



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS  
CAMPUS V**



Extractos de plantas y preparados minerales sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phytophthora* spp. y *Alternaria alternata*

**TESIS**

Presentada para obtener el grado de

**MAESTRA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA  
TROPICAL**

Presenta

**ING. SARA AZUCENA DEL ROSARIO JIMÉNEZ NÚÑEZ**

Directora

**Dra. SANDRA ISABEL RAMÍREZ GONZÁLEZ**

**Villaflores, Chiapas, México**

**Febrero, 2018**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS  
CAMPUS V  
DIRECCIÓN



VILLAFLORES, CHIAPAS  
07 DE FEBRERO DE 2018  
OFICIO N° D/32/18

**C. SARA AZUCENA DEL ROSARIO JIMÉNEZ NÚÑEZ**  
MAESTRANTE EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL  
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS  
P R E S E N T E.

En atención a que usted ha presentado los votos aprobatorios del Honorable Jurado, designado para su evaluación profesional, de la tesis titulada: **“Extractos de plantas y preparados minerales sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phytophthora* spp. y *Alternaria alternata*”**, por este conducto le comunico que se le autoriza la impresión del documento, de acuerdo a los lineamientos vigentes de la Universidad.

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
“POR LA CONCIENCIA DE LA NECESIDAD DE SERVIR”

  
M. C. ROBERTO REIMUNDO COUTIÑO RUIZ  
DIRECTOR

FACULTAD DE  
CIENCIAS AGRONÓMICAS



C. c. p. Archivo

## **DEDICATORIA**

### **A Dios,**

Por guiarme entre las adversidades y ser la luz después de la oscuridad. Por su amor incondicional que se manifiesta a cada momento y darme la capacidad y oportunidad de culminar mis estudios de manera satisfactoria.

### **A mis padres Lucrecia y Aristeo**

Que a pesar de la distancia y obstáculos me han brindado su amor incondicional y enseñanza para formarme como ser humano y profesionista.

### **A mi pareja Ricardo Selvas**

Por estar a mi lado en los momentos más difíciles, brindándome su amor y comprensión.

### **A mi hija Valeria Alessandra,**

Por ser el motor que me impulsa a día a día y la inspiración para culminar la etapa de maestrante.

### **A mis hermanos, sobrinos y cuñados**

Por apoyarme en los momentos de angustia y necesidad.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento brindado en el desarrollo y conclusión del proyecto de investigación.

A la Universidad Autónoma de Chiapas por la formación profesional y humana.

A la Dra. Sandra Isabel Ramírez González; directora de tesis, colega y amiga por brindarme su apoyo en el desarrollo y culminación del proyecto de investigación, compartiendo sus experiencias y expectativas como persona y profesionista.

Al Dr. Orlando López Báez; asesor, profesor y amigo por brindarme su orientación, colaboración y consejos para el desarrollo de la tesis.

Al Dr. Ricardo René Quiroga Madrigal; asesor, quien agradezco por la rigurosidad, apoyo e impulso en el desarrollo de la investigación.

A la M.C. María de los Ángeles Rosales Esquinca, asesora de tesis por su disposición, ayuda y su constante espíritu servicial que me permitió culminar proyecto de investigación.

A mis amigos por creer y brindarme su apoyo a lo largo de mis estudios.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS CAMPUS V**



Esta tesis titulada Extractos de plantas y preparados minerales sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phytophthora* spp. y *Alternaria alternata*, forma parte del proyecto de investigación “Extractos de plantas tropicales en el control *in vitro* de enfermedades de cultivos de importancia económica para el estado de Chiapas”. Registrado en la Coordinación de Investigación y Posgrado de la UNACH, financiado por el fondo de Innovación Tecnológica del CONACYT (000000000193226) y Secretaría de Economía, bajo la dirección de la Dra. Sandra Isabel Ramírez González.

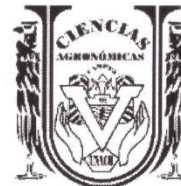
Se incluye en la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento:

DESARROLLO SUSTENTABLE, del GRUPO DE INVESTIGACION SUSTENTABILIDAD, AGRICULTURA Y NEGOCIOS.

Se incluye en la línea de Generación y Aplicación del Conocimiento: Sistemas Agrícolas Tropicales, del Programa de Maestría en Ciencias en Producción Agropecuaria Tropical.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS CAMPUS V



Esta tesis titulada “Extractos de plantas y preparados minerales sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phytophthora* spp. y *Alternaria alternata*”, fue realizada por la Ing. SARA AZUCENA DEL ROSARIO JIMÉNEZ NÚÑEZ, bajo la dirección y asesoría del Comité Tutorial indicado, como requisito parcial para obtener el grado de MAESTRA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL.

COMITÉ TUTORIAL

DIRECTORA

DRA. SANDRA ISABEL RAMÍREZ GONZÁLEZ

ASESORES:

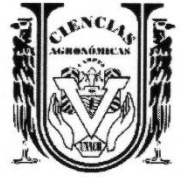
DR. ORLANDO LÓPEZ BÁEZ

M.C. MARÍA DE LOS ÁNGELES ROSALES  
ESQUINCA

DR. RICARDO RENÉ QUIROGA MADRIGAL  
(CONSULTOR INDEPENDIENTE)



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS CAMPUS V



Esta tesis titulada Extractos de plantas y preparados minerales sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phytophthora* spp. y *Alternaria alternata*, fue realizada por la Ing. SARA AZUCENA DEL ROSARIO JIMÉNEZ NÚÑEZ, ha sido aprobada por la Comisión Revisora indicada, como requisito parcial para obtener el grado de MAESTRA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL.

**COMISIÓN REVISORA**

DR. ORLANDO LÓPEZ BÁEZ

M.C. MARÍA DE LOS ÁNGELES ROSALES  
ESQUINCA

DR. RICARDO RENÉ QUIROGA MADRIGAL  
(CONSULTOR INDEPENDIENTE)

## CONTENIDO

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1 Objetivos .....	2
Objetivo general .....	2
1.2 Hipótesis.....	2
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	3
2.1 Hongos fitopatógenos.....	3
2.1.1 <i>Phytophthora</i> spp. en cacao.....	3
2.1.2 <i>Alternaria alternata</i> en tomate .....	3
2.1.3 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> en mango .....	4
2.1.4 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> en papaya.....	4
2.2 Alternativas en el manejo de fitopatógenos.....	5
2.2.1 Extractos vegetales .....	5
2.2.2 Preparados minerales .....	8
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	12
3.1 Ubicación geográfica .....	12
3.2 Materiales.....	12
3.2.1 Material biológico .....	12
3.3 Métodos.....	14
3.3.1 Etapa 1. Efectividad de preparados minerales.....	15
3.4 Etapa 2. Efectividad de extractos vegetales sobre hongos. ....	18
3.4.1 Elaboración de extractos vegetales.....	18
3.5 Etapa 3. Determinación del efecto sobre la formación de esporas .....	20
3.5.1 Determinación del medio para la formación y germinación de conidias de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> y <i>Alternaria alternata</i> .....	20
3.6 Etapa 4. Efectividad de extractos y preparados minerales sobre <i>C. gloeosporioides</i> en poscosecha.....	21
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	23
4.1 Etapa 1. Efectividad de preparados minerales .....	24
4.1.1 Efecto de preparados minerales al 40% [V:V] sobre <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> aislado de papaya .....	24
4.1.2 Efectos de los preparados minerales al 40% de concentración (V/V) sobre <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> aislado de mango .....	27
4.1.3 Efectos de los preparados minerales al 40% de concentración sobre <i>Alternaria alternata</i> aislada de tomate .....	31



4.1.4 Efectos de los preparados minerales al 40% de concentración sobre <i>Phytophthora</i> spp. en cacao .....	34
4.2 Etapa 2. Efectividad de extractos vegetales.....	39
4.2.1 Evaluación extractos vegetales al 40% de concentración sobre <i>C. gloeosporioides</i> aislado de papaya .....	39
4.2.2 Evaluación extractos vegetales al 40% sobre <i>C. gloeosporioides</i> aislado de mango .....	41
4.2.3 Evaluación extractos vegetales al 40% de concentración sobre <i>Alternaria alternata</i> aislado de tomate .....	45
4.2.4 Extractos vegetales al 40% sobre <i>Phytophthora</i> spp. aislado de cacao ..	48
4.3 Etapa 3. Prueba de medio líquido .....	55
4.3.1 Determinación del medio para la formación y germinación de conidios de <i>A. alternata</i> y <i>C. gloeosporioides</i> .....	55
4.3.2 Determinación del efecto del preparado mineral y extracto vegetal en la formación y germinación de conidios .....	59
4.4 Etapa 4. Efectividad de extractos y preparados minerales sobre <i>C. gloeosporioides</i> en poscosecha.....	67
4.4.1 Poscosecha en mango.....	67
4.4.1 Poscosecha en papaya .....	72
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	<b>76</b>
<b>6. LITERATURA CITADA</b> .....	<b>77</b>
<b>7. ANEXOS</b> .....	<b>91</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Página

Cuadro 1. Composición de los preparados minerales evaluados.....	16
Cuadro 2. Tratamientos evaluados en la etapa 1.....	17
Cuadro 3. Material vegetal para la elaboración de extractos.....	18
Cuadro 4. Tratamientos evaluados para la producción de conidias de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> y <i>Alternaria alternata</i> .....	20
Cuadro 5. Tratamientos evaluados <i>in vivo</i> en frutos en papaya y/o mango	22
Cuadro 6. Grado de severidad y daño interno por antracnosis.....	22
Cuadro 7. Efectos <i>in vitro</i> de los preparados minerales al 40% de concentración sobre <i>C. gloeosporioides</i> aislado de papaya.....	25
Cuadro 8. Efecto <i>in vitro</i> del polisulfuro de calcio (PC) sobre el crecimiento y formación de conidios de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> aislado de papaya.....	26
Cuadro 9. Efecto <i>in vitro</i> del polisulfuro de calcio al 5, 3 y 1% sobre <i>C. gloeosporioides</i> aislado de papaya.....	27
Cuadro 10. Efectos <i>in vitro</i> de los preparados minerales al 40% de concentración sobre <i>C. gloeosporioides</i> aislado de mango.....	29
Cuadro 11. Determinación <i>in vitro</i> de CMI de preparados minerales sobre crecimiento y desarrollo de <i>C. gloeosporioides</i> aislado de mango.....	31
Cuadro 12. Efecto <i>in vitro</i> de los preparados minerales al 40% de concentración sobre el crecimiento y desarrollo de <i>Alternaria alternata</i> aislando de tomate.....	32
Cuadro 13. Determinación de CMI de los preparados minerales sobre <i>A. alternata</i> aislado de tomate.....	33
Cuadro 14. Efecto <i>in vitro</i> de Preparados minerales al 40%de concentración sobre el crecimiento de <i>Phytophthora</i> spp. ....	35
Cuadro 15. Determinación de CMI de los preparados minerales sobre <i>Phytophthora</i> spp. aislado de cacao.....	37
Cuadro 16. CMI de PC sobre <i>Phytophthora</i> spp. en cacao.....	38
Cuadro 17. Efecto de los extractos vegetales al 40% sobre <i>C. gloeosporioides</i> en papaya.....	40
Cuadro 18. CMI de pimienta hojas sobre <i>C. gloeosporioides</i> en papaya	41
Cuadro 19. Extractos vegetales sobre crecimiento y desarrollo de <i>C. gloeosporioides</i> en mango.....	42

