternaria* sp. presenta micelio algodonoso elevado, color café parduzco y reverso negro parduzco. Los conidios de *Alternaria* tienen septos transversales y longitudinales, pardos y picudos.

En cuanto a *Curvularia* sp. como causante de enfermedades postcosecha en mango son pocos los autores que la reportan, Rivera *et al.* (2006) en un estudio sobre la ocurrencia y distribución de *Colletotrichum gloeosporioides* de mango lograron aislar entre otros hongos a *Curvularia* sp. a partir de lesiones necróticas en el mango. Castellano y Fonseca (2000) mencionan la presencia de *Curvularia* sp. en frutos jóvenes de mango. Lelé *et al.* (1981) reportaron la aparición de una nueva enfermedad en las hojas de mango identificada como *Curvularia* sp. causando “Tizón foliar” en mango. Sin embargo, no se menciona su incidencia en frutos. Pernezny y Simone (2000) enlistan a *Curvularia tuberculata* y a *Curvularia lunata* como causantes de “Tizón por Curvularia” y “Mancha foliar” en mango

respectivamente. No existen reportes sobre *Curvularia* sp. como una enfermedad de importancia en postcosecha de mango para México. Probablemente éste hongo sea específico de cultivares de mango c.v. Tommy Atkins de Atonalisco, Nayarit, En la figura 10 se muestra al hongo identificado como *Curvularia* sp. en su aspecto colonial macroscópico y microscópico.

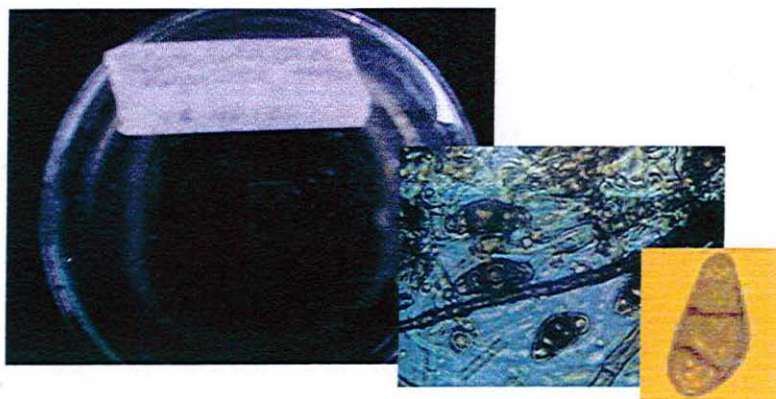


Figura 10. Aspecto macroscópico y microscópico de la colonia del patógeno identificado como *Curvularia* sp. (H2).

Curvularia sp. presenta micelio aterciopelado, plano, color pardo a negro y reverso negro. En su aspecto microscópico presenta conidios oscuros, células terminales claras, más o menos fusiformes, típicamente curvadas, con una de sus células centrales agrandada como puede apreciarse en la figura 10.

El hongo *Aspergillus* sp. ha sido probado como patógeno de los frutos de mango por Allende *et al.* (2002), Koomen y Jefries (1993) y por Arauz *et al.* (1986; 1994), éste último señala a *Aspergillus* sp. como causante de una de las enfermedades de postcosecha de mango con menor incidencia en Costa Rica. La especie *Aspergillus niger* es mencionada

por Pernezny y Simone (2000) como patógeno del mango, sin embargo, por sus características, el hongo del género *Aspergillus* aislado en este estudio no pertenece a esta especie.

En la figura 11 se muestra el aspecto macroscópico y microscópico de la colonia del hongo H3 perteneciente al género *Aspergillus*.

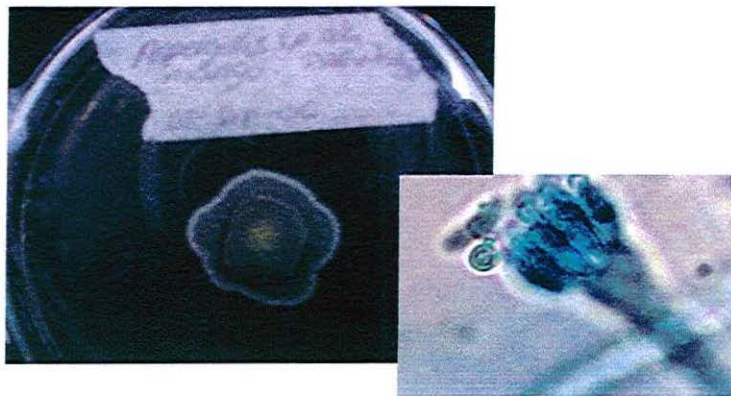


Figura 11. Aspecto macroscópico y microscópico de la colonia del patógeno identificado como *Aspergillus* sp (H3).

El hongo identificado como *Aspergillus* sp. presenta micelio aterciopelado, plano, color pardo oliva, y reverso color naranja. En su aspecto microscópico presenta conidios globosos unicelulares y cabezas conidiales de forma columnar.

Penicillium sp. fue señalado por Koomen y Jeffries (1993) como patógeno de postcosecha del mango. Se han reportado diversas especies de *Penicillium* como causantes de enfermedades en el mango, *Penicillium cyclopium* fue aislado por Palejwala *et al.* (1989) de mangos maduros estropeados, siendo éstos los más susceptibles a éste mohó, también

reportado por Panhwar (2005) como causante de la pudrición por moho azul del mango en postcosecha. El-Samahy *et al.* (2000) aislaron catorce especies de hongos de la superficie del mango pertenecientes a cinco géneros distintos, entre ellos *Penicillium*, para su control en postcosecha. De igual modo Ploetz *et al.* (1997) identificaron a *Penicillium* sp. como parte de un complejo formado por diversas especies de mohos ampliamente distribuido en cultivares de Florida causante del “declive del mango” (mango decline).

En la figura 12 se muestra el aspecto macroscópico y microscópico del hongo H4 identificado como *Penicillium* sp.

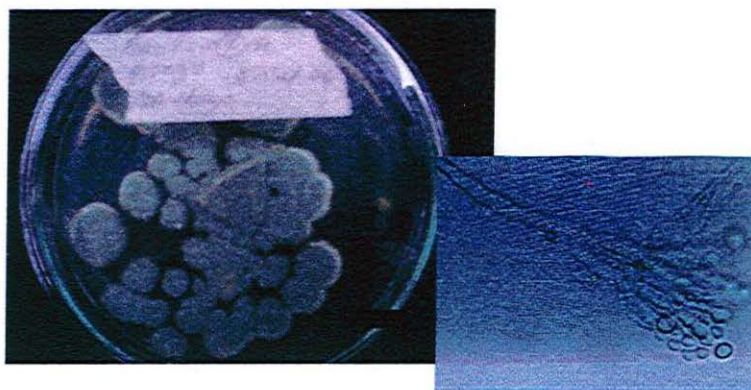


Figura 12. Aspecto macroscópico y microscópico de la colonia del patógeno identificado como *Penicillium* sp (H4).

El micelio de *Penicillium* sp. (H4) crece rápidamente diseminándose por el medio, es de color verde parduzco, aterciopelado y reverso amarillo. Microscópicamente presenta conidióforos biverticilados y de conidios globosos unicelulares.

En la figura 13 se presenta el aspecto de las colonias del hongo H5 identificado como *Penicillium* sp.

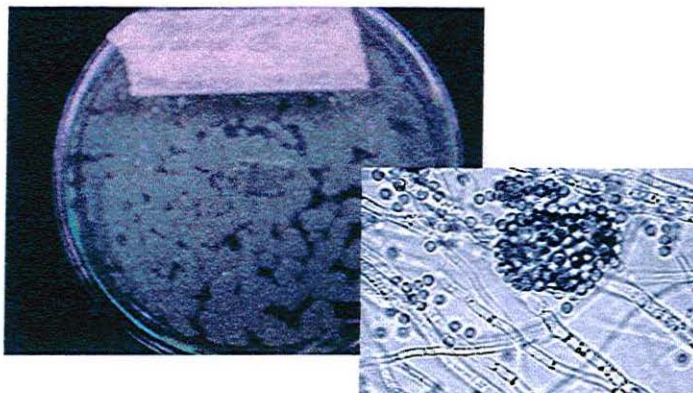


Figura 13. Aspecto macroscópico y microscópico de la colonia del patógeno identificado como *Penicillium* sp (H5).

Penicillium sp. (H5) presenta micelio aterciopelado color blanco a verde y amarillo al reverso, de crecimiento rápido diseminándose por todo el medio en colonias pequeñas. Microscópicamente presenta conidios globosos unicelulares en conidióforos simples o monoverticilados.

