



Revista Mexicana de Fitopatología

ISSN: 0185-3309

mrlegarreta@prodigy.net.mx

Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C.

México

Carrillo Fasio, José Armando; García Estrada, Raymundo Saúl; Muy Rangel, María Dolores; Sañudo Barajas, Adriana; Márquez Zequera, Isidro; Allende Molar, Raúl; de la Garza Ruiz, Zagidh; Patiño Vera, Martín; Galindo Fentanes, Enrique

Control biológico de antracnosis [Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Penz. y Sacc.] y su efecto en la calidad poscosecha del mango (*Mangifera indica L.*) en Sinaloa, México

Revista Mexicana de Fitopatología, vol. 23, núm. 1, enero-junio, 2005, pp. 24-32

Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C.

Texcoco, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61223104>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en [redalyc.org](http://redalyc.org)

 redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal  
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

## Control Biológico de Antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc.] y su Efecto en la Calidad Poscosecha del Mango (*Mangifera indica* L.) en Sinaloa, México

**José Armando Carrillo-Fasio, Raymundo Saúl García-Estrada, María Dolores Muy-Rangel, Adriana Sañudo-Barajas, Isidro Márquez-Zequera, Raúl Allende-Molar,** Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Apdo. Postal 32A, Unidad Culiacán, km 5.5 Carr. Culiacán-El Dorado, Culiacán, Sinaloa, México CP 80129; **Zagidh de la Garza-Ruiz**, Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agronomía, Apdo. Postal 726, km 17.5 Carr. Culiacán-Mazatlán, Culiacán, Sinaloa CP 80000; **Martín Patiño-Vera y Enrique Galindo-Fentanes**, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biotecnología, Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México CP 62210. Correspondencia: acarrillo@victoria.ciad.mx

(Recibido: Septiembre 07, 2004 Aceptado: Octubre 21, 2004)

Carrillo-Fasio, J.A., García-Estrada, R.S., Muy-Rangel, M.D., Sañudo-Barajas, A., Márquez-Zequera, I., Allende-Molar, R., de la Garza-Ruiz, Z., Patiño-Vera, M. y Galindo-Fentanes, E. 2005. Control biológico de antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc.] y su efecto en la calidad poscosecha del mango (*Mangifera indica* L.) en Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología 23:24-32.

**Resumen.** Los objetivos del presente estudio fueron evaluar la efectividad de *Bacillus subtilis*, *Rhodotorula minuta* y su combinación en aplicaciones en precosecha, para el control en poscosecha de antracnosis en mango (cultivar Kent) y su efecto en la calidad poscosecha de los frutos. Se comparó el efecto de los biofungicidas con el desarrollo de la enfermedad en frutos tratados con un producto químico y un testigo absoluto. Se evaluaron cinco tratamientos: *R. minuta*  $10^8$  ufc/mL; *B. subtilis*  $10^6$  ufc/mL; *R. minuta*  $10^6$  ufc/mL + *B. subtilis*  $10^4$  ufc/mL; benomyl 0.5 g/L; y testigo absoluto. Se hicieron cinco aplicaciones previas a la cosecha del mango. Los frutos cosechados se almacenaron hasta por 15 días a 20°C y 85% de HR. Después de 15 días de almacenamiento, los agentes de control biológico mostraron mayor efectividad en el control de antracnosis en comparación con el control químico. Se encontró diferencia significativa entre la aplicación individual y la combinada de los microorganismos antagonistas. De acuerdo con la prueba de Friedman, los frutos del testigo absoluto mostraron una severidad (en rangos) de 60.5 a los 15 días de almacenamiento, mientras que el fungicida químico presentó una severidad de 41.7. Con la mezcla de *R. minuta* y *B. subtilis* se logró la mayor reducción de la enfermedad (severidad de 8.0), lo que resulta prometedor para su posible uso comercial. La aplicación de los tratamientos biológicos no afectó negativamente la calidad

poscosecha de los frutos, observándose un desarrollo normal en los sólidos solubles totales, acidez titulable y evolución de la firmeza.

Palabras clave adicionales: Antagonistas, *Bacillus subtilis*, *Rhodotorula minuta*.

**Abstract.** The objectives of this work were to evaluate the effectiveness of preharvest application of *Bacillus subtilis*, *Rhodotorula minuta* and their combination, for postharvest control of anthracnose in mango (cultivar Kent) and its effect on the postharvest quality of mango fruit. The effect of the biofungicides was compared with disease development on fruit treated with a chemical product and with untreated fruit. Five treatments were evaluated: *R. minuta*  $10^8$  ufc/mL; *B. subtilis*  $10^6$  ufc/mL; *R. minuta*  $10^6$  ufc/mL + *B. subtilis*  $10^4$  ufc/mL; benomyl 0.5 g/L; and untreated fruits. Five applications were made previous to mango harvest. Harvested fruits were stored up to 15 days at 20°C and 85% RH. After 15 days of storage, the biocontrol agents showed higher effectiveness in anthracnose control as compared to the chemical treatment. Significant difference was found between individual and combined application of the antagonistic microorganisms. After 15 days of storage and according to the Friedman test, untreated fruit showed an anthracnose severity rank of 60.5, while the chemical treatment was 41.7. The mixture *R. minuta* and *B. subtilis* provided the greatest disease reduction (severity 8.0) being a promising treatment for a possible commercial use. The postharvest fruit quality was not affected negatively by the application of the biological treatments; a normal development of total soluble solids, titratable acidity, and firmness evolution was observed.

Additional keywords: Antagonists, *Bacillus subtilis*, *Rhodotorula minuta*.