Cuadro 20. Determinación <i>in vitro</i> de CMI de pimienta hoja y maguey morado sobre el crecimiento y desarrollo de <i>C. gloeosporioides</i> aislado de mango.....	44
Cuadro 21. Efecto <i>in vitro</i> de los extractos vegetales 40% sobre <i>A. alternata</i> aislado de tomate.....	46
Cuadro 22. Efecto <i>in vitro</i> del extracto pimienta hoja a concentraciones de 30, 20 y 10% sobre el crecimiento y desarrollo de <i>A. alternata</i> aislado de tomate.....	47
Cuadro 23. Efectos <i>in vitro</i> de los extractos vegetales sobre <i>Phytophthora spp.</i> , aislado de cacao.....	49
Cuadro 24. Evaluación <i>in vitro</i> de pimienta hoja y maguey morado al 30, 20 y 10% sobre el crecimiento y desarrollo de <i>Phytophthora spp.</i> aislado de cacao.....	50
Cuadro 25. Porcentajes de inhibición de los productos minerales y extractos vegetales sobre <i>C. gloeosporioides</i> aislado de <i>Carica papaya</i> L. y de <i>Mangifera indica</i> , <i>Phytophthora spp.</i> aislado de <i>Theobroma cacao</i> y <i>Alternaria alternata</i> de <i>Solanum lycopersicum</i> .....	52
Cuadro 26. Crecimiento micelial <i>C. gloeosporioides</i> durante 14 días sobre frutos de mango inoculados.....	68
Cuadro 27. Efecto del extracto hoja de pimienta y CBS al 30% sobre la formación de conidias totales y germinadas de <i>C. gloeosporioides</i> en frutos de mango.....	69
Cuadro 28. Evaluación grado de severidad y daño interno por antracnosis en frutos de mango.....	70
Cuadro 29. Evaluación de severidad por antracnosis (S.A) y daño interno por antracnosis (D.I.A) en frutos de papaya.....	72
Cuadro 30. Cuantificación de conidias totales y germinadas de <i>C. gloeosporioides</i> en frutos de papaya tratados en poscosecha con extracto de hoja de pimienta y polisulfuro de calcio.....	74

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación geográfica del área de estudio.....	12
Figura 2. Localización y muestreo de las plantaciones infestadas por los fitopatógenos en diferentes regiones del estado de Chiapas.....	12
Figura 3. Sintomatología de los patógenos en diferentes órganos de las plantas.....	13
Figura 4. Cepas de diferentes hongos fitopatógenos: a) <i>Phytophthora</i> spp. aislado de cacao; b) <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> aislado de mango; c) <i>C. gloeosporioides</i> aislado de papaya; d) <i>Alternaria alternata</i> aislado de tomate.	14
Figura 5. Diseño metodológico de la investigación.....	15
Figura 6. Efectos <i>in vitro</i> de Preparados minerales al 40% sobre sobre <i>C. gloeosporioides</i> de papaya.....	24
Figura 7. Efecto del polisulfuro de calcio al 30, 20 y 10% [V:V] sobre <i>C. gloeosporioides</i> aislado de papaya.....	26
Figura 8. Efecto <i>in vitro</i> del polisulfuro de calcio al 5 y 3% [V:V] sobre <i>C. gloeosporioides</i> aislado de papaya.....	27
Figura 9. Efecto <i>in vitro</i> de los preparados minerales al 40% [V:V] sobre el crecimiento micelial de <i>C. gloeosporioides</i> a 12 después de la siembra.....	28
Figura 10. Efectos <i>in vitro</i> de CBS y PC sobre <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> aislado de mango.....	29
Figura 11. Aspecto del crecimiento micelial de <i>Alternaria alternata</i> aislado de tomate.....	32
Figura 12. Efecto de polisulfuro de calcio sobre <i>A. alternata</i> aislado de tomate.....	34
Figura 13. Efecto <i>in vitro</i> de los preparados minerales al 40% sobre <i>Phytophthora</i> spp.....	35
Figura 14. CMI de CV, CBP, CBS y PC sobre <i>Phytophthora</i> spp. en cacao..	36
Figura 15. Determinación de CMI de PC sobre el crecimiento de <i>Phytophthora</i> spp. en cacao.....	38
Figura 16. Efecto de los extractos vegetales sobre <i>C. gloeosporioides</i> aislado de papaya.....	39
Figura 17. CMI de pimienta hoja sobre <i>C. gloeosporioides</i> aislado de papaya.....	41
Figura 18. Efecto de los extractos vegetales al 40% sobre crecimiento de <i>C. gloeosporioides</i> aislado de mango.....	42
Figura 19. Efecto <i>in vitro</i> de los extractos de pimienta hoja y maguey morado sobre <i>C. gloeosporioides</i> aislado de mango.....	43
Figura 20. Efectos de inhibición de los extractos de plantas en el crecimiento micelial de <i>A. alternata</i> .....	45
Figura 21. Efecto de inhibición de pimienta hoja sobre el crecimiento de <i>A. alternata</i> aislada de tomate.....	47
Figura 22. extractos vegetales sobre el crecimiento de <i>Phytophthora</i> spp. aislado de cacao.....	48

Figura 23. Efecto de inhibición de los extractos vegetales sobre el crecimiento de <i>Phytophthora spp.</i> aislado de cacao.....	50
Figura 24. Evaluación de medios de cultivo para la formación de conidias de <i>C. gloeosporioides</i> durante cinco horas de conteo.....	56
Figura 25. Evaluación de medios de cultivo para la formación de conidias germinadas de <i>C. gloeosporioides</i> durante cinco horas de conteo.....	56
Figura 26. Evaluación de medios de cultivo para la formación de conidias de <i>A. alternata</i> aislado de tomate durante cinco horas de conteo.....	57
Figura 27. Evaluación de medios de cultivo para la formación de conidias germinadas de <i>A. alternata</i> aislado de tomate durante cinco horas de conteo.....	58
Figura 28. Efecto del polisulfo de calcio y extracto de hoja de pimienta sobre la formación de conidios de <i>C. gloeosporioides</i> aislado de papaya durante cinco horas de conteo.....	60
Figura 29. Efectos de los tratamientos sobre la formación de conidias germinadas de <i>C. gloeosporioides</i> aislado de papaya durante las cinco horas de evaluación.....	61
Figura 30. Efectos ejercidos por PC y hoja de pimienta sobre <i>C. gloeosporioides</i> a las 96 horas; A) Degradación y ruptura de la pared celular, B) Espora deshidratada por la exposición al extracto vegetal y/o preparado mineral.....	61
Figura 31. Efecto del extracto de hoja de pimienta y CBS sobre la formación de conidios de <i>C. gloeosporioides</i> aislado de mango durante cinco horas de conteo.....	62
Figura 32. Efecto del extracto de hoja de pimienta y CBS en la formación de conidias germinadas de <i>C. gloeosporioides</i> aislado de mango durante cinco horas de conteo.....	63
Figura 33. El efecto del extracto de pimienta hoja y polisulfuro de calcio en la formación de conidias de <i>Alternaria alternata</i> aislado de tomate durante cinco horas de conteo.....	64
Figura 34. El efecto del extracto de pimienta hoja y polisulfuro de calcio en la formación de conidias germinadas de <i>A. alternata</i> aislado de tomate durante cinco horas de conteo. ....	65
Figura 35. Efectos ejercidos por PC y extracto de hoja de pimienta sobre <i>Alternaria alternata</i> aislado de tomate a las 48 horas; A) Espora normal del patógeno, B) Degradación y ruptura de la pared celular, C) Espora deshidratada por la exposición al extracto vegetal y/o preparado mineral....	66
Figura 36. Cuantificación de zoosporas de <i>Phytophthora spp.</i> aislado de cacao durante cinco horas de conteo. ....	67
Figura 37. Severidad por antracnosis en frutos de mango.....	70
Figura 38. Daño interno por antracnosis en frutos de mango.....	71
Figura 39. Severidad por antracnosis en frutos de papaya después de 7 días de evaluación.....	72
Figura 40. Efecto de los tratamientos en pre y pos-inoculación sobre <i>C. gloeosporioides</i> en frutos de papaya.....	73

## RESUMEN

*Theobroma cacao* L., *Solanum lycopersicum*, *Mangifera indica* L. y *Carica papaya* L. son cultivos de importancia económica para los productores del estado Chiapas, estas especies enfrentan una serie de enfermedades que afectan en pre y poscosecha, tales como: el moho negro en tomate (*Alternaria alternata*), mancha negra en cacao (*Phytophthora* spp.) y antracnosis en mango y papaya (*Colletotrichum gloeosporioides*). Estas enfermedades ocasionan pérdidas económicas y una crisis productiva, ya que para su control es común utilizar plaguicidas sintéticos, a veces de manera indiscriminada que además del daño ambiental y a la salud han encarecido los costos de producción. Dadas las escasas alternativas para el manejo y control de éstas enfermedades, así como la creciente demanda de productos limpios y libres de plaguicidas sintéticos, se planteó la siguiente investigación, la cual tiene como objetivo determinar la efectividad de extractos vegetales (E) y preparados minerales (PM) sobre *C. gloeosporioides* aislado de *M. indica* y *C. papaya*, *Phytophthora* spp. de *Th. cacao* y *A. alternata* de *S. lycopersicum*. La investigación se realizó en el periodo 2015-2017 en las instalaciones del Laboratorio de Agrotecnologías de la AUDES Cacao-Chocolate, de la Universidad Autónoma de Chiapas, la investigación constó de cuatro etapas: Etapa 1. Aislamiento de los hongos y determinación de la efectividad de preparados minerales. En condiciones de laboratorio se aislaron y cultivaron los patógenos en medio de Papa-Dextrosa-Agar (PDA). Se elaboraron seis preparados minerales (PM): caldo visosa (CV); caldo bordelés más permanganato de potasio (CBP); caldo bordelés más sulfato de zinc y sulfato de magnesio (CBS); caldo de bicarbonato de sodio (BiS); caldo silicosulfocálcico (SSC) y polisulfuro de calcio (PC). Etapa 2. Efectividad de extractos vegetales sobre hongos: La elaboración de extractos vegetales (E) de *Pimenta dioica* (hoja y fruto), *Tradescantia spathacea* Swartz y *Zingiber officinale* Roscoe fue mediante hidroddestilación. Para las etapas 1 y 2 se realizó un primer ensayo para cada patógeno al 40% de concentración de PM/E (volumen:volumen [V:V]) mediante la técnica de medio envenenado en PDA. Se tuvo un testigo absoluto (PDA) y testigo químico (producto comercial para cada patógeno). Las variables evaluadas fueron crecimiento del micelio, esporas totales y germinadas. Para aquellos PM/E que presentaron inhibición total del crecimiento y desarrollo del patógeno, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) evaluando concentraciones de 30, 20 y 10% (V:V). La unidad experimental fue una caja Petri y los tratamientos se distribuyeron con un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. Etapa 3. Determinación del efecto sobre la formación de esporas: Previamente se realizó un ensayo para establecer el mejor medio líquido de para cada patógeno, posteriormente se ejecutó la prueba en medio líquido con el mejor producto (PM/E) que ejerció el mejor efecto inhibitorio sobre cada patógeno. Las variables cuantificadas: número de esporas totales y germinadas a las 0, 24, 48, 72 y 96 h después de la inoculación de los tubos. Etapa 4. Efectividad de extractos y preparados minerales sobre *C. gloeosporioides* en poscosecha. Con los resultados de las etapas anteriores y una vez establecidos los mejores E/PM y su CMI, se evaluaron el efecto