5.1.2 Pruebas de patogenicidad

Las pruebas de patogenicidad resultaron positivas en todos los casos. Los síntomas de enfermedad aparecieron en los frutos (tres frutos por hongo aislado) entre los 5-10 días de incubación en cámara húmeda. Estos síntomas fueron idénticos a los observados inicialmente. Lo cual indicó que los hongos aislados resultaron ser patógenos para los frutos de mango en postcosecha. Igualmente se procedió a la observación en preparaciones en fresco y a su identificación corroborando que se trataba de los mismos hongos que propiciaron las lesiones en un inicio.

5.2 Aislamiento de microorganismos antagonistas

Los cultivos obtenidos a partir de la superficie del fruto de mango fueron purificados hasta obtener cuatro aislados de posibles antagonistas los cuales se probaron para su óptimo crecimiento en diferentes medios de cultivo.

En la tabla 6 se indica la capacidad de cada uno de los aislados para crecer en agar nutritivo, ADP y SAB.

Tabla 6. Antagonistas y su capacidad para crecer en los diferentes medios de cultivo.

Antagonista	Medio de Cultivo		
	Agar Nutritivo	ADP	SAB
A1	+	+/-	-
A2	+/-	+	+
A3	+/-	+	+
A4	+/-	+	+

+ = Crecimiento rápido y abundante

+/- = Crecimiento lento y escaso

- = Crecimiento nulo

En el cuadro se observa que el antagonista A1 tuvo su crecimiento óptimo en agar nutritivo mientras que los demás (A2, A3, A4) crecieron mejor en medio ADP y SAB. Sin embargo para éstos últimos por cuestiones prácticas se seleccionó ADP como el medio para desarrollar a los antagonistas.

En la tabla 7 se indica el aspecto colonial que presentaron cada uno de los cuatro aislados de antagonistas potenciales en el medio seleccionado para su crecimiento.

Tabla 7. Aspecto de las colonias de potenciales antagonistas aislados.

Antagonista	Forma	Borde	Elevación	Superficie	Color	Densidad
A1 (Agar Nutritivo)	Circular	Entero	Convexa	Lisa, mate, cremosa, superficial	Blanco	Opaca
A2 (ADP)	Circular	Entero	Convexa	Lisa, mate, cremosa, superficial	Blanco	Opaca
A3 (ADP)	Irregular	Lobulado	Plana	Rugosa, mate, seca, invasiva	Blanco	Opaca
A4 (ADP)	Circular	Entero	Convexa	Lisa, mate, cremosa, superficial	Blanco	Opaca

Los aspectos de las colonias que se indican en la tabla 7 son los más comunes que se presentan sobre medios sólidos. Aunque varios de los aislados coincidan en la descripción para el aspecto de sus unidades formadoras de colonias difieren en el tamaño, cantidad y en sus características microscópicas.

En la figura 14 se observan las características microscópicas del aislado A1 con tinción de Gram.

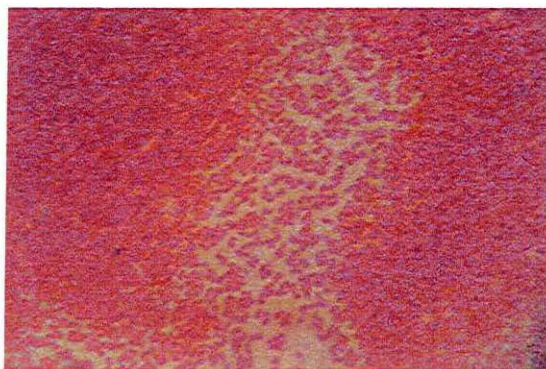


Figura 14. Aspecto microscópico del antagonista 1 (A1) con tinción de Gram.

El aislado del antagonista potencial A1 se aprecia microscópicamente como pequeños cocos Gram-negativos.

En la figura 15 se observan las características microscópicas del aislado del potencial antagonista A2 también con tinción de Gram.

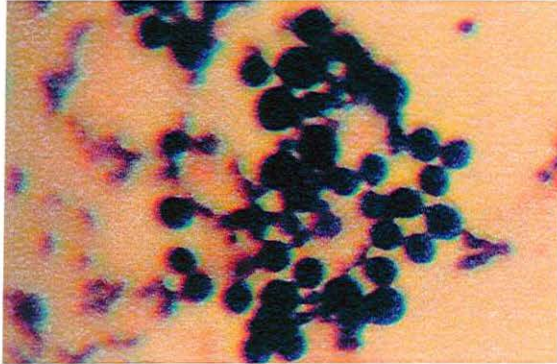


Figura 15. Aspecto microscópico del antagonista 2 (A2) con tinción de Gram.

En el frotis de A2 se pueden observar células globosas, de tamaño ligeramente variable reteniendo el colorante cristal violeta de la tinción de Gram, no se apreciaron estructuras internas con la tinción.

En la figura 16 se aprecia la morfología microscópica del aislado del potencial antagonista A3 en tinción de Gram.



Figura 16. Aspecto microscópico del antagonista 3 (A3) con tinción de Gram.

El aislado A3 presenta células de tamaño variable, ovoides y fusiformes con pequeñas estructuras internas en su centro y extremos. Igualmente se observa un tipo de pseudomicelio dentro del cual se aprecian gránulos oscuros.

En la figura 17 se presenta el aspecto microscópico del aislado del antagonista potencial A4 en tinción de Gram.



Figura 17. Aspecto microscópico del antagonista 4 (A4) con tinción de Gram.

El aislado A4 presenta células de redondas a ovoides de tamaño variable con gránulos internos color oscuro.

Korsten (2006) señala que las poblaciones de microorganismos presentes en la superficie de las frutas varían con el estado de desarrollo de cada una, y son influenciadas por las condiciones climáticas prevalecientes, además su diversidad y densidad se ve también afectada por la aplicación de químicos en el campo. En un estudio realizado por De Jager (1999) se reporta que la población microbiana en la superficie del fruto de mango es dominada por bacterias, mientras que en las hojas por levaduras. Se encontró que las bacterias dominantes sobre los frutos fueron las del grupo de las *Pseudomonas syringae*,

seguidas por *Pseudomonas corrugata*. *Aeurobsidium pullulans* fue la levadura aislada con mayor frecuencia. Cabe señalar que las poblaciones microbianas comienzan a cambiar a partir de la cosecha y que cada paso de la postcosecha causará impacto en ellas.

Koomen y Jeffries (1993) aislaron bacterias, levaduras y hongos filamentosos de la superficie de mango e identificaron a las bacterias *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus cereus* por su potencial como antagonistas. De igual manera Arauz (2000) reporta el aislamiento de *Bacillus sp.* de la superficie del mango, Gutiérrez *et al.* (2003, 2004) y Govender (2005) aislaron *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformes* para su uso como antagonistas de enfermedades postcosecha de mango.

Es probable que los microorganismos aislados en este estudio, cuya identificación está en proceso como parte de otro proyecto, pertenezcan a alguno de los géneros reportados como parte de la fructósfera del mango.

5.3 Determinación de la capacidad antagonica de los aislados *in vitro*

5.3.1 Pruebas de antagonismo

Cada antagonista potencial fue probado contra cada uno de los patógenos aislados por duplicado, además para cada tratamiento se dejó un control de cada hongo para comparar su crecimiento. El crecimiento promedio en diámetro y el porcentaje de inhibición fueron representados por medio de gráficas.

En la figura 18 se muestra el crecimiento en diámetro de la colonia del hongo *Alternaria sp.*, en cada uno de los aislados de potenciales antagonistas, a los diferentes tiempos de observación así como el porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo.