En el ámbito mundial, la producción de mango (*Mangifera indica* L.) durante el año 2002 fue de 26 millones de ton. India ocupó el primer lugar con el 44%, seguido de China (13%), Tailandia (7%) y México (5%). Sin embargo, México fue el principal exportador en el mundo con un 30% del total de las exportaciones, lo que representó el 42.4% del volumen total producido (incluye los cultivares Kent, Haden, Keitt y Tomy Atkins). En el 2003, la producción nacional de mango fue de 1,644,160 ton en una superficie de 170,000 ha. Sinaloa ocupó el primer lugar en cuanto a volumen de exportación (SAGARPA, 2003). En el estado de Sinaloa se cultivan alrededor de 22,000 ha de mango, de las cuales 15,000 ha se localizan en los municipios de Escuinapa, El Rosario, Mazatlán y Concordia. Los cultivares que se producen en esa región son: Haden, Tommy Atkins, Keitt y Kent. Entre ellos, los frutos del cultivar Kent presentan características apreciadas por el mercado estadounidense, tales como atractivo sabor y tamaño y su alto contenido nutrimental. No obstante que agronómicamente esta variedad es altamente productiva, también posee una elevada susceptibilidad al desarrollo de enfermedades poscosecha, principalmente a la antracnosis, ocasionada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. (Cano, 1999). La

enfermedad se manifiesta en forma severa en las hojas tiernas de los árboles y puede destruir las flores y frutos tiernos durante períodos húmedos (Galán, 1999). La infección de frutos puede causar su caída prematura; sin embargo, las pérdidas más importantes se presentan en la fase de maduración de los frutos (Arauz, 2000), en los cuales se desarrollan lesiones irregulares de color café oscuro a negro (Fig. 1). Las lesiones se pueden formar en cualquier parte del fruto; inicialmente son superficiales y sólo penetran hasta la pulpa cuando las lesiones se encuentran cubriendo gran parte de la superficie del fruto. Los frutos tiernos infectados mantienen la enfermedad en un estado de latencia. Los daños de antracnosis son más visibles cuando los frutos inician su madurez fisiológica. La enfermedad afecta la calidad y reduce sus posibilidades de comercialización (Ploetz *et al.*, 1994; Ramírez, 1991). Aún cuando no existen datos estadísticos precisos, se estima que las pérdidas poscosecha por antracnosis en mango fluctúan entre 30 y 60% del total de la producción (Allende *et al.*, 2001). Entre las alternativas que han mostrado potencial en el control de enfermedades poscosecha, se encuentra el uso de aire caliente (Coates *et al.*, 1993; Nishijima *et al.*, 1992), tratamientos hidrotérmicos (Prusky *et al.*, 1999; Smoot y Seagall, 1963), atmósferas modificadas (Karabulut y Baykal, 2004), luz ultravioleta (Stevens *et al.*, 1997), extractos de plantas (Bautista-Baños *et al.*, 2003) y microorganismos como agentes de control

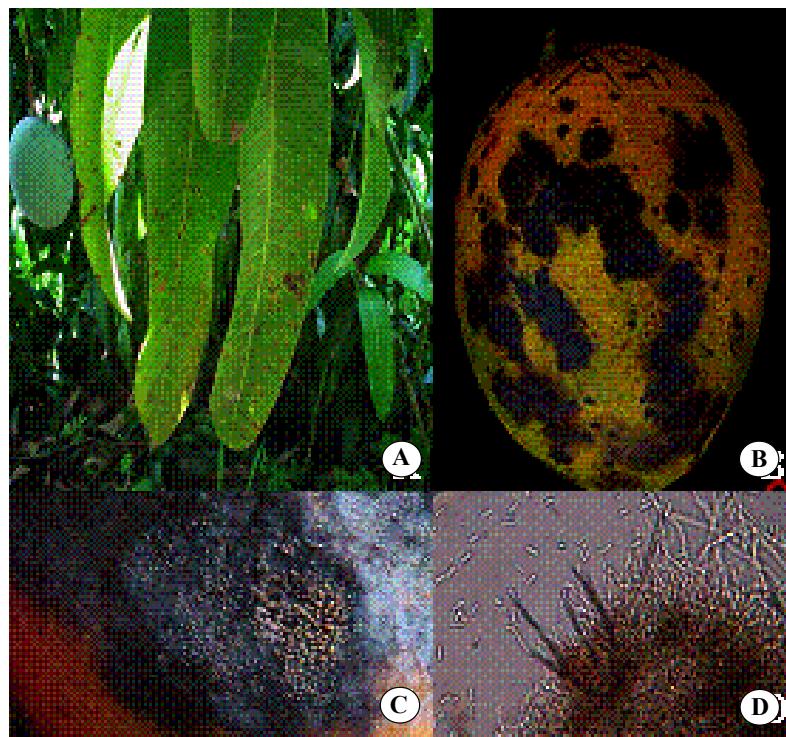


Fig. 1. Daños inducidos por *Colletotrichum gloeosporioides*, en diferentes órganos de la planta de mango (*Mangifera indica*). A) Follaje; B) fruto enfermo. Patógeno: C) acérculo con presencia de setas y esporas; D) conidios típicos.

biológico (Janisiewicz y Korsten, 2002; Spadaro y Gullino, 2004; Wilson y Wisniewsky, 1989; Woodhead *et al.*, 1990). Actualmente, el manejo de esta enfermedad del mango se basa en la aspersión programada de fungicidas durante la fase productiva. Las aspersiones se iniciaron en la floración, cuando las panículas tienen varios centímetros de largo, poco antes de la apertura floral y se continúan hasta que los frutos inician el abultamiento de los hombros. En total, se hacen entre 8 y 12 aplicaciones (Paéz, 2004). Sin embargo, cada vez son mayores las restricciones de orden higiénico-sanitarias sobre el uso de compuestos químicos, debido a sus efectos tóxicos y de residuos (que pueden impactar en la salud humana), contaminación del medio ambiente y la inducción del desarrollo de patógenos resistentes (Astúa *et al.*, 1994). Este panorama hace necesaria la búsqueda de alternativas biológicas para combatir los problemas fitopatológicos en los cultivos hortícolas. El control biológico se puede definir como la reducción del inóculo o de la actividad productora de enfermedad del patógeno, debido a uno o más organismos, en una planta hospedera (Baker y Cook, 1974). El control biológico de antracnosis ha sido reportado en manzanas [*Malus sylvestris* (L.) Mill. var. *domestica* (Borkh.) Mansf.] (Chand-Goyal y Spotts, 1996; Janiciewicz *et al.*, 2003), papaya (*Carica papaya* L.) (Gamagae *et al.*, 2004), aguacate (*Persea americana* Mill.) (Korsten *et al.*, 1995) y mango (De Villiers y Korsten, 1996). La mayor parte de los experimentos de control biológico en enfermedades poscosecha se han realizado aplicando los antagonistas en condiciones controladas de humedad y temperatura. Pocos trabajos se han realizado con aplicación de microorganismos en condiciones de campo, en donde la efectividad de los antagonistas es afectada por otros factores como cambios de temperatura, humedad, luz ultravioleta e interacción con otros microorganismos. Paradójicamente, uno de los mayores obstáculos para el desarrollo del control biológico en poscosecha es su relativa inhabilidad para controlar infecciones establecidas en precosecha, como son las infecciones latentes (Spadaro y Gullino, 2004). La aplicación en campo de los agentes de control biológico puede propiciar la colonización de la superficie del fruto y prevenir el establecimiento de infecciones latentes en los frutos de la huerta productora (Ippolito y Nigro, 2000). El control biológico de enfermedades de frutales en México ha sido un tema de estudio en frutos como fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.), manzana y mango (Allende *et al.*, 2000; Basurto y Vázquez, 2000; Mendoza-Zamora y Hernández-Mendieta, 2002; Muñoz *et al.*, 2000; Trevizo-Enríquez *et al.*, 2002). En particular, en antracnosis del mango, Juárez (2001) reportó una extensiva búsqueda de microorganismos antagonistas al agente causal de esta enfermedad, donde se aislaron 120 cepas (5 levaduras y 115 bacterias) de la filosfera de mango, de las cuales dos cepas (una bacteria y una levadura) fueron las que presentaron mayor actividad antagonista en ensayos *in vitro* contra *C. gloeosporioides*; dichas cepas fueron caracterizadas con mayor detalle (Patiño *et al.*, 2001)