de la aplicación sobre frutos sanos en etapa de inicio de maduración de papaya cv. Maradol y mango cv. Ataulfo. En cada tratamiento se utilizaron ocho repeticiones. En cada etapa el diseño utilizado fue completamente al azar, con la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). (SPSS® versión 17 para Windows®), para la diferencia de medias. Los resultados indican que los preparados minerales de PC, CBS, CBP, SSC y CV al 40% (V: V) ejercieron diferentes grados de inhibición sobre *A. alternata* aislado de tomate, *Phytophthora spp.* aislado de cacao y *C. gloeosporioides* aislados de mango y papaya, presentando inhibición del crecimiento micelial del 35 al 100%, en conidias totales del 47.09 al 100% y germinadas del 95.67 al 100%. Aunque BiS no fue uno de los mejores tratamientos de los seis minerales evaluados, este ejerció cierto grado de inhibición en tres patógenos en relación al testigo absoluto, sin embargo, para *Phytophthora spp.* este tratamiento estimuló su crecimiento y desarrollo, similar al testigo absoluto. Se determinó que PC al 40% inhibió completamente el crecimiento y desarrollo de los cuatro patógenos, siendo su CMI al 40% para *C. gloeosporioides* aislado de mango, al 20% para *A. alternata* y al 10% para *C. gloeosporioides* aislado de papaya y *Phytophthora spp.* Respecto al efecto de CBS sobre *C. gloeosporioides* aislada de mango, esta presentó una CMI al 30%. Estos dos últimos tratamientos presentaron diferencias significativas con el testigo absoluto ( $P \leq 0.05$ ) y con el químico, superando los resultados obtenidos por éste. De los extractos vegetales, el tratamiento de hoja de *P. dioica* mostró los mejores efectos, al presentar inhibición del 100% en el crecimiento de micelio, formación y germinación de esporas de *C. gloeosporioides*, *Phytophthora spp.* y *A. alternata* en relación al testigo absoluto ( $P \leq 0.05$ ); mientras *T. spathacea* solo inhibió a *C. gloeosporioides* en *M. indica* y *Phytophthora spp.* en *Th. cacao*; los extractos del fruto de *P. dioica* y *Z. officinale* permitieron el crecimiento del micelio entre 70 al 100% ( $P \leq 0.05$ ). En poscosecha el extracto de hoja de *P. dioica* a concentración del 30% (mango) y 40% (papaya) aplicados 24 horas después de la inoculación (pos-inoculación) presentaron menor severidad y daño por antracnosis en los frutos, esta misma técnica funcionó para los tratamientos de CBS al 30% y PC al 10% al registrar valores menores al testigo químico e inoculado, mismo que presentaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). En conclusión los extractos de plantas como la hoja de *P. dioica* y *T. spathacea*, así como los preparados minerales polisulfuro de calcio y caldo bordelés con sulfatos de zinc y magnesio se perfilan con potenciales alternativas de control de hongos fitopatógenos como *C. gloeosporioides* aislado de *M. indica* y *C. papaya* L, *Phytophthora spp.* de *Th. cacao* y *A. alternata* de *S. lycopersicum*. En condiciones de poscosecha tanto el extracto obtenido de hoja de pimienta al 30%, como caldo bordelés con sulfatos de zinc y magnesio al 30% asperjados 24 horas o después de la inoculación del patógeno sobre frutos de mango y el polisulfuro de calcio al 10% en frutos de papaya permitieron reducir la aparición de *C. gloeosporioides*, así como reducir la severidad y el daño interno en frutos de papaya, superando los resultados de los tratamientos químicos, pudiendo ser alternativas para el manejo de éstos patógenos.

**Palabras clave: Hidrodestildos, Patógenos, *in vitro*.**

## ABSTRACT

*Theobroma cocoa* L., *Solanum lycopersicum*, *Mangifera indica* L. and *Carica papaya* L. are crops of economic importance for the producers of Chiapas state, these species face a series of diseases that affect in pre and post-harvest, such as: black mold in tomato (*Alternaria alternata*), black spot in cocoa (*Phytophthora* spp.) and anthracnose in mango and papaya (*Colletotrichum gloeosporioides*). These diseases cause economic losses and a productive crisis, since for its control it is common to use synthetic pesticides, sometimes indiscriminately, which in addition to environmental damage and health have increased production costs. Given the scanty alternatives for the managing and control of these diseases, as well as the increasing demand of clean and free products of synthetic pesticides, one raised the following investigation, which has as aim determine the efficiency of vegetable extracts (E) and prepared minerals (PM) on *C. gloeosporioides* isolated of M. to indicate and *C. papaya*, Th.'s *Phytophthora* spp. cocoa and *A. alternata* of *S. lycopersicum*. The investigation fulfilled in the period 2015-2017 in the facilities of Agrotecnologías's Laboratory of the AUDES Cocoa-chocolate, of Chiapas's Autonomous University, the investigation consisted of four stages: Stage 1. Isolation of the fungi and determination of the efficiency of prepared minerals. In laborator conditions they isolated and cultivated the pathogenic ones in the middle of Pope-Dextrosa-Agar (PDA). There were elaborated six prepared minerals (PM): broth visosa (CV); broth bordelés more permanganate of potassium (CBP); broth bordelés more sulfate of zinc and sulfate of magnesium (CBS); broth of bicarbonate of sodium (BiS); broth silicosulfocálcico (SSC) and polysulphur of (PC) calcium. Stage 2. Efficiency of vegetable extracts on fungi: The production of vegetable extracts (E) of *Pimenta dioica* (leaf and fruit), *Tradescantia spathacea* Swartz and *Zingiber officinale* Roscoe was by means of hidrodestilación. For the stages 1 and 2 the first test was realized for every pathogenic one to 40 % of PM/E's concentration (volumen: volumen [V:V]) by means of the technology of way poisoned in PDA. There was had an absolute witness (PDA) and chemical witness (commercial product for every pathogenic one). The variables evaluated were growth of the mycelium, total spores and germinated. For those PM/E that showed total inhibition of growth and development of the pathogen, the minimum inhibitory concentration (CMI) was determined by evaluating concentrations of 30, 20 and 10% (V:V). The experimental unit was a Petri dish and the treatments were They distributed with a completely randomized design with four replicates. Stage 3. Determination of the effect on the formation of spores: Previously a trial was performed to establish the best liquid medium for each pathogen, then the test was executed in liquid medium with the best product (PM/E) that exerted the best effect Inhibitory over each pathogen. The quantified variables: number of total and germinated spores at 0, 24, 48, 72 and 96 h after inoculation of the tubes. Stage 4. Effectiveness of extracts and mineral preparations on *C. gloeosporioides* in post-harvest. With the results of the previous stages and once the best E/PM and its CMI were established, the effect of the application on healthy fruits at the beginning stage of maturation of papaya CV was evaluated. Maradol and Mango CV. Ataulfo. Eight



replicates were used in each treatment. At each stage the design used was completely random, with the Tukey test ( $P \leq 0.05$ ). (SPSS ® version 17 for Windows ®), for the mean difference. The results indicate that the mineral preparations of PC, CBS, CBP, SSC and CV at 40% (V: V) exerted different degrees of inhibition on *A. Alternata* isolated from tomato, *Phytophthora* spp. Isolated from cocoa and *C. Gloeosporioides* isolated from mango and papaya, presenting inhibition of mycelial growth from 35 to 100%, In total conidia from 47.09 to 100% and germinated from 95.67 to 100%. Although BiS was not one of the best treatments of the six minerals evaluated, it exerted a certain degree of inhibition in three pathogens in relation to the absolute control, however, for *Phytophthora* spp. This treatment stimulated its growth and development, Similar to the absolute witness. It was determined that PC at 40% completely inhibited the growth and development of the four pathogens, with its CMI at 40% for *C. gloeosporioides* isolated from Mango, 20% for *A. Alternata* and 10% for *C. gloeosporioides* isolated from papaya and *Phytophthora* spp. Regarding the effect of CBS on *C. gloeosporioides* isolated from Mango, this presented a CMI to 30%. These last two treatments showed significant differences with the absolute control ( $P \leq 0.05$ ) and with the chemical, surpassing the results obtained by this one. Of the vegetal extracts, the treatment of *P. Dioica* Leaf showed the best effects, by presenting inhibition of 100% in the growth of mycelium, formation and germination of spores of *C. gloeosporioides*, *Phytophthora* spp. and *A. Alternata* in relation to the absolute control ( $P \leq 0.05$ ); While *T. Spathacea* only inhibited *C. gloeosporioides* in *M. indica* and *Phytophthora* spp. In *Th. Cacao*; The extracts of the fruit of *P. Dioica* and *Z. Officinale* allowed the growth of the mycelium between 70 to 100% ( $P \leq 0.05$ ). In Postharvest *P. Dioica* leaf extract at a concentration of 30% (mango) and 40% (papaya) applied 24 hours after inoculation (post-inoculation) showed less severity and damage by anthracnose in the fruits, this same technique worked for the Treatments of CBS at 30% and PC at 10% by registering lower values to the chemical and inoculated control, which showed significant differences ( $P \leq 0.05$ ). In conclusion the plant extracts such as the leaf of *P. Dioica* and *T. Spathacea*, as well as the mineral preparations of calcium polysulfide and Bordeaux broth with zinc sulphates and magnesium are profiled with potential alternatives of control of phytopathogenic fungi as *C. gloeosporioides* isolated from *M. indica* and *C. Papaya* L, *Phytophthora* spp. of *Th. Cacao* and *A. Alternata* of *S. Lycopersicum*. In post-harvest conditions both the extract obtained from pepper leaf to 30%, as Bordeaux broth with zinc sulphates and 30% magnesium sprinkled 24 hours or after inoculation of the pathogen on mango fruits and calcium polysulfide at 10% in papaya fruits they allowed to reduce the emergence of *C. gloeosporioides*, as well as reducing the severity and internal damage in papaya fruits, surpassing the results of the chemical treatments, being able to be alternatives for the management of these pathogens.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas sintéticos han contribuido sustancialmente al mejoramiento de la productividad agrícola, pero su uso ha tenido efectos adversos que incluyen el deterioro ecológico y daños a la salud humana.

El servicio de información toxicológica (SINTOX, 2015) registró 54 a 1069 casos de intoxicación por sobreexposición a agroquímicos durante el periodo del 1994 al 2014, donde el estado de Chiapas ocupa el tercer lugar a nivel nacional, este se ha visto evidenciado por el uso inadecuado y la alta frecuencia de aplicaciones de plaguicidas en los cultivos de mango, papaya, tomate, chile, plátano y palma de aceite. Considerando el incremento en la demanda de productos limpios y orgánicos, así como las escasas investigaciones en el control alternativo de hongos fitopatógenos y la baja oferta tecnológica local. Se requiere el estudio y desarrollo de tecnologías que permitan el control de patógenos cosmopolitas como *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phytophthora* spp. y *Alternaria alternata* que afectan a cultivos de importancia económica y social para el estado de Chiapas tales como cacao, tomate, mango y papaya.