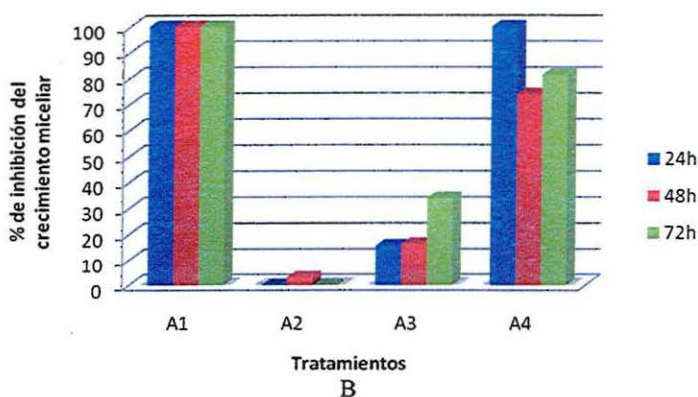
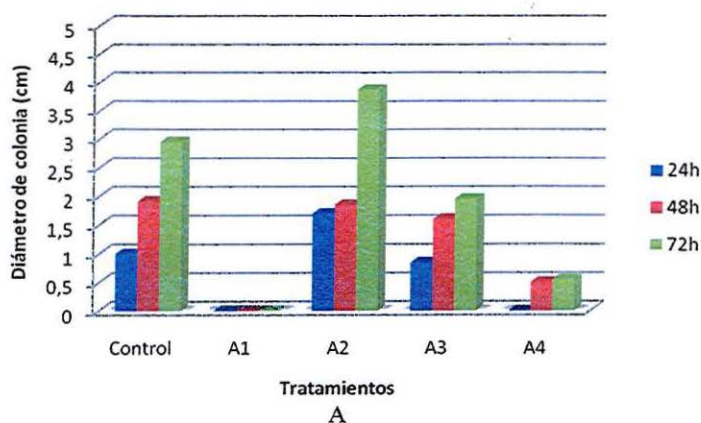


Figura 18. Crecimiento promedio en diámetro de *Alternaria* sp. (H1) en cada uno de los antagonistas potenciales (A) y porcentaje de inhibición del crecimiento miceliar (B). Control=*Alternaria* sp. (H1), A1=Tratamiento con antagonista 1, A2=Tratamiento con antagonista 2, A3=Tratamiento con antagonista 3, A4=Tratamiento con antagonista 4.

Como puede apreciarse en la figura 18, el crecimiento de *Alternaria* sp. sobre A1 fue nulo lo que representa un 100% de inhibición durante los tres días de observación. Se reportó que *Alternaria ricinis*, causante de la mancha negra de las hojas en la planta de ricino fue

controlada por *Pseudomonas* spp. fluorescentes en un estudio realizado por da Silva *et al.* (1998).

En A2, *Alternaria* sp. presentó un crecimiento promedio mayor al control en las primeras 24 h, y al final del tratamiento, por lo que el tratamiento no fue capaz de inhibir al hongo.

Según lo reportado por Umaña (1996) quién seleccionó levaduras provenientes de lavados de la corteza de frutos de naranja, éstas no observaron efecto *in vitro* sobre el crecimiento de *Alternaria* spp. en naranja; sin embargo la aplicación *in vivo* de estas levaduras disminuyeron la severidad de las lesiones causadas por dicho patógeno.

El crecimiento del diámetro de *Alternaria* sp. en A3 se mantiene menor al del control a través de las 72 h, observándose hasta un 33.9% de inhibición.

Como lo indica la figura 18, A4 parece tener un mejor control sobre el crecimiento de *Alternaria* sp. dentro de las primeras 24 h inhibiendo el crecimiento en un 100%, y aunque se observa crecimiento en las posteriores 48 h, al final de la observación el diámetro del hongo creció 2.4cm menos con respecto al control, lo que significa un porcentaje de inhibición del 81.3%. Perelló *et al.* (2002) reportan a *Bacillus* sp. y a *Rhodotorula rubra* como antagonistas de *Alternaria triticimaculans* (patógeno foliar del trigo) reduciendo significativamente la germinación de sus esporas. Chen y Wu (1999) señalan la efectividad de *Bulkhoderia* (*Pseudomonas*) *cepacia* no. 229 en reducir significativamente el surgimiento de la enfermedad causada por *Alternaria radicina* y la severidad de las lesiones en hojas y raíces de zanahoria. Esta cepa fue aislada del suelo, semillas y raíces típicas de zanahoria. Según Benbow y Sugar (1999) la levadura *Cryptococcus infirmo-miniatius* redujo significativamente la pudrición por *Alternaria* en peras.

En la figura 19 se observa el crecimiento en diámetro de la colonia del hongo *Curvularia* sp. en cada uno de los aislados de potenciales antagonistas y el porcentaje de inhibición del crecimiento miceliar.

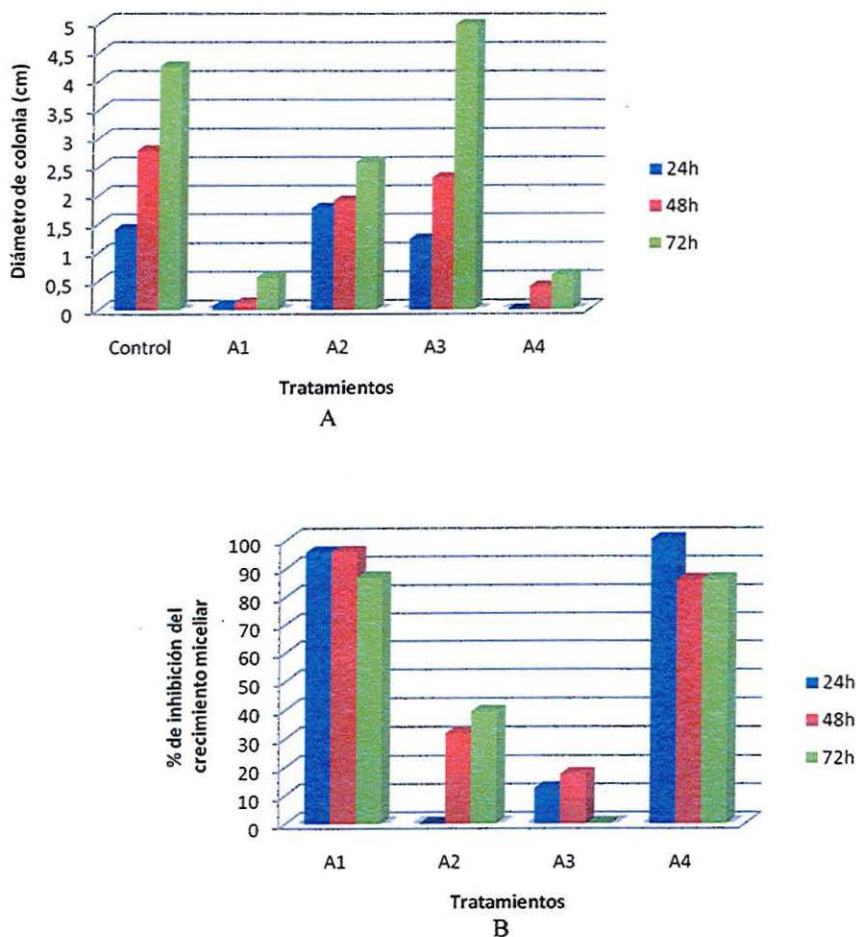


Figura 19. Crecimiento promedio en diámetro de *Curvularia* sp. (H2) en cada uno de los antagonistas potenciales (A) y porcentaje de inhibición del crecimiento miceliar (B). Control=*Curvularia* sp. (H2), A1=Tratamiento con antagonista 1, A2=Tratamiento con antagonista 2, A3=Tratamiento con antagonista 3, A4=Tratamiento con antagonista 4.

El crecimiento de *Curvularia* sp. sobre A1 presenta una disminución en comparación con el control, manteniendo un diámetro 2.66cm menor en las primeras 48 h; a las 72 h, permanece 3.7cm por debajo del diámetro promedio del control. Por lo anterior, el porcentaje de inhibición del antagonista A1 fue de un 86.7%. De acuerdo a lo reportado por Michereff *et al.* (1994), diecisiete aislados bacterianos de la filósfera del ñame (*Dioscorea* spp.) fueron capaces de inhibir el crecimiento micelial de *Curvularia eragorstidis* en más de un 75%.

El crecimiento de *Curvularia* sp. sobre A2 es mayor al promedio a las 24 h, manteniéndose así hasta las 48 h y presentando un pequeño incremento a las 72 h sin embargo se mantuvo un 1.7cm menor al diámetro del control, lo que representa 39.3% de inhibición por parte del antagonista. El crecimiento en el tratamiento con A3 se mantiene por debajo del promedio dentro de las primeras 48 h, sin embargo éste se dispara a las 72 h llegando a estar hasta un 0.73cm por encima del promedio, por lo que no existió inhibición del crecimiento del hongo. El tratamiento con A4, al igual que el tratamiento con A1, fue capaz de inhibir el crecimiento de *Curvularia* sp. hasta un 85.9% a las 72 h en comparación al control. En un estudio realizado por Basha y Ulaganathan (2002) la cepa BC121 de *Bacillus* sp. aislada de la rizósfera del sorgo fue capaz de inhibir el crecimiento de *Curvularia lunata* gracias a su acción quitinolítica.

En la figura 20 se muestra el crecimiento en diámetro de la colonia del hongo *Aspergillus* sp., en cada uno de los tratamientos con los potenciales antagonistas y el porcentaje de inhibición del hongo en los tres días de observación.