microscópica y bioquímicamente, identificándose a la bacteria *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn y la levadura *Rhodotorula minuta* (Saito) Harrison. La caracterización fue confirmada con técnicas de PCR, analizando RNA-ribosomal. En bioensayos realizados *in vitro*, la levadura *R. minuta* presentó principalmente el fenómeno de antagonismo por competencia y la bacteria *B. subtilis* por antibiosis (Allende *et al.*, 2001; Patiño *et al.*, 2001). De estas dos cepas antagonistas seleccionadas, se probaron formulaciones líquidas a una concentración de  $3 \times 10^8$  UFC/mL, asperjándolas cada 15 días durante los dos últimos meses, previos a la cosecha de mango cultivar Keitt. Las formulaciones de *R. minuta* o *B. subtilis* controlaron la antracnosis en niveles que fueron mejores o iguales a los alcanzados con la aplicación del fungicida químico comercial Mancozeb (Allende *et al.*, 2001). También para los dos microorganismos finalmente seleccionados se probaron medios de cultivo de interés industrial usando materias primas de bajo costo y de disponibilidad comercial (Patiño-Vera *et al.*, 2002). Despues de haber seleccionado el medio de cultivo, se procedió a escalar el proceso del nivel matraz hasta un fermentador de 100 L, utilizando el criterio de potencia volumétrica constante. Las células viables obtenidas en el fermentador piloto superaron a los valores que se habían obtenido en los matraces agitados y además, se lograron en un tiempo menor (Patiño-Vera *et al.*, 2002). Considerando que el control biológico de enfermedades en plantas en general, y de frutas poscosecha en particular, es un nicho de mercado con un relativamente pequeño margen de utilidad (Janisiewicz y Korsten, 2002), es recomendable investigar alternativas para la reducción de las dosis de microorganismos antagonistas requeridas. Una alternativa práctica es desarrollar tratamientos basados en mezclas de microorganismos antagonistas complementarios y no competitivos entre ellos (Spadaro y Gullino, 2004). Estas mezclas permiten ampliar el espectro de actividad (diferentes frutos, cultivares y estados de madurez), incrementar la eficacia (reducir la concentración necesaria), ser más seguras y permitir la reducción del número de aplicaciones y por ende el costo del tratamiento (Janisiewicz *et al.*, 1998). Los objetivos del presente estudio fueron: a) estudiar el efecto de aplicaciones en precosecha de *R. minuta* y *B. subtilis*, formulados individualmente o en combinación, sobre la severidad de la antracnosis evaluada en poscosecha, y b) evaluar la calidad poscosecha en frutos de mango tratados con los antagonistas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Microorganismos antagonistas.** *R. minuta*. Esta levadura, en medio de cultivo sólido NYDA (caldo nutritivo 8 g/L, extracto de levadura 5 g/L, dextrosa 10 g/L y agar 18 g/L) forma colonias esféricas, abombadas y brillantes de color rosa, con bordes lisos e incapaces de formar esporas o micelio. Pertenece a los Deuteromicetes; Orden Criptococcales; Familia Criptococcaceae; subfamilia Rhodotoruloidae, género *Rhodotorula* (Girard y Rougier

1964). La cepa de *R. minuta* (CIAD-780602) se mantuvo bajo condiciones de refrigeración a 4°C en tubos inclinados con medio papa-dextrosa-agar (PDA)(BD Bioxon, México). *Bacillus subtilis* cepa 83 (Ehrenberg). Esta cepa (CIAD-720602) bacteriana se caracteriza por presentar colonias de morfología rizoide, borde ondulado, superficie granulosa y consistencia mucoide (cuando envejecen se tornan secas y quebradizas), cuando se cultivan en medio sólido. El color de las colonias es blanco-crema brillante (en colonias jóvenes) y crema opaco (cuando envejecen). Las pruebas de tinción diferencial revelaron que la cepa bacteriana que se utilizó fue Gram positiva con forma de varillas rectas con flagelos perítricos. La bacteria se conservó en glicerol al 40% bajo condiciones de congelación. Para reactivar la cepa se resembró un tubo de glicerol en una caja Petri, con medio estéril YPG (extracto de levadura, peptona y dextrosa; los tres componentes a 10 g/L de concentración con 15 g/L de agar), incubando posteriormente a 30°C durante 24 h.

**Producción de antagonistas por fermentación sumergida.**

*R. minuta*. Se desarrolló el inóculo desde cajas Petri, pasando por matraces Erlenmeyer de 250 mL cuyo contenido se transfirió a matraces Fernbach de 2800 mL, para obtener 1 L de medio semilla. Los matraces se incubaron con una agitación de 200 rpm, a 29°C, durante 24 h. El proceso de producción se desarrolló en una jarra de fermentación de 14 L nominales (Microferm, New Brunswick, USA), con 10 L de medio mineral enriquecido con extracto de levadura. El fermentador estuvo equipado con tres turbinas Rushton de seis paletas planas y un difusor de punto. La velocidad de agitación fue de 240 rpm (para tener una potencia gaseada de 0.5 W/L), a 29°C y aireación de 10 L/min durante aproximadamente 22 h.