Una de las estrategias que han mostrado buenos resultados para el manejo de problemas fitosanitarios es la aplicación de extractos vegetales y preparados minerales, los cuales tienen varias ventajas tales como su alta efectividad, facilidad de preparación, bajos costos de producción, además son aceptados dentro de los sistemas de producción orgánica y no requieren altas inversiones para su preparación o aplicación. En el aspecto ambiental los usos de estos productos son eficientes y eficaces ya que controlan organismos fitopatógenos, no afectan la fauna y flora asociada al cultivo, disminuyen la contaminación hídrica, eólica y del suelo. Además, aportan una mayor sostenibilidad en los sistemas de producción y son económica, ecológicamente y técnicamente viables para los productores. Sin embargo, son pocas las investigaciones que se realizan en el estado Chiapas para el uso de estas tecnologías de manejo que permitan brindar alternativas para el control de estos graves problemas fitopatológicos.

La utilización de los extractos de *Pimenta dioica* L., *Tradescantia spathacea* Swartz, *Zingiber officinale* Roscoe y preparados minerales se ha documentado para el control de enfermedades de importancia económica (Ramírez *et al.*, 2011; Ochoa *et al.*, 2017). Sin embargo, se desconoce su efecto sobre la antracnosis (*C. gloeosporioides*) de mango y papaya, mancha negra (*Phytophthora* spp.) en cacao y pudrición negra (*Alternaria alternata*) en tomate.

## 1.1 Objetivos

### Objetivo general

Determinar la efectividad de extractos vegetales y preparados minerales sobre *C. gloeosporioides*, *Phytophthora* spp. y *Alternaria alternata* causantes de enfermedades en cultivos de importancia económica.

### Objetivos específicos

- a) Seleccionar *in vitro* los extractos y preparados minerales que logren reducir el crecimiento y desarrollo de *C. gloeosporioides* aislados de mango y papaya, de *Phytophthora* spp. aislado de cacao y *A. alternata* en tomate.
- b) Determinar la concentración mínima inhibitoria de los extractos vegetales y preparados minerales sobre *C. gloeosporioides* aislados de mango y papaya, de *Phytophthora* spp. aislado de cacao y *A. alternata* aislado de tomate.
- c) Establecer en condiciones de poscosecha el efecto inhibitorio del mejor extracto de planta y preparado mineral sobre *C. gloeosporioides* en papaya y de mango.

## 1.2 Hipótesis

- a) Los extractos vegetales y preparados minerales son capaces de reducir *in vitro* significativamente el crecimiento y desarrollo de *C. gloeosporioides* aislados en mango y papaya y de *Phytophthora* spp. en cacao y *A. alternata* en tomate.
- b) Al menos uno de los extractos vegetales y preparados minerales reduce el daño poscosecha ocasionado por *C. gloeosporioides* en frutos de mango y papaya.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Hongos fitopatógenos

#### 2.1.1 *Phytophthora* spp. en cacao

*Phytophthora* spp. es considerado un importante fitopatógeno en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.), ya que se encuentra diseminada en todas las regiones cacaoteras (Evans, 2007; Ortiz, 2004). Este hongo es de la clase Oomycetes, afecta a cualquier órgano del árbol (frutos, flores, ramas, tronco, raíces y renuevos). Las pérdidas a nivel mundial son del 40 y 50% de la producción; en México las pérdidas oscilan entre 40 y 80% en las regiones de Chiapas y Tabasco (Suárez, 1979; López *et al.*, 1996; Córdova *et al.*, 2001; López *et al.*, 2002; Castillo, 2003; Ortiz, 2004).

En campo, la enfermedad presenta dos fases: una de sobrevivencia y otra epidémica cuando la plantación está en fructificación, López *et al.* (2002) mencionan que es necesaria la integración de diversas prácticas que deben estar orientadas a la reducción del inóculo primario, a la disminución de las condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad y a la protección de los frutos formados. El principal método de control de *Phytophthora* spp. se ha basado en el uso de fungicidas convencionales, este método ha perdido eficacia (Enríquez, 2003), por los costos elevados y la generación de cepas resistentes.

#### 2.1.2 *Alternaria alternata* en tomate

*Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl, es una especie cosmopolita que se encuentra como saprófito facultativo en un amplio rango de hospedantes y en subproductos (Andersen *et al.*, 2001; Carrillo, 2003). Este hongo presenta un micelio de color oscuro, conidios grandes, alargados y oscuros, o bien multicelulares en forma de pera con septos tanto transversales como longitudinales. Los conidios germinan y se introducen por los tejidos susceptibles a través de heridas y en poco tiempo producen nuevos conidios que pueden ser diseminados por el viento (Carrillo, 2003; Agrios, 2005).

*Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl, es una de las principales enfermedades que afecta a frutos de tomate (*Solanum lycopersicum*.) en campo y en poscosecha, puede comportarse como oportunista o infectar por sí solo, y sus lesiones iniciales aumentan cubriendo el fruto con un moho negro (Rotem, 1994). El control de este fitopatógeno se realiza con el uso de agroquímicos sintéticos el cual han ocasionado diversos problemas como la toxicidad a los usuarios (Whalen *et al.*, 2003), detención de exportaciones por residuos en producto de consumo y daños al medio ambiente (Ramírez y Jacobo, 2002), así como afectación de organismos benéficos (Anderson *et al.*, 2003). Otro aspecto importante es que los microorganismos fitopatógenos han generado resistencia al ingrediente activo de algunos fungicidas sintéticos (Leroux, 2003), como respuesta a la presión de selección debido a las altas dosis y aplicaciones continuas, ocasionando grandes pérdidas económicas. Hernández *et al.* (2005) y

Sánchez *et al.* (2005) reportan el uso de quitosano a concentración de 2.5% para inhibir esporulación, crecimiento vegetativo y germinación de esporas de este patógeno.

### **2.1.3 *Colletotrichum gloeosporioides* en mango**

La antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc.) es una de las enfermedades más importantes del mango (*Mangifera indica* L.) (Arauz, 2000), debido a que ocasiona disminución de la producción, deterioro de la calidad del fruto y fuertes pérdidas poscosecha; principalmente en regiones con temperatura y humedad relativas elevadas (Derbyshire y Shipway, 1978; Jeffries *et al.*, 1990). Esta enfermedad se encuentra distribuida en todas las regiones productoras de México con ataques severos en floración, fructificación y poscosecha, ocasionando pérdidas que varían del 15 al 50% (Becerra, 1995).

Existen diferentes alternativas para control en precosecha y poscosecha entre los que se encuentran el uso de aire caliente, tratamientos hidrotérmicos, atmósferas modificadas (Karabulut y Baykal, 2004; Gutiérrez *et al.*, 2004; Ragazzo *et al.*, 2015), luz ultravioleta, ozono (Cia *et al.*, 2009), extractos de plantas (Bautista-Baños *et al.*, 2003) y microorganismos agentes de control biológico que actúan como antagonismo contra diversos patógenos como *Rhodotorula minuta*, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma* spp., por mencionar algunos (Janisiewicz y Korsten, 2002; Spadaro y Gullino, 2004; Vos *et al.*, 2014). Sin embargo, el uso de fungicidas sintéticos sigue siendo (Becerra, 1995; Orozco, 1992) la principal estrategia de manejo poscosecha de esta enfermedad.

Existen restricciones de orden 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 (Astua *et al.*, 1994; Gutiérrez *et al.*, 2003).

### **2.1.4 *Colletotrichum gloeosporioides* en papaya**

El cultivo de la papaya (*Carica papaya* L.), ha venido en aumento, debido a la elevada demanda, alta rentabilidad del cultivo y rapidez en su producción; sin embargo es afectado por la antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., es considerada como la principal enfermedad poscosecha siendo limitante en países productores como Hawái, México, y en muchas más regiones tropicales, (CropLife Latin America, 2017) ocasiona pérdidas significativas en campo y poscosecha entre un 10 al 75%. El manejo que se da comercialmente es principalmente con el uso de fungicidas.

El tratamiento hidrotérmico es asimismo efectivo en el control de la antracnosis que es un daño ocasionado por el hongo *C. gloeosporioides*. Este hongo es capaz de atacar a los frutos en cualquier estado de desarrollo, aunque se presenta con mayor intensidad en los frutos maduros. La fruta madura o mal formada puede ser utilizada en la industria de procesamiento.

## **2.2 Alternativas en el manejo de fitopatógenos**

### **2.2.1 Extractos vegetales**

La utilización de plantas se realiza desde los inicios de la especie humana y se ha empleado de forma empírica por las virtudes toxicológicas, farmacológicas y alucinógenas antes de su real descubrimiento por la fitoquímica (Vergara, 1997).

Los plaguicidas naturales son utilizados como una alternativa para el manejo de problemas fitosanitarios, los que comprenden: fungicidas, fungistáticos, insecticidas, antialimentarios, inhibidores de crecimiento, hormonas, atrayentes, repelentes y disuasorios, a través de la liberación de sustancias químicas (Whittaker y Feeny, 1971; Liebman y Ohno, 1998).

La importancia de las plantas se debe a que contienen principios activos en algunos de sus órganos, los cuales, extraídos en forma adecuada y administrados en dosis suficientes, producen efectos curativos que permiten el manejo de microorganismos fitopatógenos y de insectos-plaga en los cultivos (Ramírez, 2013). Vergara (1997), menciona características que deben poseer los plaguicidas naturales, tales como: ocupar poco espacio para su producción, ser perennes, necesitar poca agua y fertilización, esta no debe destruirse cada que se obtienen material de sus partes para elaborar extractos, que no se conviertan en maleza ni traigan plagas de cultivos y que además posean usos complementarios.

Existe una amplia gama de plantas que producen una diversidad de metabolitos secundarios tóxicos, esta característica les permite actuar como antagonistas de patógenos bióticos y plagas. Su potencial antagonista se puede explotar al rotarlas o asociarlas en el sistema de producción, así como la incorporación de los residuos al suelo (Zavala, 1999). Otra forma de aprovechar dicho antagonismo es mediante la preparación de extractos o infusiones a partir de sus tejidos citado por Zavala, 1999 (García y Montes, 1992; Montes *et al.*, 1992, 1993, 1997; Fraire *et al.*, 1993; Campos *et al.*, 1994; Díaz, 1994; Medrano *et al.*, 1994; Díaz-Plaza, 1996; Verduzco *et al.*, 1996).

Los productos naturales o extractos vegetales han jugado un papel significativo en el descubrimiento de nuevos fungicidas y bactericidas. El uso de fungicidas naturales se remonta a agricultores romanos quienes usaron varios extractos en el control de infecciones fúngicas en sus cultivos. Los extractos pueden ser usados como un extracto crudo para aplicación directa a los cultivos. Alternativamente una vez purificado el ingrediente activo puede ser formulado en mezclas o puede ser usado con productos sintéticos (Godfrey, 1994).

Los extractos vegetales son sustancias y compuestos que se obtienen de tejido vegetal (hojas, tallos, flores o frutos) que son producidos por la planta por su metabolismo secundario. Los principios activos pueden ser sustancias simples o bien mezclas complejas. Los componentes activos de las plantas son alcaloides, lípidos, gomas, mucílagos, principios amargos, taninos, aceites esenciales, resinas, bálsamos,

oleorresinas, ácidos orgánicos, enzimas y vitaminas, estos ejercen acción farmacológica.

Los metabolitos secundarios (alcaloides, esteroides, terpenoides, flavonoides, etc.) son compuestos químicos de estructura relativamente compleja, se encuentran en menor proporción en la planta y su distribución es más restringida. La forma más utilizada de extraer estos metabolitos es mediante técnicas simples y fáciles, como infusiones, extracción con alcohol, maceración o fermentación (Ramírez, 2006) a partir de sus tejidos (Duke *et al.*, 2002).