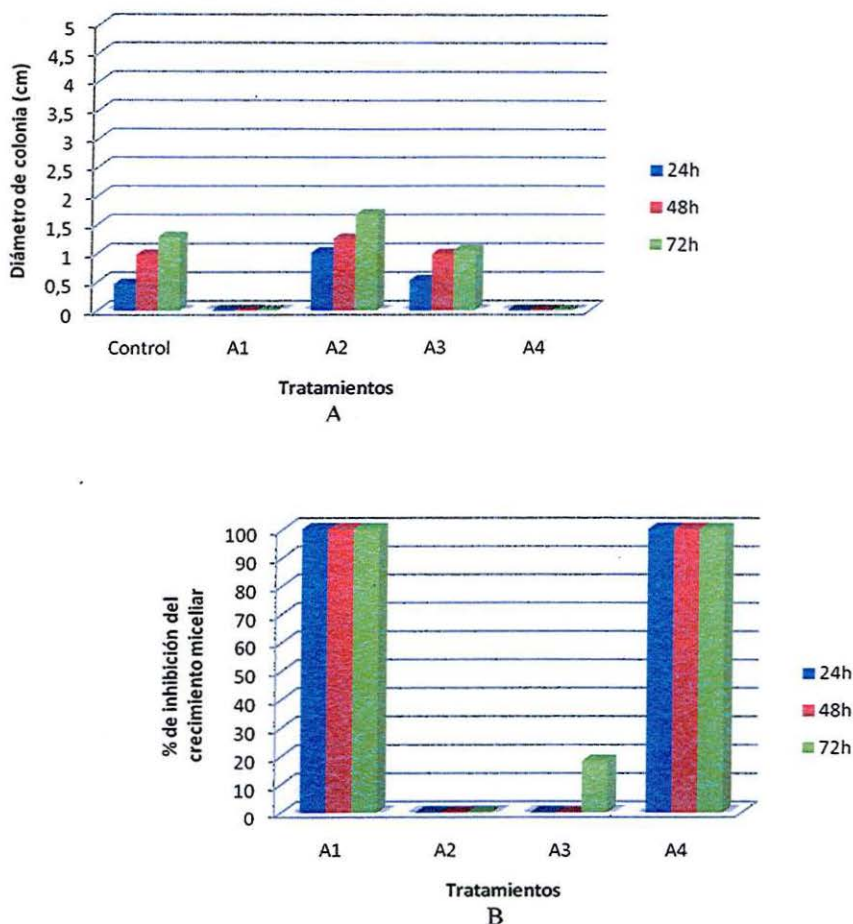


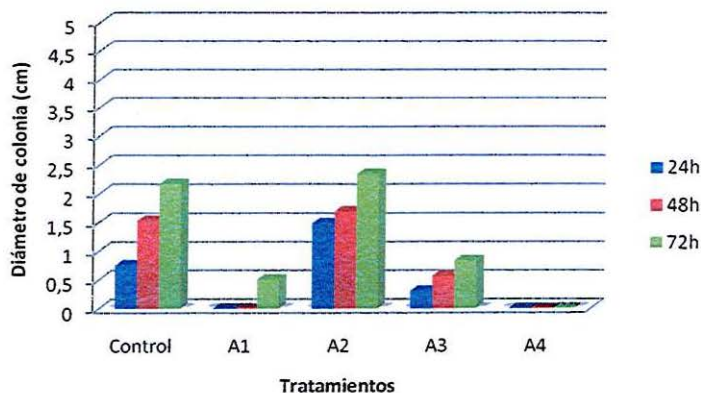
Figura 20. Crecimiento promedio en diámetro de *Aspergillus* sp. (H3) en cada uno de los antagonistas potenciales (A) y porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (B). Control=*Aspergillus* sp. (H3), A1=Tratamiento con antagonista 1, A2=Tratamiento con antagonista 2, A3=Tratamiento con antagonista 3, A4=Tratamiento con antagonista 4.

Como se aprecia en la figura 20, A1 tuvo éxito al inhibir en un 100% el desarrollo de *Aspergillus* sp. a las 72 h de observación. De acuerdo con La Penna *et al.* (2004), aislados de la levadura *Kluveromyces* spp. mostraron actividad antifúngica sobre aislados de

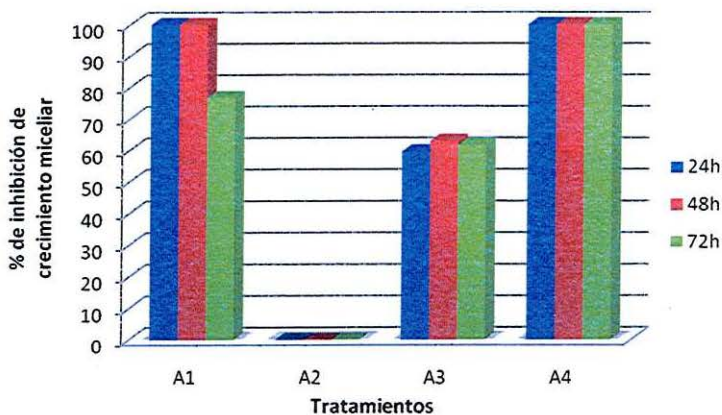
Aspergillus Flavi en maíz, con valor práctico potencial en el control postcosecha del maíz almacenado.

El crecimiento de *Aspergillus* sp. en A2 fue 0.5cm mayor al control en las primeras 24 h y permaneció así hasta el final del tratamiento, lo que significa que A2 no fue capaz de inhibir el crecimiento de *Aspergillus* sp. En el tratamiento con A3 el diámetro de *Aspergillus* sp. fue similar al control dentro de las 48 h y a las 72 h se observó un crecimiento menor al promedio. El antagonista A3 registró un 18.2% de inhibición sobre *Aspergillus* sp. Al igual que en A1, *Aspergillus* sp. no presentó crecimiento en el tratamiento con A4, por lo que el porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo fue de 100%. Okigbo y Ikediugwu (2000) señalan que un filtrado al 100% de un cultivo de *Trichoderma viridae* fue capaz de inhibir completamente la germinación de esporas de *Aspergillus niger* en ñames. Una cepa de *Bacillus subtilis* AF1 fue capaz de suprimir el crecimiento de *Aspergillus niger* de cacahuete en un 90% *in vitro* según Podile y Prakash (1996).

En la figura 21 se observa el crecimiento en diámetro de la colonia del hongo *Penicillium* sp. (H4) en cada uno de los aislados de potenciales antagonistas, así como el porcentaje de inhibición que presentaron estos últimos, sobre el crecimiento del hongo.



A



B

Figura 21. Crecimiento promedio en diámetro de *Penicillium* sp. (H4) en cada uno de los antagonistas potenciales (A) y porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (B). Control=*Penicillium* sp. (H4), A1=Tratamiento con antagonista 1, A2=Tratamiento con antagonista 2, A3=Tratamiento con antagonista 3, A4=Tratamiento con antagonista 4.

A1 muestra capacidad para inhibir en 100% el crecimiento de *Penicillium* sp. (H4) dentro de las primeras 48 h, a las 72 h presenta crecimiento inferior al promedio con un porcentaje de inhibición de 76.6. En relación al control, el crecimiento de *Penicillium* sp. (H4) se

dispara a las 24 h en presencia de A2, manteniéndose a las 48 h e incrementándose a las 72 h, llegando a ser mayor al promedio; estos resultados son similares a los obtenidos por Castillo *et al.* (2004). Lo anterior indica que el crecimiento de *Penicillium* sp. (H4) no pudo ser inhibido por A2. El crecimiento del hongo en el tratamiento con A3 es menor al promedio durante las 72 h y el porcentaje de inhibición fue de 61.6. En el tratamiento con A4 no hubo crecimiento del hongo durante las 72 h de observación. La levadura *Cryptococcus laurentii* ha sido reportada en diversas ocasiones como antagonista contra *Penicillium*. Zhang *et al.* (2004; 2007) reportan que discos de *C. laurentii* colocados sobre cajas de medio sólido ADP con el patógeno *Penicillium digitatum* de cítricos no inhibió su crecimiento, sin embargo en caldo de dextrosa papa sí fue posible su inhibición en la presencia de una suspensión de células de *C. laurentii*. De igual forma Vero *et al.* (2002 y 2003) señalan la capacidad antagonista de *C. laurentii* sobre *Penicillium expansum* de manzana reduciendo la incidencia de la enfermedad en un 80% a 25°C, reportando lo mismo para una cepa de *Candida ciferri* a 25 y 5°C. Estos autores en un estudio del 2003 también encontraron que con la levadura *Aureobasidium pullulans* se lograba una protección del 99% en fruta inoculada con *Penicillium expansum*.