*B. subtilis*. Partiendo de caja Petri, se desarrolló el inóculo en matraces de 250 mL y 2800 mL en forma consecutiva, cuyo contenido finalmente se transfirió (1 L) a un fermentador de 14 L nominales (Microferm, New Brunswick, USA) con 10 L de medio de producción. El fermentador se equipó con tres turbinas Rushton de seis paletas planas y un difusor de punto. Se agitó a 240 rpm, a 29°C y una aireación de 10 L/min durante las ocho h de proceso. Algunos aspectos específicos de los procesos de producción han sido reportados por Patiño-Vera *et al.* (2002).

**Formulación del producto.** *R. minuta*. El caldo de fermentación de *R. minuta* se centrifugó en una centrífuga tubular MiniSharples con una capacidad de 250 mL de tazón, que opera a 12,000 rpm, de la cual se separó la pasta celular húmeda del sobrenadante (medio de cultivo residual). Posteriormente, la pasta celular obtenida se resuspendió en una solución amortiguadora de fosfatos, en una relación de 1 mL de amortiguador / 3 g de biomasa húmeda, la cual se conservó a 4°C.

*B. subtilis*. Todo el caldo de fermentación de *B. subtilis* (aproximadamente 10 L) fue centrifugado en una centrífuga de discos Westfalia, a 9000 rpm, en la cual se descarga el producto en una etapa con 2 L de la solución de fosfatos,

conservándose a 4°C.

**Aplicación de tratamientos.** Se utilizó una huerta comercial de mango cv. Kent de ocho años de edad, ubicada en El Rosario, Sinaloa, México. Se seleccionaron homogéneamente 15 árboles para distribuirlos en cinco tratamientos (tres árboles por tratamiento). En cada tratamiento se realizó una aplicación mensual (cinco en total), utilizando una bomba aspersora de mochila con 400 libras de presión, iniciando a partir de floración (febrero del 2003) hasta la cosecha (julio del 2003), asperjando suspensiones de células frescas (producidas en fermentadores piloto). Se asperjaron 4 L de agua con la suspensión de células sobre cada árbol de mango seleccionado, hasta que todo el follaje fue humedecido. Las dosis y formulaciones aplicadas se describen en el Cuadro 1.

**Severidad de antracnosis.** De cada tratamiento se cosecharon 100 frutos de mango en madurez fisiológica, los cuales se almacenaron bajo condiciones de simulación de mercadeo a 20°C y 85% de humedad relativa. Se evaluó la severidad de la enfermedad a los 15 días después del almacenamiento, usando como indicador la presencia de síntomas de la enfermedad (antracnosis) en los frutos. Para ello se utilizó una adaptación de la escala hedónica propuesta por Smoot y Seagall (1963), donde: 0 = sano; 1 = trazas (manchas cloróticas); 2 = ligero (lesiones oscuras de 1-5 mm de diámetro); 3 = mediano (lesiones oscuras mayores de 6 mm de diámetro); y 4 = severo (lesiones oscuras hundidas y con presencia de estructuras fungosas).

**Evaluación en la calidad de los frutos.** La pérdida de peso se evaluó cada tercer día por diferencias de peso respecto al peso inicial de los frutos, expresados en porcentaje (Díaz-Pérez, 1998). La firmeza se determinó cada tercer día mediante el esfuerzo necesario para romper la pulpa del fruto, usando un penetrómetro Chantillon (Modelo DFG-50, North Caroline, USA), adaptado con un punzón cilíndrico de 8 mm de diámetro. Los resultados se expresaron en Newtons (N), según la metodología reportada por Bourne (1980). El pH, acidez titulable (AT) y los sólidos solubles totales (SST) se cuantificaron de acuerdo con la metodología propuesta por la AOAC (1998) a los 0, 6 y 12 días de almacenamiento. Para la determinación del pH y de la acidez se utilizó un titulador automático Mettler Modelo DL-21 y los resultados se expresaron en unidades de pH y % de ácido cítrico, respectivamente. Los sólidos solubles totales se determinaron con un refractómetro tipo Abbe Leica Mark II con temperatura

Cuadro 1. Tratamientos y dosis aplicados en un huerto de mango (*Mangifera indica*) cv. Kent para controlar la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*).

| Tratamiento | Descripción                           | Dosis  |
|-------------|---------------------------------------|--|
| 1           | <i>Rhodotorula minuta</i>             | 10 <sup>8</sup> ufc mL <sup>-1</sup>                   |
| 2           | <i>Bacillus subtilis</i>              | 10 <sup>6</sup> ufc mL <sup>-1</sup>                   |
| 3           | <i>R. minuta</i> + <i>B. subtilis</i> | 10 <sup>6</sup> + 10 <sup>4</sup> ufc mL <sup>-1</sup> |
| 4           | Benomil                               | 0.5 g L <sup>-1</sup>                                  |
| 5           | Testigo absoluto                      | -----  |

compensada y previamente calibrado con agua pura. Los resultados se expresaron en °Brix. Para los parámetros de calidad, un fruto fue la unidad experimental y se usaron cinco repeticiones.