Diversas investigaciones han reportado la actividad antifúngica de los extractos vegetales, aceites esenciales y sus compuestos realizando pruebas *in vitro*, en invernadero y en campo; utilizando diversos métodos de extracción de los metabolitos y mostrando variación de respuestas dependiendo de la especie, la parte utilizada, la concentración, la cepas de fitopatógenos y de la técnica de evaluación utilizada (Wilson *et al.*, 1997; Gogoi *et al.*, 1997; Pitarokili *et al.*, 1999; Meepagala *et al.*, 2002; Hernández *et al.*, 2007; Ramírez, 2013).

### **2.2.1.1 Maguey morado**

El maguey morado (*Tradescantia spathacea* Swartz) es una planta originaria de Yucatán, se distribuye en México, Centroamérica y las Antillas (Reséndez, 1996). Es una planta ampliamente utilizada en la medicina tradicional en Tabasco, es usada para el tratamiento de heridas infectadas, pústulas, hinchazón, gangrena, para contrarrestar el efecto de la mordedura de serpiente y acelerar la cicatrización. Esta planta contiene propiedades como antioxidantes, antígenotóxicas, antimutagénicas, además de carotenos, polifenoles de tipo flavonoides y compuestos cumarínicos (González *et al.*, 2003).

Diversas investigaciones reportan el uso del maguey morado para el control *in vitro* de fitopatógenos; Reyes *et al.* (2009) mencionan que las hojas de maguey morado fresco contienen humedad de 91 y 91.5% y Ramírez *et al.* (2007) indican que el extracto de maguey morado (*T. spathacea* Swartz) a concentración del 50% (V:V) controla a *Phytophthora palmivora* de cacao en condiciones de laboratorio, mientras a concentraciones del 30% (V:V) inhibe totalmente a *Moniliophthora roreri* empleando el método de hidrodestilación (Ramírez *et al.*, 2011).

Pupo *et al.* (2011) mencionan que el maguey morado tiene efecto antifúngico frente al agente causal del tizón temprano del tomate (*Solanum lycopersicum*), con inhibición menor al 10%. Resultados de Tamayo *et al.* (2016) reportan que el extracto de *T. spathacea* Swartz fresco al 50% de concentración inhibió la formación de conidias de *M. roreri*, mientras que al 40% (V: V) presentó la formación de conidios; sin embargo, estas no lograron formar el tubo germinativo.

### 2.2.1.2 Jengibre

El jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) es una de las plantas medicinales más importantes en varios países. Es consumido en todo el mundo como un agente de especias y sabor de la antigüedad, además aporta beneficios para el cuerpo humano ya que cura varios tipos de enfermedades. Nguefack *et al.* (2004) menciona el efecto inhibitorio de *Z. officinale* sobre tres hongos procedentes de alimentos (*Fusarium moniliforme*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus fumigatus*), utilizando el método por destilación.

Se ha documentado el uso del jengibre en el control de diferentes enfermedades en cultivos de importancia económica, debido a su potencial antifúngico. Reportes de Ramírez, *et al.* (2007) indican que *Z. officinale* Roscoe a concentración del 50% (V:V) controla *in vitro* a *P. palmivora* en cacao, al no presentar crecimiento radial del micelio y formación de zoosporas. Los mismos autores (Ramírez *et al.*, 2011) reportan la acción antifúngica sobre *M. roreri* al inhibir al 100% el crecimiento y desarrollo del patógeno utilizando concentraciones del 50, 40 y 30% (V:V). Esta planta contiene gingerol que es una molécula orgánica que se deriva de la familia de los gingeroles y aproximadamente 2-3% del rizoma son aceites volátiles compuestos por una mezcla de monoterpenos y sesquiterpenos (Ghosh *et al.*, 2011).

Estudios por Joya *et al.* (2015) muestran que los hidrolatos de jengibre, obtenidos tanto con material fresco como seco al sol, así como con solventes agua: alcohol (45 g/L, relación 10:1) permiten extraer metabolitos capaces de inhibir la germinación de conidias de *M. roreri*, evidenciando un alto potencial de los hidrodestilados obtenidos de jengibre en el manejo de este patógeno. Tamayo *et al.* (2016) mencionan que el uso de jengibre a concentraciones de 50 y 40% es efectivo en el control *M. roreri*, donde fundamenta que esta posee metabolitos capaces de inhibir el crecimiento y formación de conidias del hongo, utilizando planta fresca o seca, por el método de hidrodestilación.

### 2.2.1.3 Pimienta fruto y hoja

La pimienta gorda (*Pimenta dioica* L.), también conocida como “allspice” por su sabor parecido al clavo y la canela, pertenece a la familia Myrtaceae. Es una especie mesoamericana y caribeña de consumo popular y exportación en Jamaica y México (León, 1987). Esta planta presenta una notable actividad antifúngica, en especial el aceite esencial extraído de las hojas y frutos (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009). En hojas poseen compuestos como los monoterpenos delta-cadineno, 1-8-cineol, para-cimeno, limoneno, linalol, cis- y trans-beta-ocimeno, alfa-felandreno, alfa-pineno, saboneno, terpin-1-en-4-ol, gama-terpineno y terpinoleno; los sesquiterpenos beta-cariofileno, alfa-copaeno, alfa-guneno, alfa-humuleno, alfa-muroleno y alfa-selineno; y los componentes ferúlicos coniferaldehído, eugenol, su éter metílico e isoeugenol; en fruto se ha identificado componentes fenílico coniferaldehído, flavonoides ramnósidos, xilósido de quercetín e isoquercetín y ferúlico eugenol.



Diversos estudios han demostrado el antifúngico del extracto de pimienta. Hernández *et al.* (2003) indican actividad antifúngica de aceites de *P.dioica* L. y de *Ocimum tenuiflorum* L., encontrando el metabolito eugenol en mayor concentración, mientras Ramírez, *et al.* (2007) reportan inhibición total en el crecimiento y formación de zoosporas de *P. palmivora* en cacao mediante el empleo de pimienta obtenidos de los frutos y las hojas a concentración del 50% (volumen/volumen). Ramírez *et al.* (2016) en condiciones de laboratorio señalan que los extractos de fruto de pimienta obtenidos por destilación y asistido por microondas inhiben a *Colletotrichum gloeosporioides* a concentraciones del 30 y 20%, mientras el aceite esencial permite el crecimiento y formación de conidios superando al testigo, siendo su concentración mínima inhibitoria al 10% empleando el método de extracción por microondas, mientras por el método de destilación a la misma concentración permitió el crecimiento y desarrollo del patógeno. El mismo estudio reporta que los hidrolatos y aceites de *P. dioica* a concentraciones del 30% permiten el crecimiento micelial y formación de conidios de *Alternaria solani*. Ramírez *et al.* (2016) reportan que la concentración mínima inhibitoria del extracto de pimienta (fruto) con el método de extracción por microondas fue al 10%, al inhibir completamente a *C. gloeosporioides*, mientras por el método de destilación a concentración del 10% permitió el crecimiento y desarrollo del patógeno.

## **2.2.2 Preparados minerales**

Durante varios siglos se ha conocido el efecto positivo que tienen diferentes productos a base de sales inorgánicas y otros compuestos de origen natural en el control de numerosos problemas fitosanitarios. Los más estudiados, según indican Deliopoulos *et al.* (2010) son los bicarbonatos, fosfatos, silicatos, cloruros y fosfitos. Reuveni y Reuveni (1995) señalan algunas ventajas de estos productos como su bajo costo, la baja toxicidad para mamíferos y en general, un buen perfil de seguridad para el hombre y el ambiente; además es importante señalar que el uso de estos preparados minerales es aceptado en el marco de las normas de producción orgánica (Reglamento (CE) núm. 834/2007 y USDA-NOP).

### **2.2.2.1 Efecto de los preparados minerales sobre fitopatógenos**

Diversas investigaciones evidencian el efecto de los preparados minerales sobre fitopatógenos de diversos cultivos. En el caso del cacao, Ochoa *et al.* (2015) reportan que en condiciones *in vitro* al evaluar la actividad antifúngica de seis preparados minerales: caldo visosa (CV), caldo bordelés más permanganato de potasio (CBP), caldo bordelés más sulfato de zinc y sulfato de magnesio (CBS), caldo de bicarbonato de sodio (BiS), caldo silicosulfocálcico (SSC) y polisulfuro de calcio (PC) en el control de *M. royeri*, encontrando con mayor eficacia sobre este patógeno los tratamientos de SSC y PC al inhibir el 100 % de crecimiento micelial a concentraciones de 10 %. Por otro lado, la prueba en medio líquido mostró que a las 96 horas los preparados de SSC y PC fueron los más eficaces, llegando a reducir el número de esporas en 98.2 y 79.9 %.

Ochoa (2014) menciona que el primer reporte de utilización del caldo bordelés fue en Francia en 1882, a raíz de la introducción a Europa de *Plasmopara viticola* (Gessler *et al.*, 2011). Este preparado mineral se compone de sulfato de cobre e hidróxido de calcio y su efecto está dado principalmente por la inhibición en la germinación de las esporas de los hongos (Köller, 1999). Es uno de los preparados minerales más conocidos y que se ha empleado con éxito para controlar *P. palmivora* en el cacao (Hislop, 1963; Adejumo, 2005), En vid es aplicado para el control del mildiú *P. viticola* (Gessler *et al.*, 2011). Kiely (1950) reporta el control de la mancha negra (*Guignardia citricarpa*) en naranja Valencia con la aplicación de caldo bordelés en mezcla con un aceite blanco. En Guatemala, su aplicación para el control del ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en café, redujo la incidencia del 20% al 3% (Avelino *et al.*, 1992).

Restrepo (2007) señala que el caldo bordelés más permanganato de potasio se recomienda para los casos de ataques fuertes y simultáneos de mildiú y oídio, para ataques severos del tizón temprano (*Alternaria* spp.) y tardío (*Phytophthora* spp.), principalmente en tomate, papa y chiles; por su parte, el caldo bordelés más sulfatos de zinc y magnesio lo recomienda para controlar deficiencias nutricionales de estos elementos y estimular la proteosíntesis. Ochoa *et al.* (2015) mencionan la utilización de caldo bordelés más permanganato de potasio (CBP) y caldo bordelés más sulfatos de zinc y magnesio (CBS), mostraron un comportamiento similar entre ellos, inhibiendo completamente el crecimiento micelial de *M. roreri* en las concentraciones de 50, 40 y 30%.

El caldo visosa surgió en Brasil como resultado de investigaciones de la Universidad Federal de Viçosa (Brasil) para el control de la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix*). Según Restrepo (2007) este caldo ha sido adaptado para su uso en otros cultivos como vid, hortalizas y frutales. La fórmula original del caldo contiene urea, sin embargo, al no estar permitida en las normas de producción orgánica, se excluye este compuesto de la fórmula para uso en sistemas orgánicos. Heredia (2008) evaluó diferentes productos para el control de tres enfermedades en maracuyá y encontró que el caldo visosa redujo la severidad de *Phomopsis* spp. (calculada como porcentaje de área foliar infectada) de 11% en el testigo absoluto a 2.94%, aun cuando no logró reducir su incidencia; por otra parte, redujo la incidencia de *Xanthomonas campestris* de 33.5% a 9.1%.