En la figura 22 se observa el crecimiento en diámetro de la colonia del hongo *Penicillium* sp. (H5) en cada uno de los aislados de potenciales antagonistas y el porcentaje de inhibición a las 24, 48 y 72 h.

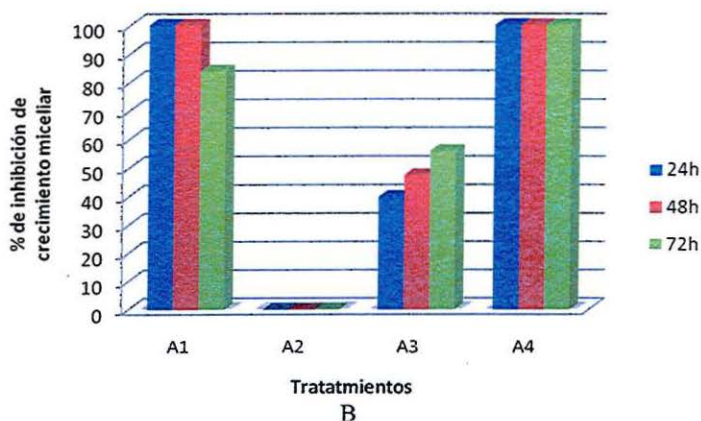
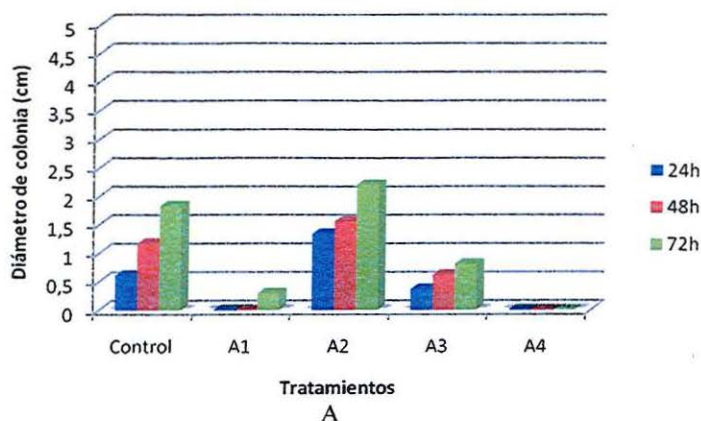


Figura 21. Crecimiento promedio en diámetro de *Penicillium* sp. (H5) en cada uno de los antagonistas potenciales (A) y porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (B). Control=*Penicillium* sp. (H5), A1=Tratamiento con antagonista 1, A2=Tratamiento con antagonista 2, A3=Tratamiento con antagonista 3, A4=Tratamiento con antagonista 4.

Penicillium sp. (H5) no presentó crecimiento en A1 a las 48 h de observación, sin embargo tuvo ligero crecimiento a las 72 h, aún así, se mantuvo por debajo del promedio, lo que representa un 83.9% de inhibición por parte de A1. El crecimiento del hongo en el

tratamiento con A2 se disparó durante las primeras 24 h en comparación al control, manteniéndose a las 48 h e incrementándose por encima del promedio a las 72 h. Resultados similares fueron obtenidos por Castillo *et al.* (2004), en sus ensayos de antagonismo con levaduras nativas de la manzana para controlar a *Penicillium expansum*; el crecimiento de *Penicillium* fue de hasta un centímetro mayor al control a las 72 h de la inoculación en uno de los ensayos.

En el tratamiento con A3, el crecimiento de *Penicillium* sp. (H5) disminuyó 0.55cm en relación al promedio dentro de las 48 h y hasta 1.0cm a las 72 h lo que representa un 47.43% y 55.8% de inhibición respectivamente. En A4 no hubo crecimiento de *Penicillium* sp. (H5) es decir que el porcentaje de inhibición del hongo por el antagonista fue de 100%. Castillo *et al.* (2004) reportan a las levaduras *Candida incommunis*, *Debaryomyces hansenii*, *Torulaspota* spp. con expectativas muy elevadas en el control de *P. expansum* en manzana.

Janisiewicz *et al.* (2001), y Spadaro *et al.* (2002), señalan que cepas de la levadura *Metschnikowia pulcherrima* resultaron ser antagónicas de *Penicillium expansum* de manzana reduciendo el diámetro de de las colonias *in vitro* y la disminución de la pudrición *in vivo*.

VI. CONCLUSIÓN

Continuamente la investigación en tecnología postcosecha busca métodos más efectivos para disminuir las pérdidas y mejorar la calidad del producto.

Actualmente, esta investigación se ha encaminado hacia la evaluación de métodos menos dañinos para la salud humana y el ambiente, uno de ellos es el control biológico con microorganismos antagonistas a las enfermedades postcosecha. Por lo anterior y debido a la importancia del cultivo del mango a nivel nacional y en particular en el estado de Nayarit, se realizó este estudio cuyos resultados nos permiten llegar a las siguientes conclusiones:

Se aislaron cuatro géneros de hongos patógenos del mango c.v. Tommy Atkins: *Alternaria*, *Curvularia*, *Aspergillus* y *Penicillium*, de este último se aislaron dos especies. Los cuatro géneros están reportados como patógenos de incidencia menor en la postcosecha del mango, lo que indica su especificidad para los cultivares de mango Tommy Atkins de la zona de Atonalisco, Nayarit.

De los cuatro aislados de posibles antagonistas obtenidos de la superficie del mango c.v. Tommy Atkins, A4 y A1 son los que tienen mayor potencial antagonista contra los patógenos aislados, seguidos por A3 y A2 en orden descendente.

A4 fue el aislado más efectivo inhibiendo completamente el crecimiento de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. (H4) y (H5), igualmente inhibió el crecimiento de *Alternaria* sp. y *Curvularia* sp. en un 81.35% y 85.9% respectivamente.

A1 inhibió completamente el crecimiento de *Alternaria* sp. y *Aspergillus* sp. y en un 95.4%, 76.6% y 83.9% el crecimiento de *Curvularia* sp., *Penicillium* sp. (H4) y *Penicillium* sp. (H5) respectivamente.

El aislado A3 inhibió el crecimiento de *Alternaria* sp. en un 33.9%, de *Aspergillus* sp. en 18.2%, *Penicillium* sp. (H4) en 61.6% y *Penicillium* sp. (H5) en un 55.8%. Por el contrario estimuló el crecimiento de *Curvularia* sp.

A2 estimuló el crecimiento de *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. (H4) y (H5) e inhibió el crecimiento de *Curvularia* sp. tan sólo en 39.3%.

Por lo anterior, es conveniente proceder a las pruebas *in vivo* utilizando los aislados con mayor potencial antagonista (A4 y A1) y corroborar su efectividad como agentes de biocontrol de las enfermedades postcosecha de mango c. v. Tommy Atkins.

Posteriormente se seguirá la línea de investigación hasta llegar a una posible aplicación comercial de estos antagonistas.

VIII. LITERATURA CITADA

- Arauz, L. F. 2000. Mango Antracnose Economic Impact and Current Options for Integrated Management. *Plant disease* 84: 600-611.
- Arauz, L. F. y González L. M. 1986. Fuentes de Inóculo de algunas Enfermedades de Poscosecha del Mango. *Agronomía Costarricense* 10(1/2): 217-220.
- Arauz, L. F. y Umaña G. 1986. Diagnóstico e Incidencia de las Enfermedades Poscosecha del Mango en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 10(1/2): 89-99.
- Arauz, L. F., Wang, A., Durán, J. A. y Monterrey, M. Causas de Pérdidas Poscosecha de Mango a Nivel Mayorista en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 18(1): 47-51.
- Allende-Molar, R., García R. S. y Carrillo A. 2002. Enfermedades Postcosecha en Mangos Cultivados en Sinaloa. CIAD. Boletín 11(3) <http://www.ciad.mx/boletin/mayjun02/mangos.pdf>.
- Bally, I. S. E. 2006. *Mangifera indica* (mango), ver. 3.1. In: Elevitch, C.R. (ed.). Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. Permanent Agriculture Resources (PAR), Hōlualoa, Hawaii. <<http://www.traditionaltree.org>>.
- Barnett H. L. y Hunter B.B. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burgess Publishing Company. 241 pp.
- Basha, S. y Ulaganathan. K. 2002. Antagonism of *Bacillus* species (strain BC121) towards *Curvularia lunata*. *Current Science* 82(12):1457-1463
- Benbow J. M. y Sugar D. 1999. Fruit Surface Colonization and Biological Control of Postharvest Diseases of Pear by Preharvest Yeast Applications. *Plant Disease* 83: 839-844.