**Análisis estadístico.** El estudio de la severidad de la enfermedad en los frutos de mango se analizó mediante un diseño de bloques completamente al azar. Los datos obtenidos de las evaluaciones de cada tratamiento, se sometieron al análisis unilateral de varianza por rangos de Friedman ( $p < 0.05$ ) usando el sistema estadístico SAS (SAS, 1998). La diferencia entre tratamientos se determinó mediante la prueba de Tukey ( $p = 0.05$ ). Para las diferencias en los análisis de varianza (ANOVA) de las variables de calidad, se realizó la separación de medias mediante la prueba de comparación múltiple de Tukey con una probabilidad de error del 5% con el programa estadístico Minitab versión 13.1

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Severidad de antracnosis.** Los datos de la severidad de la antracnosis acumulada (expresada en rangos), a los 15 días después del almacenamiento se presentan en el Cuadro 2. Se obtuvieron valores de hasta 60.5 para los frutos del testigo absoluto y de 41.7 para el tratamiento químico. La mayor reducción de la enfermedad se observó en los frutos tratados con la mezcla de los microorganismos antagonistas (*R. minuta* y *B. subtilis*) con una severidad de 8.0. Para el caso del tratamiento de la bacteria aplicada en forma individual se obtuvo una severidad de 12.4. Los resultados indicaron que la aplicación sola o combinada de los antagonistas, mostraron el mayor control de la antracnosis, encontrándose diferencias significativas entre ellos y mostrando valores menores de severidad que la aplicación del compuesto químico y el testigo absoluto. Una importante ventaja del uso de la mezcla de antagonistas fue que permitió reducir la concentración de antagonistas, de  $10^8$  a  $10^6$  ufc/mL en el caso de la levadura y de  $10^6$  a  $10^4$  ufc/mL para la bacteria (Cuadro 1); ello hace que este tratamiento sea atractivo para su eventual aplicación a nivel comercial. La reducción de la severidad de antracnosis en los tratamientos combinados de antagonistas indica un posible efecto sinérgico entre la levadura y la bacteria. La aplicación de mezclas de antagonistas ha reducido la

Cuadro 2. Rango de severidad de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en frutos de mango (*Mangifera indica*) cv. Kent tratados en precosecha.

| Tratamiento | Descripción                    | Rangos de Friedman<br>15 días de almacenamiento |
|-------------|--------------------------------|---|
| 5           | Testigo absoluto               | 60.5 a <sup>z</sup>                             |
| 4           | Benomil                        | 41.7 b  |
| 1           | <i>Rhodotorula minuta</i>      | 25.7 c  |
| 2           | <i>Bacillus subtilis</i>       | 12.4 d  |
| 3           | <i>R. minuta + B. subtilis</i> | 8.0 e   |

<sup>z</sup>Valores con las mismas letras son estadísticamente iguales (Tukey,  $p < 0.05$ ).

variabilidad y mejorado la eficacia de biocontrol en muchos sistemas que incluyen patógenos de frutos (Fukui *et al.*, 1999; Guetsky *et al.*, 2001; Janisiewicz y Bors, 1995; Pierson y Weller, 1994; Raupach y Kloepper, 1988; Schisler *et al.*, 1997). En el presente trabajo, los biofungicidas utilizados en mango Kent resultaron claramente con una mayor efectividad que el tratamiento químico, posiblemente porque los antagonistas colonizaron la superficie de hojas y frutos y de esta manera minimizaron las infecciones tempranas o latentes de los frutos de mango. Otra posible explicación es que la última aplicación de los tratamientos se realizó 30 días antes de la cosecha, tiempo durante el cual el fungicida químico pudo haber disminuido su efectividad, lo que, aunado con condiciones ambientales propicias para la infección de antracnosis, resultó en una mayor severidad de la enfermedad en poscosecha.

**Evaluaciones en la calidad de los frutos.** Efectos en la pérdida de peso del fruto. Al analizar el comportamiento de esta variable, se observó que al inicio de la etapa de mercadeo todos los frutos mostraron un comportamiento similar durante los primeros tres días con una pérdida de peso menor al 1%, siendo hasta el noveno día de almacenamiento a 20°C, cuando se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) teniendo valores de 4.6 y 4.3% para los frutos del tratamiento testigo y químico, respectivamente; y menor del 3.6% para los frutos del tratamiento con la levadura (*R. minuta*  $10^8$  ufc/mL) (Cuadro 3). Laurean (1998) reporta una pérdida de peso del 4.2% a los 8 días de almacenamiento a 20°C, indicando que este cultivar de mango, es uno de mayor transpiración.

Efectos en la firmeza de los frutos. Al momento del corte, la firmeza de los frutos se encontraba en un rango de 190-215 N, que corresponde a un índice de corte que se considera adecuado de acuerdo a la norma mexicana de calidad para mango fresco (Báez *et al.*, 1993). Durante el almacenamiento, los frutos tratados con los antagonistas biológicos no presentaron un efecto negativo en el desarrollo de la pérdida de firmeza de los frutos; ya que tuvieron un descenso (Fig. 2) característico de una maduración normal de los frutos (Krishnamurty y Subramayan, 1973). No se observó diferencia significativa entre el uso de los diferentes tratamientos en comparación con el testigo químico y absoluto; sin embargo, los cuatro tratamientos presentaron valores superiores a los 20 N de firmeza a los 12 días de almacenamiento, en comparación con el testigo absoluto que presentó valor de 13.82 N. Al respecto, Krishnamurty y Subramayan (1973) señalan que los frutos de mango deberán mostrar valores superiores de 20 N a los 12 días para ser aceptados con calidad comercial para consumo en fresco. Al aplicar este criterio a los datos de la Figura 2, es evidente que los frutos de mango que fueron usados como testigos pierden su calidad comercial a los 12 días de almacenamiento; sin embargo, cuando se aplicó en forma individual *B. subtilis* en precosecha, se incrementó a 15 días el período de calidad comercial, lo cual es un hecho relevante en términos de su

Cuadro 3. Cambios en la pérdida de frutos de mango (*Mangifera indica*) cv. Kent durante el almacenamiento por 15 días a 20°C y 85% de HR, tratados con antagonistas biológicos, químico y testigo absoluto.

| Tratamiento   | Día | 3                  | 6     | 9      | 12     | 15     |
|---|-----|--------------------|-------|--------|--------|--------|
|   |     | Pérdida de peso    |       |        |        |        |
| <i>Rhodotorula minuta</i> 10 <sup>8</sup> ufc mL <sup>-1</sup>        |     | 0.8 a <sup>z</sup> | 1.5 a | 2.2 b  | 3.0 b  | 3.6 b  |
| <i>Bacillus subtilis</i> 10 <sup>6</sup> ufc mL <sup>-1</sup>         |     | 0.8 a              | 1.6 a | 2.5 ab | 3.3 ab | 4.1 ab |
| <i>R. minuta</i> 10 <sup>6</sup> + <i>B. subtilis</i> 10 <sup>4</sup> |     | 0.7 a              | 1.5 a | 2.2 b  | 3.1 b  | 4.0 ab |
| Benomil   |     | 0.9 a              | 1.6 a | 2.4 ab | 3.4 ab | 4.3 a  |
| Testigo absoluto  |     | 0.9 a              | 1.6 a | 2.6 a  | 3.7 a  | 4.6 a  |

<sup>z</sup>Valores con la misma letra entre columnas son estadísticamente iguales (Tukey, p < 0.05).

potencial de comercialización.