Son escasos los aportes científicos sobre la utilización de caldo visosa, pero existen estudios sobre la acción fungicida de sus compuestos empleados para su preparación como el ácido bórico, sulfatos de cobre, zinc y magnesio. Citado por Ochoa (2014) menciona que Dreaden y Smith (2013) realizaron aplicación de ácido bórico (bórax) granulado previene la pudrición de la raíz de los pinos causada por *Heterobasidion annosum*, cuando se aplica después de los cortes realizados durante la cosecha de la madera. También se recomienda su uso para prevenir la podredumbre negra causada por *Ceratocystis fimbriata* en la patata dulce (*Ipomoea batatas*), mediante su inmersión en una solución de bórax antes de sembrarlas (Kluepfel *et al.*, 2012).

Otras investigaciones demuestran que el sulfato de zinc tiene propiedades antifúngicas sobre *Alternaria tenuis* (Singh y Khanna, 1969), *Spongospora subterranea* (Tomlinson y Hunt, 1987), *Leptosphaeria maculans* (Rouxel *et al.*, 1990), entre otros hongos. Otro de sus componentes es el sulfato de magnesio el cual ejerció una reducción significativa del mildéu polvoso en pepino y tomate cultivados bajo invernadero (Dik *et al.*, 2003).

El bicarbonato de sodio ha sido evaluado por su efecto contra varios patógenos en cucurbitáceas, vid, chile, tomate y otros cultivos (Deliopoulos *et al.*, 2010). La EPA (Environment Protection Agency of the United States, 2014) citado por Ochoa (2014) indican que este compuesto existe de forma natural y no se espera que tenga efectos adversos sobre el hombre o el medio ambiente cuando se usa como fungicida. Yildirim *et al.* (2002) citado por Ochoa *et al.* (2015) evaluaron bicarbonato de sodio para el control del mildéu polvoso (*Uncinula necator*) de la vid. Otros ensayos evaluaron plantas creciendo en macetas, mostrando que la aplicación de este producto antes de la inoculación con el patógeno redujo su habilidad para formar esporas, mientras que a nivel de viñedo mostró una baja eficacia contra la infección del patógeno. Dik *et al.* (2003) reportan alta eficacia contra el mildéu polvoso del pepino y el tomate, en Chile logró un control del 50 - 90% del oidium (*Leveillula taurica*) comparado con el testigo y en lechuga redujo la severidad del mildéu (*Bremia lactucae*) en un 70 – 80%. Otros estudios mencionan al bicarbonato de sodio al 1% como alternativa para el control de hongos poscosecha en naranjas valencia (*Citrus sinensis*) pero no para otros patógenos que causan pudriciones al fruto (Guédez *et al.*, 2010).

Dessalegn *et al.* (2013) citados por Ochoa *et al.* (2015) evaluaron diferentes tratamientos en poscosecha para el control de la antracnosis del mango, para la obtención de resultados efectivos contra esta enfermedad las frutas fueron inmersas en una solución de bicarbonato de sodio al 3% a 51.5 °C., y obtuvieron una severidad inferior al 5%, con una proporción de fruta comercializable del 93.3%, comparado con una severidad del 30% y 0% de fruta comercializable en el testigo. Estos autores concluyen que un manejo integrado que incluya el uso de bicarbonato de sodio, es una opción efectiva para el control de esta enfermedad.

El polisulfuro de calcio, es un preparado a base de azufre y óxido de calcio, con efecto fungicida e insecticida. Con mayor frecuencia se ha reportado su uso en frutales de hoja caduca, sin embargo, ha mostrado eficacia en diferentes cultivos. Se requiere precaución sobre la dosis y el momento de su aplicación, pues se ha documentado fitotoxicidad sobre varios cultivos, entre ellos manzana, cucurbitáceas y algunas leguminosas en floración (Holb, *et al.*, 2003; Restrepo, 2007). Ghorbani y Wilcockson (2007) señalan que el polisulfuro de calcio es especialmente efectivo contra mildiús polvosos y el tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans*). Desrosiers y Díaz (1955) encontraron efecto significativo de seis fungicidas, donde el más eficaz fue el azufre humectable logrando una reducción del 85% en porcentaje de infección y un

incremento del 290% en el rendimiento, aunque éste último se atribuye también al control ejercido sobre otros problemas fitosanitarios presentes en el cultivo.

Otros estudios mencionan que el hidróxido de cobre y el polisulfuro de calcio son de gran éxito debido a que su uso en bajas cantidades es aceptado por las normas de producción orgánica (Hidalgo *et al.*, 2003; Bateman *et al.*, 2005 y Krauss *et al.*, 2010). Por su parte Rojas *et al.* (2014) indican que el polisulfuro de calcio a concentraciones de 1,25; 2,25; 3; 3,75; y 4,5 L/hL registró eficiencia en el control de hongo *Neonectria ditissima*, causante de la enfermedad cancro europeo del manzano en un huerto cultivar Royal Gala, mientras Ramírez *et al.* (2011b) muestra que el polisulfuro de calcio presenta buen control sobre *M. roreri* en *Th. cacao* al reducir *in vitro* el número de conidias hasta el 74% en medio líquido y reducción del 100% de crecimiento en medio sólido, y en campo logró bajar la incidencia a 0.53% de frutos enfermos, frente a 21% en el tratamiento con manejo cultural y 69.6% en el testigo sin manejo.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Ubicación geográfica

La investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Agrotecnologías de la Universidad Autónoma de Chiapas ubicado en Ciudad Universitaria en Tuxtla Gutiérrez en las siguientes coordenadas geográficas 16°41'41.8" latitud norte y 93°11'08.6" longitud oeste (Figura 1).



Figura 1. Ubicación geográfica del área de estudio.

#### 3.2 Materiales

##### 3.2.1 Material biológico

Para el aislamiento de los patógenos se realizaron recorridos en las plantaciones de tomate, cacao, mango y papaya ubicadas en la región Centro, Frailesca y Soconusco del estado de Chiapas (Figura 2).

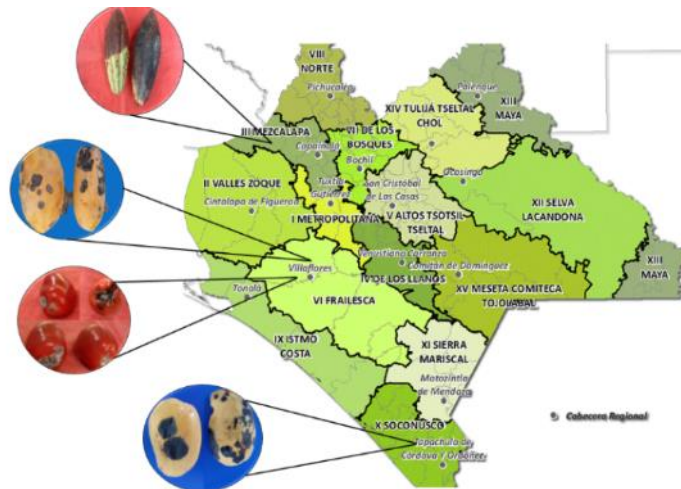


Figura 2. Localización y muestreo de las plantaciones infestadas por los fitopatógenos en diferentes regiones del estado de Chiapas.

El material vegetal con la sintomatología de los patógenos (Figura 3) se llevó al laboratorio y se procesaron las muestras (lavado, desinfección del tejido enfermo con hipoclorito de sodio al 5% durante 5 min) para realizar los aislamientos. Una vez en el laboratorio y en condiciones estériles se cortaron fragmentos de tejido enfermo con tejido sano y fueron sembrados en cajas Petri con medio de papa-dextrosa-agar (PDA) e incubados a  $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , luego se realizó la purificación y multiplicación de los aislamientos en medio PDA.

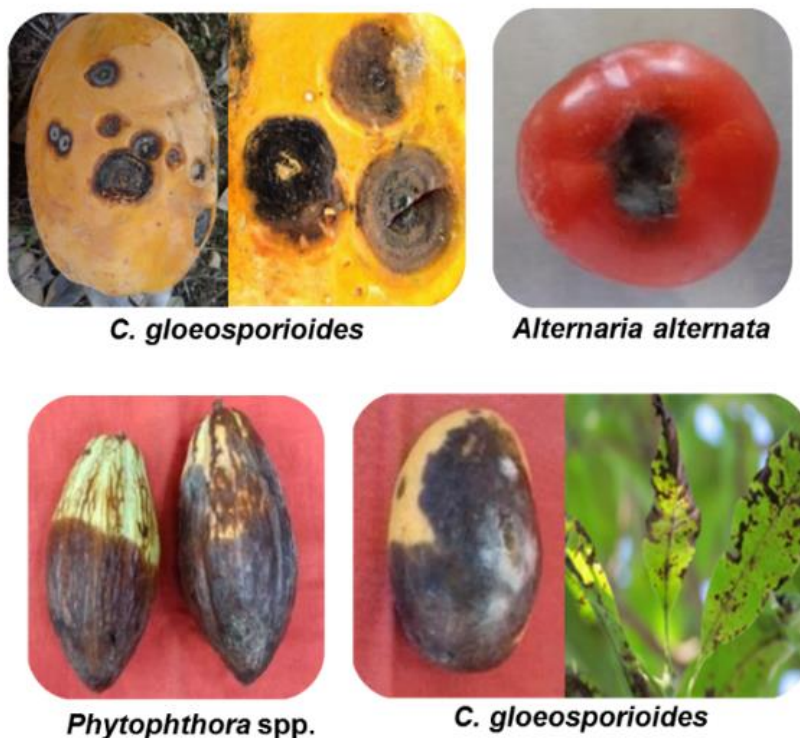


Figura 3. Sintomatología de los patógenos en diferentes órganos de las plantas.

Respecto al material biológico se utilizó *Alternaria alternata* aislado de tomate, *Phytophthora* spp. aislado de cacao, *Colletotrichum gloeosporioides* aislado de mango y papaya (Figura 4).

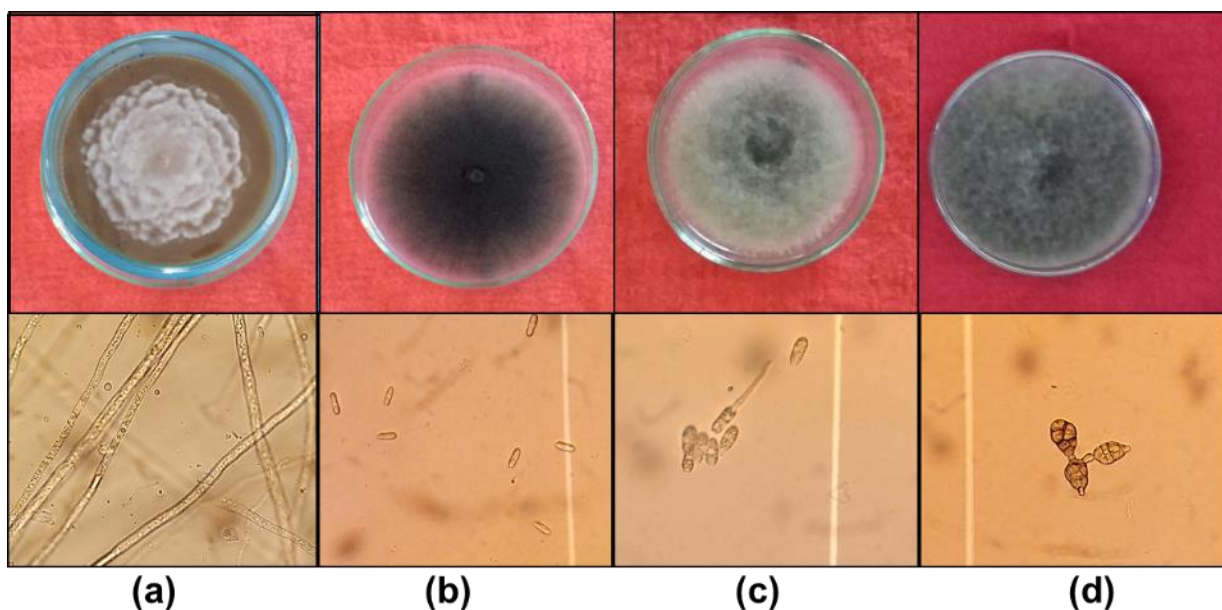


Figura 4. Cepas de diferentes hongos fitopatógenos: a) *Phytophthora* spp. aislado de cacao; b) *Colletotrichum gloeosporioides* aislado de mango; c) *C. gloeosporioides* aislado de papaya; d) *Alternaria alternata* aislado de tomate.