- Calvente V., Benuzzi D. y de-Tosetti M.I.S. 1999. Antagonistic action of siderophores from *Rhodotorula glutinis* upon the postharvest pathogen *Penicillium expansum*. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 43(4): 167-172.
- Carrillo L. 2003. Hongos de los Alimentos y los Forrajes. Universidad de Salta. 128pp.
- Castellano, G. y Fonseca, Y. 2000. Patógenos presentes en órganos aéreos de mango "Haden" y "Tommy Atkins", en el estado Zulia. *FONAIAP Divulga* 67: 8-9
- Castillo, T. J., Fernández, E. E., Álvar, M. R. y Sánchez, V. S. E. 2004. Utilización de levaduras nativas de manzana para el control de la pudrición azul producida por *Penicillium expansum* Link en poscosecha. Premio Nacional en Ciencia y Tecnología de Alimentos (PNCTA).
http://www.pncta.com.mx/pages/pncta_investigaciones_04b.asp
- Chávez, C. X., Vega, P. A., Tapia, V. L. M. y Miranda, M. A. 2001. Mango. Su Manejo y Producción en el Trópico Seco de México. INIFAP-SAGARPA. México. pp. 27-28 y 94-98
- Chen, T. W. y Wu, W. S. 1999. Biological Control of Carrot Black Rot. *Journal of Phytopathology* 147(2):99-104
- Coates, L. M., Davis, R.D., Cooke, A. W., Cannon, K. T., Dean, J. R. y van der Kruyssen A. 1998. Biological Control of Anthracnose in Tropical Fruit. Disease Control and Storage Life Extension in Fruit. Proceedings of an International Workshop held at Chiang Mai, Thailand 22-23 May 1997. Canberra, ACIAR Proceedings No. 81. pp. 101-107
- Costa E., Usall J., Teixidó N., García N. y Viñas I. 2000. Effect of protective agents, rehydration media and inicial cell concentration on viability of *Pantoea*

agglomerans strain CPA-2 subjected to freeze-drying. Journal of Applied Microbiology 89: 793-800

- Crane J. H. y Campbell C. W. 1991. El Mango en Florida. Departamento de Ciencias Hortícolas, Servicio de Extensión Cooperativa de la Florida, Instituto de Alimentos y Ciencias Agrícolas, Universidad de la Florida. (UF/IUFAS). <http://edis.ifas.ufl.edu>
- da Silva, de A. G. F., Peixoto, do N. C., de Assis, S. M. P., Mariano de L. R. R., y Padovan, I. P. 1998. Potencial of Fluorescent *Pseudomonas* spp. for Biological Control of *Alternaria ricino* on Castorbean. Brazilian Archives of Biology and Technology 41(1): 91-102
- De Jager, E.S. 1999. Microbial ecology of the mango flower, fruit and leaf surfaces. MSc Thesis. University of Pretoria, South Africa.
- El-Samahy, S. K., Youssef, B. M., Askar, A.A., Swailam, H. M. M. 2000. Microbiological and Chemical Properties of Irradiated Mango. Journal of Food Safety 20 (3), 139-156.
- El-Tarabily K. A., Sokiman M. H., Nassar A. H., Al-Hassani H. A., Sivasithamparam K., Mckenna F. y Hardy G. E. St. J. 2000. Biological control of *Sclerotinia minor* using a chitinolytic bacterium and actinomycetes. Plant Pathology 49: 573-583.
- Everett K. R., Vanneste J. L., Hallet I. C., y Walter M. 2005. Ecological Alternatives for Disease Management of Fruit Rot Pathogens. New Zeland Plant Protection 58: 55-61

- Fan, Q. y Tian, S. P. 2001. Postharvest biological control of grey mold and blue mold on apple by *Cryptococcus albidus* (Saito) Skinker. *Postharvest Biology and Technology* 21: 341-350.
- FAO. 2005. COMITÉ DE PROBLEMAS DE PRODUCTOS BÁSICOS. <http://www.fao.org/docrep/meeting/009/j5778s.htm>
- FAO. 2005. <http://faostat.fao.org>
- Fernández-Larrea, V. O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 62: 96-100
- Govender, V. 2005. Evaluation of Biological Control Systems for Control of Mango Post-harvest Diseases. Faculty of Natural and Agricultural Sciences. University of Pretoria, South Africa. pp.1-19.
- Guerrero, P. V. M. 2004. Algunas Notas Sobre el Control Biológico de Enfermedades con Microorganismos. CIAD. Chihuahua. Boletín Noviembre-Diciembre 2004. <http://www.ciad.mx/boletin/novdic04/algunasnotas.pdf>.
- Gutiérrez, A. J. G., Gutiérrez, O., Nieto, A. D., Téliz, O. D., Zavaleta, M. E., y Delgadillo, S. F. 2004. Manejo Intergrado de la Antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. Y Sacc.] el Mango (*Mangifera indica* L.) durante la Postcosecha. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22(1): 395-402
- Gutiérrez, A. J. G., Gutiérrez, O., Nieto, A. D., Téliz, O. D., Zavaleta, M. E., Delgadillo, S. F. y Vaquera, H. H. 2003. Evaluación *in vitro* de Agentes Biológicos y Físicos para el Control de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. Y Sacc. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21(1): 199-206

- Guzmán E. C., 2000. Guía para la prevención y control de antracnosis del mango en Sinaloa. INIFAP-SAGAR. Folleto para productores No. 12. pp. 17-18.
- He, D., Zheng, X., Yin, Y., Sun, P. y Zhang, H. 2003. Yeast application for controlling apple postharvest diseases associated with *Penicillium expansum*. Bot. Bull. Acad. Sin. 44:200-216
- INFOAGRO. 2006. http://www.infoagro.com/frutas_tropicales/mango.htm. 2006.
- INIFAP, 2004. Mango: Reconversión para su Desarrollo. Fundación Produce Sonora, A. C. Agenda de Agronegocios. pp.5 - 6.
- Janisiewicz, W. J. y Bors, B. 1995. Development of a Microbial Community of Bacterial and Yeast Antagonist To Control Wound-Invading Postharvest Pathogens of Fruits. Applied and Environmental Microbiology 61(9): 3261-3267.
- Janisiewicz, W. J. y Korsten, L. 2002. Biological Control of Postharvest Diseases of Fruits. Annual Reviews. Phytopatology 40:411-41
- Janisiewicz, W. J., Tworowski, T. J. y Kurtzman C. P. 2001. Biocontrol Potencial of *Metchnikowia pulcherrima* Strains Against Blue Mold of Apple. Phytopathology 91(11): 1098-1108.
- Janisiewicz, W. J., Tworowski, T. J. y Sharer, C. 2000. Characterizing the Mechanism of Biological Control of Postharvest Diseases on Fruits with a Simple Method to Study Competition for Nutrients. Phytopathology 90:1196-1200.
- Joyce, D. C., Shorter, A. J., Macnish, A. J., Akkaravessapong, P. y Gosbee M.J. 1998. Postharvest Water Loss, Postharvest Calcium Treatment and "Kensington" Mango Fruit Quality. Disease Control and Storage Life Extension in Fruit. Proceedings of an International Workshop held at Chiang Mai, Thailand 22-23 May 1997. Canberra, ACIAR Proceedings 81: 40-48

- Kader, A. A. 2002. Recomendaciones para Mantener la Calidad Postcosecha. Postharvest Technology Research Information Center. <http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Espanol/Mango.shtml>.
- Koomen, I. y Jeffries, P. 1993. Effects of antagonistic microorganisms on the post-harvest development of *Colletotichum gloeosporioides* on mango. *Plant Pathology* 42(2): 230-237.
- Korsten L. 2006. Advances in control of postharvest disease in tropical fresh produce. *Int. J. of Postharvest Technology and Innovation* 1(1): 48-61.
- Kulakiotu, E. K., Thanassouloupoulos, C. C. y Sfakiotakis E. M. 2004. Postharvest biological control of *Botrytis cinerea* on kiwifruit by volatiles of 'Isabella' grapes. *Phytopathology* 94:1280-1285.
- Kumpoun, W., Uthaibutra, J., Wongsheree, T., Sornsrivichai, J., Supyen, D. y Sardsud, V. 1998. Effects of Carbon Dioxide Pulsing During the Postharvest Period on 'Nam Doc Mi' Mango Fruit. *Mango Fruit Quality. Disease Control and Storage Life Extension in Fruit. Proceedings of an International Workshop held at Chiang Mai, Thailand 22-23 May 1997. Canberra, ACIAR Proceedings.* 81:49-54
- La Penna, M., Nesci, A. y Etcheverry, M. 2004. *In vitro* studies on the potencial for biological control on *Aspergillus section Flavi* by *Kluyveromyces* spp. *Letters in Applied Microbiology* 38: 257-264
- Ledger, S. 2004. Control of postharvest diseases of mango. Department of Primary Industries and Fisheries. The State of Queensland, Australia. <http://www2.dpi.qld.gov.au/horticulture/5306.html>.