Efectos en el pH, acidez y contenido de sólidos solubles totales en el fruto. El tratamiento exclusivo con *R. minuta* y la mezcla *R. minuta* + *B. subtilis* presentaron los valores más bajos de pH, siendo estadísticamente diferentes al de los frutos testigo al inicio del almacenamiento (Cuadro 4). Por otra parte, no se observó ninguna relación del pH con los resultados en el contenido de ácido cítrico. El pH tendió a incrementarse durante la maduración de los frutos, asociado a un descenso considerable en la acidez titulable. A los 12 días de almacenamiento, el tratamiento de la mezcla de *B. subtilis* y *R. minuta* presentó el valor de pH más alto. El porcentaje de ácido cítrico inició con valores altos y estadísticamente iguales y se redujo significativamente después de 12 días de almacenamiento con los tratamientos *B. subtilis* y la mezcla *R. minuta* + *B. subtilis* con valores de acidez de 0.06 y 0.04, respectivamente, no encontrándose diferencia significativa entre ambos tratamientos, donde el valor más alto estadísticamente lo presentó el testigo (0.14). La mayor reducción en la acidez de los frutos tratados con los antagonistas biológicos probablemente se debe a que los

microorganismos utilizan a los ácidos orgánicos para realizar actividad respiratoria (Ruiz y Guadarrama, 1992). De manera similar al pH, el contenido de sólidos solubles totales no se afectó por la aplicación de los diferentes tratamientos (Cuadro 4), el cual presentó en promedio un aumento de 8 a 14°Brix durante los primeros doce días de almacenamiento. Según Seymour *et al.* (1990), el incremento en sólidos solubles totales se presenta por efecto de la degradación de macromoléculas a moléculas más simples de azúcares, observándose para el mango Kent un cambio de sólidos solubles totales de 7.7 a 16.1° Brix durante la maduración por 12 días a 20°C.

## CONCLUSIONES

En forma individual o en mezclas, cada una de las formulaciones biológicas probadas presentó un mejor control de la severidad de antracnosis en comparación con el fungicida químico comercial benomil. Las aplicaciones de *R. minuta* + *B. subtilis* (T3) empleadas en la huerta comercial de mango cv Kent, lograron reducir la severidad de la antracnosis hasta en un 86.7%, en comparación con frutos

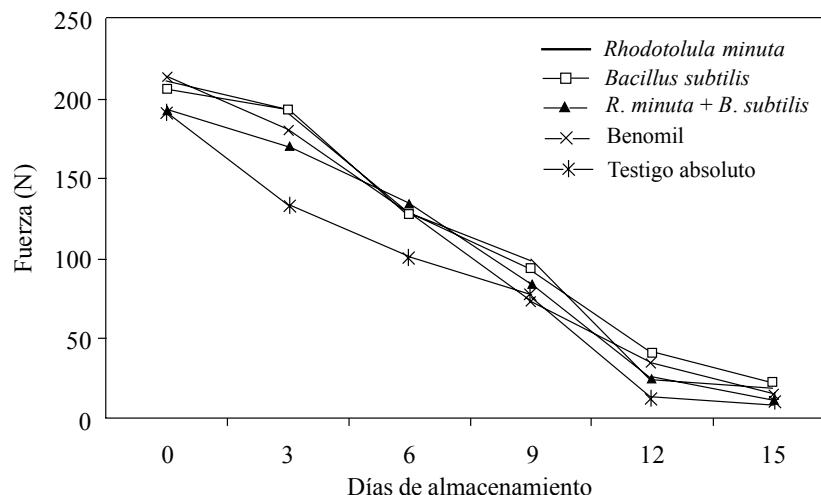


Fig. 2. Cambios en la firmeza en frutos de mango (*Mangifera indica*) cv Kent durante el almacenamiento por 15 días a 20°C y 85% de HR, tratados con antagonistas biológicos, un producto químico y un testigo.

Cuadro 4. Cambios en pH, acidez titulable y sólidos solubles totales de fruto de mango (*Mangifera indica*) cv. Kent durante el almacenamiento por 12 días a 20°C y 85% de HR, tratados con antagonistas biológicos, químico y testigo absoluto.

| Tratamiento                    | pH                 |       |        | AT (% de ácido cítrico) |         |         | SST (°Brix) |        |        |
|--------------------------------|--------------------|-------|--------|-------------------------|---------|---------|-------------|--------|--------|
|                                | 0                  | 6     | 12     | 0                       | 6       | 12      | 0           | 6      | 12     |
| <i>Rhodotorula minuta</i>      | 4.2 b <sup>z</sup> | 4.2 a | 4.8 b  | 0.78 a                  | 1.09 a  | 0.08 ab | 7.7 a       | 10.1 a | 14.5 a |
| <i>Bacillus subtilis</i>       | 4.3 ab             | 4.2 a | 5.1 ab | 0.52 a                  | 0.92 bc | 0.06 b  | 7.9 a       | 10.9 a | 15.0 a |
| <i>R. minuta + B. subtilis</i> | 4.2 b              | 4.3 a | 5.5 a  | 0.86 a                  | 0.76 c  | 0.04 b  | 7.2 a       | 9.7 a  | 14.4 a |
| Benomil                        | 4.3 ab             | 4.2 a | 5.1 ab | 0.58 a                  | 1.07 ab | 0.12 ab | 8.2 a       | 9.6 a  | 14.3 a |
| Testigo absoluto               | 4.4 a              | 4.3 a | 5.3 a  | 0.57 a                  | 0.76 c  | 0.14 a  | 8.9 a       | 10.4 a | 12.6 a |

<sup>z</sup>Valores con la misma letra dentro de cada columna, son estadísticamente iguales (Tukey, p < 0.05).

del tratamiento testigo a los 15 días de almacenamiento. Una ventaja adicional del uso de la mezcla de antagonistas es que permite reducir hasta en dos órdenes de magnitud los microorganismos viables necesarios, respecto a los casos en los que se usaron los antagonistas por separado. La aplicación de *R. minuta* (T1) permitió obtener una menor pérdida de peso en comparación con el testigo químico y el absoluto. Respecto al parámetro de firmeza, cuando se aplicaron *B. subtilis* o *R. minuta* en poscosecha, los frutos se mantuvieron más firmes hasta por un 20% más de tiempo durante el almacenamiento. La aplicación de los antagonistas en los árboles de mango no afectó los índices de calidad (acidez, pH y sólidos solubles totales) de los frutos producidos.