### 3.3 Métodos

Los pasos que se siguieron para el cumplimiento de los objetivos planteados, se desarrollaron en cuatro etapas (Figura 5):

Etapa 1: Consistió del estudio en medio semisólido de la efectividad de los preparados minerales sobre los patógenos (*C. gloeosporioides* de mango y papaya, *Phytophthora* spp. y *A. alternata*).

Etapa 2: Consistió del estudio en medio semisólido de la efectividad de los extractos vegetales sobre los patógenos.

Etapa 3: Determinación en medio líquido de los efectos sobre la formación de esporas de los mejores tratamientos de las etapas 1 y 2.

Etapa 4: Determinación de la efectividad de los extractos y preparados minerales sobre *C. gloeosporioides* en poscosecha en frutos de mango y papaya bajo condiciones de laboratorio.

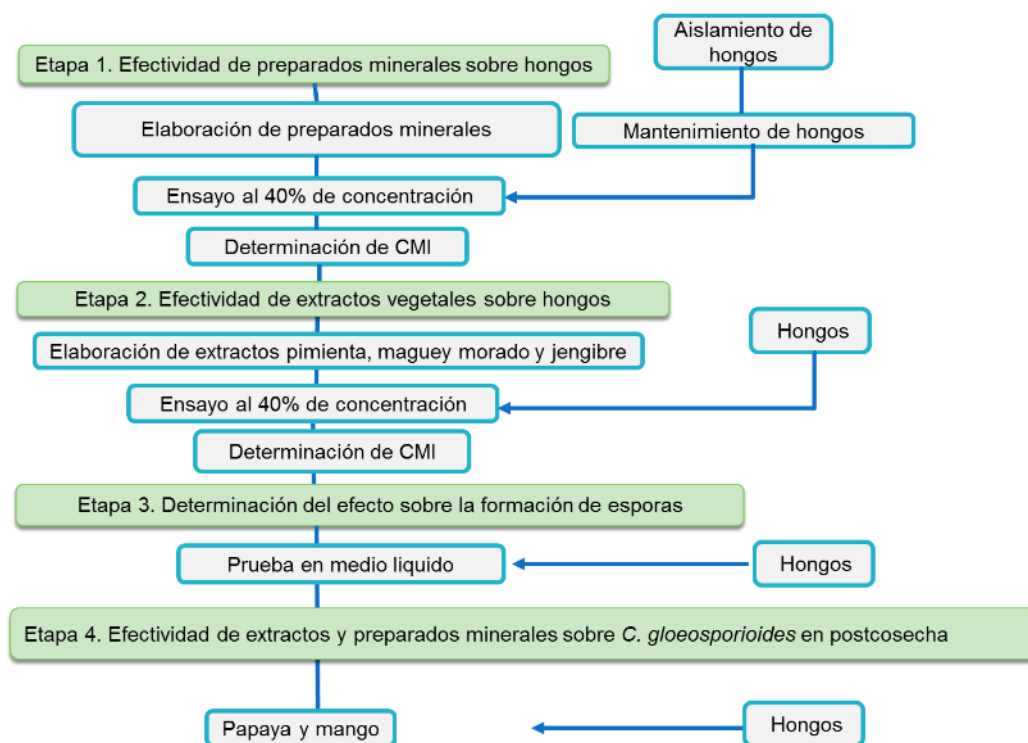


Figura 5. Diseño metodológico de la investigación.

### 3.3.1 Etapa 1. Efectividad de preparados minerales

#### 3.3.1.1 Elaboración de preparados minerales

Se realizó la preparación de seis preparados minerales: Caldo visosa (CV); Caldo bordelés (1%) + permanganato de potasio (0,125%) (CBP); Caldo bordelés (1%) + sulfato de zinc (0,05%) + sulfato de magnesio (0,05%) (CBS); Caldo de bicarbonato de sodio (BiS); Caldo silicosulfocálcico (SSC) y Polisulfuro de calcio (PC). Para su elaboración se utilizaron elementos y compuestos grado analítico, siguiendo la composición indicada por Restrepo (2007) y Ramírez *et al.* (2011) (Cuadro 1).

#### 3.3.1.2 Montaje de ensayo al 40% de concentración

Para los hongos aislados de tomate (*Alternaria alternata*), papaya (*Colletotrichum gloeosporioides*), mango (*Colletotrichum gloeosporioides*) y cacao (*Phytophthora spp.*) se utilizó la técnica de difusión en agar.

Inicialmente se realizó un ensayo exploratorio en la que cada preparado mineral se añadió de manera individual al medio de cultivo (PDA), a una concentración del 40% (volumen/volumen); una vez elaborado el medio con el preparado mineral se distribuyó en cajas Petri estériles y se realizó la inoculación del respectivo hongo. Los cultivos se mantuvieron en sala de cultivo bajo condiciones controladas de 23 °C +/- 2 °C. Se incluyeron como testigos; uno absoluto en el cual el hongo fue cultivado en el medio



original (PDA) sin ningún control y otro un control químico (producto comercial de síntesis química específico para cada patógeno).

Cuadro 1. Composición de los preparados minerales evaluados.

Preparado mineral	Composición	Gramos o mililitros	Preparación
Caldo visosa (CV)	Sulfato de cobre Sulfato de zinc Sulfato de magnesio Bórax Hidróxido de calcio Agua	5 6 4 4 5 1000	En un recipiente se disuelven el sulfato de cobre, zinc y magnesio y el bórax en 200 mL de agua. En otro se diluye el hidróxido de calcio en 776 mL y se agitan los dos. Después se mezclan las soluciones de los dos recipientes y se agitan para su homogenización.
Caldo bordelés+ permanganato de potasio (CBP)	Sulfato de cobre Hidróxido de calcio Permanganato de potasio Agua	10 10 1.25 1000	Disolver el sulfato en 100 mL de agua, el hidróxido en 800 mL y el permanganato en el agua restante, en recipientes separados. En un recipiente de mayor tamaño se vierte la solución con hidróxido de calcio y sobre ella la del sulfato, se agitan para homogenizar y finalmente se agrega el permanganato, volviendo a agitar.
Caldo bordelés + sulfato de zinc + sulfato de magnesio (CBS)	Sulfato de cobre Hidróxido de calcio Sulfato de zinc Sulfato de magnesio Agua	10 10 5 5 1000	Disolver el sulfato de cobre en 100 mL de agua y el hidróxido en 800 mL, en recipientes separados. En un recipiente de mayor tamaño se vierte la solución con hidróxido de calcio y sobre ella la del sulfato, agitando hasta su homogenización. Aparte, en otro recipiente se disuelven los sulfatos de zinc y manganeso en el agua restante y finalmente se añaden a la mezcla del sulfato de cobre e hidróxido de calcio y se agitan.
Caldo de bicarbonato de sodio (BiS)	Bicarbonato de sodio Agua	15 1000	Se mezcla directamente el bicarbonato con el agua y se agita hasta obtener una mezcla homogénea y transparente.
Caldo silicosulfocálcico (SSC)	Azufre Óxido de calcio Ceniza vegetal Agua	50 200 50 1000	En un recipiente se mezclan el azufre, el óxido de calcio y la ceniza vegetal en seco. En otro se pone a calentar el agua y cuando hierve se le agrega la mezcla seca, revolviéndola constantemente, a fuego alto y manteniendo el volumen de agua constante por 50 min.
Polisulfuro de calcio (PC)	Óxido de calcio Azufre Agua	100 200 1000	Se pone a calentar el agua, cuando esté tibia se agrega el azufre y se agita hasta disolución. En ese momento se agrega el óxido de calcio. Se mantiene en agitación constante a fuego alto hasta que la mezcla toma coloración vino tinto. En ese momento se retira del fuego.

En el cuadro 2 se describen los tratamientos estudiados en la etapa 1.

Cuadro 2. Tratamientos evaluados en la etapa 1.

No.	Descripción
T1	Caldo visosa (CV)
T2	Caldo bordelés + permanganato de potasio (CBP)
T3	Caldo bordelés + sulfato de zinc y magnesio (CBS)
T4	Caldo de bicarbonato de sodio (BiS)
T5	Caldo silicosulfocálcico (SSC)
T6	Polisulfuro de calcio (PC)
T7	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Testigo químico:</li><li>▪ <i>C. gloeosporioides</i> en mango (Oxicloruro de cobre)</li><li>▪ <i>C. gloeosporioides</i> en papaya (Boscalid+Pyraclostrobin)</li><li>▪ <i>A. alternata</i> (Boscalid+Pyraclostrobin)</li><li>▪ <i>Phytophthora</i> spp. (Oxicloruro de cobre).</li></ul>
T8	Testigo absoluto: Medio PDA

**Variables:** para el efecto inhibitorio de los preparados minerales se midieron: a) crecimiento cada 24 horas del diámetro del micelio (mm) del patógeno de cada caja Petri durante 12 días, b) número total de esporas y c) el número de esporas germinadas. Estas se cuantificaron en cámara de Neubauer a los 13 días después de la siembra, para lo cual se realizó un raspado superficial del micelio con agua destilada. Todas las diluciones fueron preparadas siguiendo un factor de dilución, que fue calculado para cada caso en particular mediante la siguiente fórmula: (No. esporas/ml = No. esporas contadas \* dilución \* 2500 (*Phytophthora* spp., \*5000). Como espora germinada se consideró aquella en la que se había dado inicio o ya se encontraba desarrollado el tubo germinal.

El diseño experimental fue completamente al azar con ocho tratamientos consistentes en los seis preparados minerales más un testigo absoluto (PDA) y un Testigo químico, todos los tratamientos contaron cuatro repeticiones, la unidad experimental consistió de una caja Petri. A los datos obtenidos se les realizó un análisis de varianza y comparación de medias a través de la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS® versión 17 para Windows.

### 3.3.1.3 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

Los preparados minerales que presentaron inhibición total del crecimiento y desarrollo del patógeno fueron seleccionados para los ensayos correspondientes a la etapa en la que se determinó la concentración mínima inhibitoria; estos productos fueron evaluados a concentraciones del 30, 20 y 10%. Cuando inhibieron al 10%, se evaluaron concentraciones menores (5, 2 y 1%). Se preparó el medio de cultivo con

PDA al cual se añadió cada uno de los minerales a las concentraciones a estudiar, posteriormente se realizó la inoculación del patógeno.