- Leibinger, W., Breuker, B., Hahn, M. y Medien, K. 1997. Control of postharvest pathogens and colonization of the apple surface by antagonistic microorganisms in the field. *Phytopathology* 87:1103-1110.
- Lele, V.C., Singh, J., Rai, S. N. y Kandhari, J. 1981. Occurrence of a New Blight Disease of Mango caused by *Curvularia*. *Current Science* 50(10): 464-465
- Lonsdale, J.H. 1993. Strategies for the control of postharvest diseases of mango. *South African Mango Growers' Association Research Journal* 13: 109-116.
- Lounds, S. A. J. 2003. Influence of Thermal Postharvest Stress on Mango (*Mangifera indica*) Polyphenolics During Ripening. University of Florida. pp. 6-13.
- Mari, M., Bertolini, P. y Pratella, G. C. 2003. A REVIEW Non-conventional methods for the control of postharvest pear diseases. *Journal of Applied Microbiology* 94:761-766.
- Mari, M. y Guizzardi, M. 1998. The Postharvest Phase: Emerging Technologies for the Control of Fungal Diseases. *Phytoparasitica* 26(1):59-66
- Meiburg, G. F., Hofman, P. J., Smith, L. G., Cooke, A. W. y Barker, J. A. 1998. Quality of Kensington Mangoes after Short Duration Exposure to High Carbon Dioxide Concentrations. *Mango Fruit Quality. Disease Control and Storage Life Extension in Fruit. Proceedings of an International Workshop held at Chiang Mai, Thailand 22-23 May 1997. Canberra, ACIAR Proceedings* 81: 55-60.
- Mena, N. G. 2004. Manejo Postcosecha del Mango y sus Problemas Fitosanitarios. *Revista Chapingo: Serie Ingeniería Agropecuaria* 7(1-2):53-56

- Michereff, S. J., Silveira, N. S. S., Reis A. y Mariano, R. L. R. 1994. Epiphytic bacteria antagonistic to *Curvularia* leaf spot of yam. *Microbial Ecology* 28(1):101-110
- Mondino, P. 2003. Control biológico de enfermedades de plantas. *Producción Orgánica en Uruguay*. Montevideo. pp.199-206
- Muy, R. D., Siller, C. J., Díaz, P. J. y Valdez, T. B. 2004. Las Condiciones de Almacenamiento y el Encerado Afectan el Estado Hídrico y la Calidad de Mango. *Revista Fitotecnia Mexicana* 27(2): 201-209.
- Okigbo, R. N. y Ikediugwu, F. E. O. 2000. Studies on Biological Control of Postharvest Rot in Yams (*Dioscorea* spp.) using *Trichoderma viridae*. *J. Phytopathology* 148: 351-355.
- Páez, R. A. R. 1997. Respuesta de cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) a la antracnosis en la Costa Atlántica colombiana. *Revista Corpoica* 2(1): 45-53
- Pal, K. K. y McSpaden, G. B. 2006. Biological Control of Plant Pathogens. The Plant Health Instructor. doi:10.1094/PHI-A-2006-1117-02
- Palejwala, V.A., Sattur, A.P. y Modi, V.V. 1989. Strategies for the Control of Post-Harvest Spoilage of Mangoes by *Penicillium Cyclopium*. *Acta Hort.* 231:688-696
- Panhwar, F. 2005. Post-harvest technology of mango fruits, its development, physiology, pathology and marketing in Pakistan. Dogitalverla GmbH Germany. Edition ChemLin. pp. 17-19. <http://www.ChemLin.com>
- Patiño, V. M., Jiménez, B., Balderas, K., Ortiz, M., Allende, R., Carrillo, A. y Galindo, E. 2005. Pilot-scale production and liquid formulation of *Rodotorula minuta*, a potencial biocontrol agent of mango anthracnose. *Journal of Applied Microbiology* 99:540-550

- Pernezny, K., y Simone, G. W. 2000. Common Names of Plant Diseases: Diseases of Mango (*Mangifera indica* L.). American Phytopathological Society (APS). <http://www.apsnet.org/online/common/names/mango.asp>.
- Perelló, A., Simón, M. R. y Arambarri, A. M. 2002. Interactions between Foliar Pathogens and the Saprophytic Microflora of the Wheat (*Triticum aestivum* L.) Phylloplane. *Journal of Phytopathology* 150(4-5): 232-243
- Petit, J. D., Bringas, T. E., Mercado, R. J., García, R. J., González, A. G., Troncoso, R. R. y Báez, S. R. 2004. Efecto del calcio y cera comestible en la calidad de mangos “kent” durante el almacenamiento. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 21(1):351-358
- Ploetz, R.C., Benschler, D., Vázquez, A., Colls, A., Nagel, J. y Schaffner, B. 1997. Mango Decline: Research in Florida on an Apparently Wide-Spread Disease Complex. *Acta Hort.* 455:547-557
- Podile, A. R. y Prakash, A. P. 1996. Lysis and biological control of *Aspergillus niger* by *Bacillus subtilis* AF-1. *Canadian Journal of Microbiology* 42(6):533-538
- Pragne, R. K. y DeLong J. 2006. Controlled-atmosphere related disorders of fruits and vegetables. *Stewart Postharvest Review*, 5:7. doi: 10.2212/spr.2006.5.7
- Prusky, D. 1993. Effect of Relative Humidity During Mango Growth on the Incidence of Quiescent Infections of *Alternaria alternata*. *Plant Disease* 77(3):249-252
- Prusky, D. y Keen, N. T. 1993. Involvement of Preformed Antifungal Compounds in the Resistance of Subtropical Fruits to Fungal Decay. *Plant Disease* 77(2):114-119

- Prusky, D., Ohr, H. D., Grech, N., Campbell, S., Kobiler, I., Zauberman, G. y Fuchs, Y. 1995. Evaluation of antioxidant butylated hydroxyanisole and fungicide prochloratz for control of post-harvest anthracnose of avocado fruit during storage. *Plant Disease* 79:797-800.
- Prusky, D., Shalom, Y., Kobiler, I., Akerman, M. y Fuchs, Y. 2004. Postharvest Fungicide Treatments in Mango Fruits According to the Level of Quiescent Infection of Pathogens at Harvest. *Acta Horticulturae (ISHS)* 645:605-615
- Rivera, D. M. 2006. La Biotecnología en Plantas y Aspectos Biotecnológicos del Mango. *Interciencia* 31(2): 95-100
- Rivera, V. L., Lugo, N. Y., McGovern, R. J., Seijo T. y Davis, M. J. 2006. Occurrence and Distribution of *Colletotrichum* spp. on Mango (*Mangifera indica* L.) in Puerto Rico and Florida, USA. *Plant Pathology Journal* 5 (2): 191-198
- Rodríguez, C. M., Guerrero, B. M. y Sandoval, R. 2002. Guía Técnica: Cultivo de Mango. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA). El Salvador. pp.8-10.
- Sadfi, N., Chérif, M., Hajlaoui, M. R. y Boudabbous, A. 2002. Biological Control of the Potato Tubers Dry Rot Caused by *Fusarium roseum* var. *sambucinum* under Greenhouse, Field and Storage Conditions using *Bacillus* spp. Isolates. *Phytopathology* 150:640-648
- SAGARPA. 2003.
http://www.sagarpa.gob.mx/dlg/chiapas/ddrs/ddr_Tonala/Agricola_mango.htm
- SAGARPA. 2005. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola año 2005.
http://www.siap.gob.mx/aagricola_siap/icultivo/index.jsp
- SAGARPA. 2005. <http://www.nay.sagarpa.gob.mx/agricultura/exportmango.htm>