**Agradecimientos.** Al personal de la Planta Piloto del IBT-UNAM: Myriam Ortiz y Mario A. Caro y a Karina A. Balderas, por su apoyo técnico en la producción de los antagonistas.

#### LITERATURA CITADA

- Allende, R., Juárez, C., García, R., Carrillo, A., Patiño, M., y Galindo, E. 2001. *Rhodotorula minuta*, agente de control biológico potencial contra *Colletotrichum gloeosporioides* en mango. *Brazilian Phytopathology*, 26 (supplement), august, pp. 461-462.
- Allende, M.R., Juárez, R.C., García, E.R.S. y Carrillo, F.A. 2000. Control biológico de antracnosis en frutos de mango *Keitt* en Culiacán, Sinaloa. *Memorias del XXIII Congreso Nacional de Control Biológico*. Guanajuato, Guanajuato, México. pp. 219-222.
- AOAC. 1998. *Official Methods of Analysis*. 16<sup>th</sup> Edition. William S. (Ed). Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C. USA. CD rom.
- Arauz, L.F. 2000. Mango anthracnose: Economic impact current options for integrated management. *Plant Disease* 84:600-611.
- Astúa, G., Arauz, L.F., y Umaña, G. 1994. Sensibilidad reducida al tiabendazole en *Colletotrichum gloeosporioides* aislado de papaya. *Agronomía Costarricense* 18:35-39.
- Báez, S.R., Siller, J., Bringas, E., and Báez, M. 1993. Determinación de índices de madurez de los principales cultivares de mango producidos en México. *Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture* 37:148-154.
- Baker, K.F., and Cook, R.J. 1974. *Biological Control of Plant Pathogens*. W. H. Freemans Co., San Francisco, California, USA. 433 p.
- Basurto, C.M.G.L., y Vázquez, A.M. 2000. Selección de una cepa de *Bacillus subtilis* como biocontroladora de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium sp.* en el cultivo de fresa. *Memorias del XXIII Congreso Nacional de Control Biológico*. Guanajuato, Guanajuato, México. pp. 5-7.
- Bautista-Baños, S., Hernández-López, M., Bosquez-Molina, E., and Wilson, C.L. 2003. Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. *Crop Protection* 22:1087-1092.
- Bourne, M.C. 1980. Texture evaluation of horticultural crops. *HortScience* 15:51-57.
- Cano, A.M. 1999. Enfermedades Poscosecha en Cuatro Variedades de Mango (*Mangifera indica* L.) Colectadas en el Estado de Sinaloa. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 51 p.
- Chand-Goyal, T., and Spotts, R.A. 1996. Postharvest biological control of blue mold of apple and brown rot of sweet cherry by natural saprophytic yeasts alone or in combination with low doses of fungicides. *Biological Control* 6:253-259.
- Coates, L.M., Johnson, G.I., and Cooke, A.W. 1993. Postharvest disease control in mangoes using high humidity hot air and fungicide treatments. *Annals of Applied Biology* 123:441-448.
- De Villiers, E.A., and Korsten, L. 1996. Alternative strategies for control of mango fruit diseases S.A. *Mango Grower's Association Yearbook* 16:61-64.
- Díaz-Pérez, J.C. 1998. Transpiration rates in eggplant fruit as affected by fruit and calyx size. *Postharvest Biology and Technology* 13:45-49.
- Fukui, R., Fukui, H., and Alvarez, A.M. 1999. Comparisons of single versus multiple bacterial species on biological control of anthurium blight. *Phytopathology* 89:366-373.
- Galán, S.V. 1999. *El Cultivo del Mango*. Ediciones Mundiprensa. Gobierno de Canarias. Madrid, España. 224 p.
- Gamagae, S.U., Sivakumar, D., and Wijesundera, R.L.C. 2004. Evaluation of post-harvest application of sodium

- bicarbonate-incorporated wax formulation and *Candida oleophila* for the control of anthracnose of papaya. *Crop Protection* 23:575-579.
- Girad, H., and Rougier, R. 1964. Técnicas de Microbiología Agrícola. Ed. Acribia. Barcelona, España. 302. p.
- Guetsky, R., Shtienberg, D., Elad, Y., and Dinoor, A. 2001. Combining biocontrol agents to reduce the variability of biological control. *Phytopathology* 91:621-627.
- Ippolito, A., and Nigro, F. 2000. Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Crop Protection* 19:610-619.
- Janiciewicz, W.J., Leverenz, B., Conway, W.S., Saftner, R.A., Reed, A.N., and Camp, M.J. 2003. Control of bitter rot and blue mold of apples integrating heat and antagonistic treatments on 1-MCP treated fruits stored under controlled atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology* 29:129-143.
- Janiciewicz, W.J., and Bors, R. 1995. Development of a microbial community of bacterial and yeast antagonist to control wound-invading postharvest pathogens. *Applied and Environmental Microbiology* 61:3261-3267.
- Janiciewicz, W.J., Conway, W.S., Glenn, D.M., and Sams, C.E. 1998. Integrating biological control and calcium treatment for controlling decay of apples. *HortScience* 33:105-109.
- Janiciewicz, W.J., and Korsten, L. 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annual Review of Phytopathology* 40:411-441.
- Juárez, R.C. 2001. Microorganismos Antagonistas Para el Control de Antracnosis en Mango Cultivado en Sinaloa. Tesis de Maestría en Ciencias de la Producción Agrícola. Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 78 p.
- Karabulut, O.A., and Baykal, N. 2004. Integrated control of postharvest diseases of peaches with a yeast, hot water and modified atmosphere packaging. *Crop Protection* 23:431-435.
- Korsten, L., De Jager, E.S., De Villiers, E.E., Lourens, A., Kotzé, J.M., and Wehner, F.C. 1995. Evaluation of bacterial epiphytes isolated from avocado leaf and fruit surfaces for biocontrol of avocado postharvest diseases. *Plant Disease* 79:1149-1156.
- Krishnamurty, S., and Subramanyan, H. 1973. Pre and post harvest physiological of the mango fruit: a review. *Tropical Science* 15:167-193.
- Laurean G. A. I. 1998 Determinación de Ácido Ascórbico en Frutos de Mango (*Mangifera indica* L.) cv. Kent Durante Almacenamiento y Simulación de Mercadeo. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Culiacán. Culiacán, Sinaloa, México. 88 p.
- Mendoza-Zamora, C. y Hernández-Mendieta, E. 2002. Evaluación de *Bacillus subtilis* (Serenade 10 PH) en el control de *Botrytis cinerea* y *Sphaerotheca macularis* en el cultivo de fresa. Memorias del XXIX Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Monterrey, Nuevo León, México. Resumen F-1.
- Muñoz, C.L.N., Molina, R.J.J. y Torres, M.J.V. 2000. Estudio sobre agentes de biocontrol *in vitro* de enfermedades de poscosecha en frutos de manzano. Memorias del XXIII Congreso Nacional de Control Biológico. Guanajuato, Guanajuato, México. pp. 15-17.
- Nishijima, K.A., Miura, C.K., and Armstrong, J.W. 1992. Effect of forced hot air treatment of papaya fruit on fruit quality and incidence of postharvest diseases. *Plant Disease* 76:723-727.
- Paéz, R.A.R. 2004. Tecnologías Sostenibles para el Manejo de la Antracnosis en Papaya y Mango. Boletín No. 96. Corpoica. Monteria-Córdoba, Colombia. 10 p.
- Patíño, V.M., Allende, R., Ortíz, M., García, R., Carrillo, A., Jiménez, B., Albiter V., y Galindo, E. 2001. Identificación y caracterización de microorganismos con potencial de antagonismo contra *Colletotrichum gloeosporioides*, causante de antracnosis en Mango. Memorias del IX Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, Veracruz, Veracruz, México. OIV-5.
- Patíño-Vera, M., Albiter, V., Ortíz, M., Jiménez, B., García, R., Carrillo, A., Allende, R., y Galindo, E. 2002. Escalamiento y desarrollo de dos formulados microbianos para su uso como agentes de control biológico contra la antracnosis en mango. Memorias del Tercer Simposio Internacional de Bioprocesos. Cuernavaca, Morelos, México. 93 p.
- Pierson, E.A., and Weller, D.M. 1994. Use of mixture of fluorescent *Pseudomonas* to suppress take-all and improve the growth of wheat. *Phytopathology* 84:940-947.
- Ploetz, R.C., Zentmyer, G.A., Nishijima, W.T., Rohrbach, K.G., and Ohr, H.D. 1994. Compendium of Tropical Fruit Diseases. Mango. APS Press. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 88. p.
- Prusky, D., Fuchs, Y., Kobiler, I., Roth, I., Weksler, A., Shalom, Y., Fallik, E., Zberman, G., Pesis, E., Akerman, M., Ykutiely, O., Weisblum, A., Regev, R., and Artes, L. 1999. Effect of hot water brushing, prochloraz treatment and waxing on the incidence of black spot decay caused by *Alternaria alternata* in mango fruits. *Postharvest Biology and Technology* 15:165-174.
- Ramírez, V.J. 1991. Cultivo y Enfermedades del Mango. Universidad Autónoma de Sinaloa. Primera edición. Culiacán, Sinaloa, México. 137 p.
- Raupach, G.S., and Kloepfer, J.W. 1988. Mixtures of plant growth promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathology* 88:1158-1164.
- Ruiz, M., y Guadarrama, A. 1992. Comportamiento poscosecha del mango (*Mangifera indica* L.) tipo Bocado durante maduración controlada. Revista de la Facultad Agronomía, Maracay 18:79-93.
- SAGARPA. 2003. Centro de Estadística Agropecuaria.

- Anuario estadístico de la producción agrícola. SAGAR.  
<http://www.sagar.gob.mx>
- SAS. 1998. User's Guide (Release 6.12) Statistics SAS Int. Inc. Cary, NC.
- Schisler, D.A., Slininger, P.J., and Bothast, R.J. 1997. Effects of antagonist cell concentration and two-strain mixtures on biological control of *Fusarium* dry rot of potatoes. *Phytopathology* 87:177-183.
- Seymour, G.B., N'diaye, M., Wainwright, H., and Tucker, G.A. 1990. Effects of cultivar and harvest maturity on ripening of mangoes during storage. *Journal of Horticultural Science* 65:479-483.
- Smoot, J.J., and Segall, R.H. 1963. Hot water as a postharvest control of mango anthracnose. *Plant Disease Reporter* 47:739-742.
- Spadaro, D., and Gullino, M.L. 2004. State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. *International Journal of Food Microbiology* 91:185-194.
- Stevens, C.V., Khan, A., Lu, J.Y., Wilson, C.L., Pusey, P.L., Igwegbe, E.C.K., Kabwe, K., Mafolo, Y., Liu, J., Chalutz, E., and Droby, S. 1997. Integration of ultraviolet (UV-C) light with yeast treatment for control of postharvest storage rots of fruits and vegetables. *Biological Control* 10:98-103.
- Trevizo-Enríquez, M.G., Guerrero-Prieto, V.M., Figueroa-Valenzuela, C., Romo-Chacón, A., Gardea-Béjar, A.A., Martínez-Romero, S., e Ibarra-Moncada, C. 2002. Uso de levaduras nativas como agente de control biológico contra *Penicillium expansum* en manzana Golden Delicious en poscosecha en Chihuahua, México. *Memorias del XXIX Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología*. Monterrey, Nuevo León, México. Resumen F-70.
- Wilson, C.L., and Wisniewsky, M.E. 1989. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: An emerging technology. *Annual Review of Phytopathology* 27:425-441.
- Woodhead, S.H., O'Leary, A.L., O'Leary, D.J., and Rabatin, S.C. 1990. Discovery, development, and registration of a biocontrol agent from an industrial perspective. *Canadian Journal of Plant Pathology* 12:328-331.