- Sangchote, S. 1998. Effect of Fruit Bagging, Fruit Position, Cultivar, and Postharvest Treatment on Postharvest Diseases of Mangoes. Disease Control and Storage Life Extension in Fruit. Proceedings of an International Workshop held at Chiang Mai, Thailand 22-23 May 1997. Canberra, ACIAR Proceedings 81: 63-66
- Singh, Z. Janes, J. y Tan, S. C. 2000. Effects of different surfactants on calcium uptake and its effects on fruit ripening, quality and postharvest storage of mango under modified atmosphere packaging. *Acta Horticulturae* 509:413-418.
- Spadaro, D. y Gullino, M.L. 2004. State of art and future perspectives of biological control of postharvest fruit diseases. *International Journal of Food Microbiology* 91(2):185-194.
- Spadaro, D., Voia, R., Piano, S. y Gullino, M. L. 2002. Mechanisms of action and efficacy of four isolates of the yeast *Metschnikowia pulcherrima* active against postharvest pathogens. *Postharvest Biology and Technology* 24(3):123-134
- Terry, L. A. y Joyce, D. C. 2003. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. *Postharvest Biology and Technology* 32 (1): 1-13
- Umaña, R. G. 1996. Control Biológico de Enfermedades Postcosecha de Frutas. X Congreso Nacional Agronómico/III Congreso de Fitopatología 1996. Costa Rica. pp. 63-67
- US Environmental Protection Agency (EPA). 2007. http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/product_lists/index.htm
- US Environmental Protection Agency (EPA). 2002. Reregistration Eligibility Decision (RED) Benomyl. http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/benomyl_red.pdf

- Vázquez, V. V. y Perez, B. M. H. 2006. Dosis y época de aplicación de ácido giberélico en la floración y cosecha del mango “ataulfo”. *Revista de Fitotecnia* 29(3):197-202
- Vero, S., Garat, F. y Aurrecoechea, I. 2003. Control biológico de patógenos en postcosecha de manzanas. *Producción Orgánica en Uruguay*. Montevideo. pp.207-211.
- Vero, S., Garat, F., Aurrecoechea, I., Garmendia, G., Silvera, E., González, P. y Mondino, P. 2004a. Control Biológico de Patógenos en Postcosecha de Frutas. *Desarrollo y Perspectivas. I Seminario Internacional y II Nacional de Control Biológico*. Quito Ecuador. pp.96-101.
- Vero, S., Garmendia, G., Garat, F., Alaniz, S., Aurrecoechea, I., Wozniak, A. y Silvera, E. 2004b. Alternativas al tratamiento convencional en postcosecha de citrus. *Memorias X Congreso Nacional de Hortifruticultura*. Montevideo Uruguay INIA-SUHF. <http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/publica/conferencia15.pdf>.
- Vero, M. S. y Mondino P. 1999. Control biológico postcosecha en Uruguay. *Horticultura Internacional*. Año 7, nº 26. <http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/MIE/CBiologico1.htm>.
- Vero, M. S. y Mondino, P. 2002. Control Biológico de enfermedades de plantas. *Perfil Ambiental de Uruguay*. Editorial Nordan-Comunidad Uruguay. pp.81-92.
- Vero, S., Mondino, P., Bargueño, J., Soubes, M. y Wisniewski, M. 2002. Characterization of biocontrol activity of two yeast strains from Uruguay against blue mold of apple. *Postharvest Biology and Technology* 26:91-98.

- Viñas, I., Teixidó, N., Abadias, M., Torres, R. y Usall, J. 2005. Situación actual del control biológico en la postcosecha de frutas. Centro UdL-IRTA. <http://www.agroinformacion.com/leer-articulo.aspx?not=415>.
- Wang, C. Y. 2006 Biochemical basis of the effects of modified and controlled atmospheres. *Stewart Postharvest Review*, 5:8. doi: 10.2212/spr.2006.5.8.
- Wilson, C. L. y Wisniewski, M. E. 1989. Biological Control of postharvest diseases of fruits and vegetables: an emerging technology. *Annual Review of Phytopathology* 27: 425-441.
- Yahia, E. M. 2006. Modified and controlled atmospheres for tropical fruits. *Stewart Postharvest Review*, 5:6. doi: 10.2212/spr.2006.5.6
- Yakoby, N., Beno-Moualem, D., Kobiler, I. y Prusky, D. 2002. The analysis of fruit protection mechanisms provided by reduced-pathogenicity mutants of *Colletotrichum gloeosporioides* obtained by restriction enzyme mediated integration. *Phytopathology* 92:1196-1201.
- Zeng, K., Cao, J. y Jiang, W. 2006. Enhancing disease resistance in harvested mango (*Mangifera indica* L. cv. Matisu) fruit by salicylic acid. *Journal of Science of Food and Agriculture* 86(5): 694-698.
- Zhang, H., Fu, C., Zheng, X., He, D. y Shan L. 2004. Effects of *Cryptococcus laurentii* (Kufferath) Skinner in combination with sodium bicarbonate on biocontrol of postharvest green mold decay of citrus. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 45:159-164.
- Zhang, H., Zheng, X. y Yu, T. 2007. Biological control of postharvest diseases of peach with *Cryptococcus laurentii*. *Food Control* 18: 287- 291.

VIII. APÉNDICE

Figura A-1 Diagrama general de la metodología

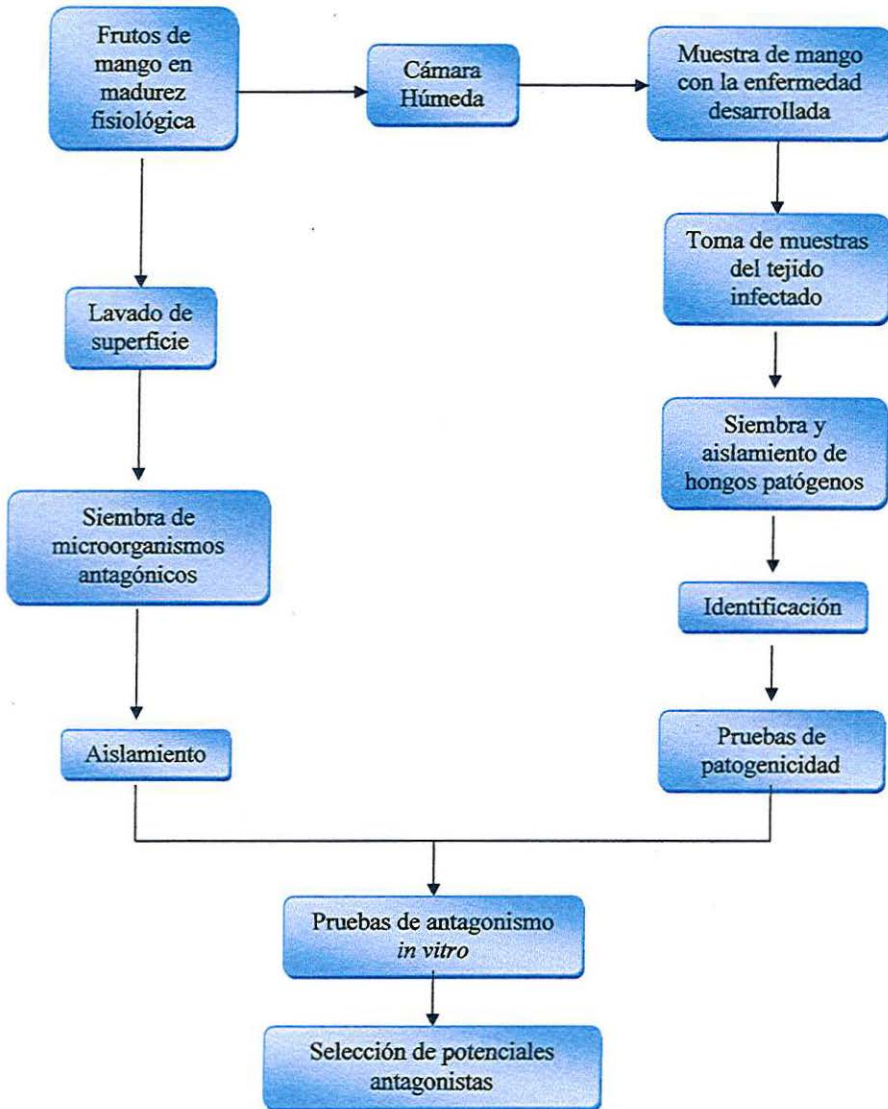


Figura A-2 Aspectos más comunes de las diversas colonias microbianas aisladas sobre medio sólido.

Forma	Borde	Elevación	Superficie
Puntiforme	Entero	Plana	Lisa o rugosa
Circular	Ondulado	Elevada	Mate o brillante
Rizoide	Lobulado	Convexa	Seca o cremosa
Irregular		Crateriforme	Invasiva o superficial
Filamentosa	Filamentoso	Acuminada	

TESIS/CUCBA
TESIS/CUCBA