Como variable indicadora del efecto inhibitorio se midió cada 24 horas el diámetro de crecimiento del micelio del patógeno durante 12 días, también se cuantificó la producción de esporas mediante el uso de la cámara Neubauer a los 13 días después de la siembra, tal como se describió en el apartado anterior. Los tratamientos fueron distribuidos en un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones cada uno; la unidad experimental consistió en una caja Petri. A los datos obtenidos se les realizó análisis de varianza y comparación de medias a través de la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS® versión 17 para Windows.

### **3.4 Etapa 2. Efectividad de extractos vegetales sobre hongos.**

#### **3.4.1 Elaboración de extractos vegetales**

Los materiales vegetales para la elaboración de extractos vegetales fueron obtenidos de plantas procedentes de municipios de las regiones Mezcalapa y Norte, en el estado de Chiapas.

Las plantas de las cuales se obtuvieron los extractos para determinar su efectividad en el control de hongos se muestra en el cuadro 3.

Cuadro 3. Material vegetal para la elaboración de extractos

<b>Nombre común</b>	<b>Nombre científico</b>	<b>Parte a utilizar</b>
Pimienta	<i>Pimenta dioica</i> L.	Frutos y hojas
Maguey morado	<i>Tradescantia spathacea</i> Swartz	Hojas
Jengibre	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Rizoma

Las partes de las plantas a evaluar fueron llevadas al laboratorio y se seleccionaron materiales sanos y que no presentaran afectación por insectos. Se utilizaron frutos secos de pimienta ( $45 \text{ g L}^{-1}$ ) que fueron secados al sol en el área de invernadero y guardadas en un lugar seco para evitar su humedecimiento y contaminación por hongos o insectos, las hojas de maguey morado, pimienta hoja y rizomas de jengibre fueron utilizados en fresco ( $300 \text{ g L}^{-1}$ ).

##### **3.4.1.1 Método de extracción por destilación**

Para la obtención del extracto se empleó un destilador adaptado para obtención de extractos. El material vegetal se colocó en bolsas de tela para posteriormente ser introducido en la marmita del destilador junto con la mezcla de solvente (10:1), se tapó herméticamente para hacer el proceso de extracción continuo mediante la aplicación de calor y presión constante, el vapor es conducido a un condensador y mediante enfriamiento con agua corriente se obtiene el hidrolato. Las partes de las plantas a evaluar fueron llevadas al laboratorio y seleccionaron materiales sanos y que no

presentaron afectación por insectos. Los frutos de pimienta fueron secados al sol en el área de invernaderos y guardadas en un lugar seco para evitar su humedecimiento y contaminación por hongos o insectos, las hojas de maguey morado, pimienta hoja y rizomas de jengibre fueron utilizados en fresco.

#### **3.4.1.2 Montaje de extractos al 40% de concentración**

Para los hongos aislados de tomate, papaya, cacao y mango se utilizó la técnica de difusión en agar. Inicialmente se realizó un ensayo exploratorio en la que cada extracto se añadió de manera individual al medio de cultivo (PDA), a una concentración del 40% (volumen/volumen); una vez preparado el medio con el extracto se distribuyó en cajas Petri estériles y se realizó la inoculación del respectivo hongo. Los cultivos fueron mantenidos en sala de cultivo bajo condiciones controladas de 23 °C +/- 2 °C. Se incluyó como testigo uno absoluto en el cual el hongo se cultivó en el medio original (PDA).

**Variables:** para el efecto inhibitorio de los preparados minerales se midieron: a) crecimiento cada 24 horas del diámetro del micelio (mm) del patógeno de cada caja Petri durante 12 días, b) número total de esporas y c) el número de esporas germinadas. Estas se cuantificaron en cámara de Neubauer a los 13 días después de la siembra, como se describió en la etapa 1. La unidad experimental estuvo constituida por una caja Petri y los tratamientos fueron distribuidos en un diseño completamente al azar con tres repeticiones. Para determinar los efectos de los tratamientos estudiados, a los datos obtenidos se les practicó una prueba de normalidad. A los datos obtenidos se les realizó análisis de varianza y comparación de medias a través de la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS® versión 17 para Windows.

#### **3.4.1.3 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)**

Los extractos que presentaron inhibición total del crecimiento y desarrollo del patógeno, fueron utilizados para los ensayos correspondientes a la etapa en la que se determinará la concentración mínima inhibitoria; estos productos serán evaluados a concentraciones del 30, 20 y 10%. En caso de inhibir al 10% se evaluaron concentraciones menores (5, 2 y 1%). Se preparó el medio de cultivo con PDA al cual se añadió cada uno de los extractos a las concentraciones a estudiar, posteriormente se realizará la inoculación del patógeno.

Como variable indicadora del efecto inhibitorio se midió cada 24 horas el diámetro de crecimiento del micelio del patógeno durante 12 días también se cuantificó la producción de esporas mediante el uso de la cámara Neubauer, tal como se describió anteriormente. Los tratamientos fueron distribuidos en un diseño completamente al azar con cinco repeticiones cada uno; la unidad experimental consistió de una caja Petri. En todas las pruebas se incluyó un testigo absoluto. Para determinar los efectos de los tratamientos estudiados, a los datos obtenidos se les practicó análisis de

varianza y comparación de medias a través de la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS® versión 17 para Windows.

### 3.5 Etapa 3. Determinación del efecto sobre la formación de esporas

#### 3.5.1 Determinación del medio para la formación y germinación de conidias de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Alternaria alternata*

Se realizó la siguiente prueba para establecer el medio de cultivo que mejor efecto presente sobre la formación y producción de esporas de *Colletotrichum gloeosporioides* de papaya y *Alternaria alternata* de tomate. Para la realización del ensayo se aislaron los patógenos y se propagaron en PDA. Los hongos se mantuvieron en incubación por 12 días a una temperatura de 26°C (+/-2°C). En el siguiente cuadro se muestra los tratamientos evaluados según metodología descrita por Ramírez (2013).

Cuadro 4. Tratamientos evaluados para la producción de conidias de *C. gloeosporioides* y *A. alternata*.

No.	Descripción
T1	Caldo de papa (40 mL) + dextrosa (4.8g) + jugo V8® (40 mL) + bicarbonato de sodio (3.6 g) + agua (40 mL)
T2	Caldo de papa (60 mL) + dextrosa (4.8g) + bicarbonato de sodio (3.6 g) + agua (60 mL)
T3	Caldo de papa (60 mL) + dextrosa (4.8g) + agua (60 mL)
T4	Agua (120 mL)

Para la realización de esta prueba se emplearon tres tubos de ensayo por tratamiento en cinco horas de conteo, el cual se agregaron los medios correspondientes, es decir, 5 mL del medio líquido y 5 mL de la solución madre (*C. gloeosporioides* o *A. alternata*) este proveniente de un raspado superficial del hongo de tres cajas Petri de 90 mm (de 12 días de crecimiento), colocadas en agitación por una hora con 3 gotas de tween® 80.

**Variables:** número de conidias totales y el número de conidias germinadas. Se realizaron tres lecturas de cada tubo de ensayo en cámara de Neubauer a las 0, 24, 48 y 96 horas.

El diseño experimental fue completamente al azar, con cuatro tratamientos y tres repeticiones, se realizó el análisis de varianza y comparación de medias mediante la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ), usando el software S.A.S® versión 17 para Windows.

##### 3.5.1.1 Prueba en medio líquido

Una vez seleccionado el mejor extracto vegetal y preparado mineral que ejerciera el mejor efecto inhibitorio sobre cada patógeno. Se llevó a cabo la prueba en medio

líquido para conocer la evolución del número de esporas, en cinco tiempos de conteo (0, 24, 48, 72 y 96 h). Para lo cual se preparó una solución madre de esporas de cada uno de los patógenos, obtenidas del raspado superficial de siete cajas Petri de 50 mm. Estas se agregaron a un Erlenmeyer que contenía el mejor medio de cultivo y dos gotas de tween® 80; esta solución se mantuvo en agitación constante, por 60 min. Para el caso de *Phytophthora* spp. aislada de cacao se utilizó el extracto de cacao al 10%. Se marcaron tres tubos de ensayo por cada hora de medición y tratamiento, a los cuales se les llevó a la concentración del 50% (extracto y/o preparado mineral), se agregó un tratamiento testigo a base de agua destilada. Se agitaron en un vortex hasta homogenización y se incubó a  $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$  en la oscuridad por 5 días. Las variables cuantificadas en esta prueba fueron: el número de esporas vivas a las 0, 24, 48, 72 y 96 h después de la inoculación de los tubos. Se realizaron tres lecturas de cada tubo de ensayo en cámara de Neubauer. El diseño experimental fue completamente al azar, con tres tratamientos y tres repeticiones, se realizó el análisis de varianza y comparación de medias mediante la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ), usando el software S.A.S® versión 17 para Windows.

### **3.6 Etapa 4. Efectividad de extractos y preparados minerales sobre *C. gloeosporioides* en poscosecha**

Con los resultados de las etapas anteriores y una vez establecidos los mejores extractos, preparados minerales y su concentración mínima inhibitoria para cada patógeno se evaluó el efecto de su aplicación en frutos sanos en estado de inicios de maduración.

Para evaluar esta etapa se utilizaron frutos de cv. Maradol procedentes de la localidad La Nueva del municipio de Copainalá, Chiapas, de la parcela del señor Rosendo Pérez Pérez ubicada en las coordenadas geográficas  $17^{\circ}03'02.9''\text{N}$  y  $93^{\circ}10'44.0''\text{W}$ ; para el caso de mango cv. Ataulfo, el material fue procedente de la parcela del señor Francisco Clemente Llaven ubicado en las coordenadas geográficas  $16^{\circ}36'52.9''\text{N}$  y  $93^{\circ}06'04.7''\text{W}$  del municipio de Suchiapa, Chiapas. Los frutos se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio (mango al 5% por 10 minutos y papaya al 3% por 10 min), se lavaron con agua destilada estéril y se secaron en la cámara de flujo laminar. Se probó el efecto de la aspersion de los extractos, antes y después de la inoculación con esporas del hongo proveniente de los cultivos en cajas Petri de 12 días de siembra. Para lo cual se realizó la aspersion con atomizador (a la CMI establecida en las etapas anteriores) de los productos 24 h antes de la inoculación y 24 h después de la inoculación La inoculación en frutos de mango se realizó mediante el método punción, se utilizó una aguja de disección para efectuar una herida entre la cavidad y la inserción del péndulo y posterior se asperjó sobre la superficie de los frutos la solución  $5.15 \times 10^7$  conidias/mL. Mientras para papaya se les asperjo una suspensión de esporas  $1.46 \times 10^8$  sobre la superficie de los frutos. Se colocaron las frutas de mango en vasos precipitados de 250 mL dentro de bolsas de polipapel y mientras para papaya se utilizó contenedores de pastico (KPS) de 24x16x9 cm, se les introdujo un algodón húmedo

con agua destilada estéril como cámara húmeda y se colocaron en la cámara bioclimática a temperatura ambiente (24°C ±2°C) para propiciar condiciones para el crecimiento y desarrollo del patógeno. Se utilizaron ocho frutos de mango y siete de papaya por tratamiento y se dejó un testigo inoculado y otro sin inocular (Cuadro 5).

Cuadro 5. Tratamientos evaluados *in vivo* en frutos en papaya y/o mango.

No.	Descripción
T1	Preparado mineral 24 h antes de la inoculación
T2	Preparado mineral 24 h después de la inoculación
T3	Extracto vegetal 24 h antes de la inoculación
T4	Extracto vegetal 24h después de inoculación
T5	Testigo químico: <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>C. gloeosporioides</i> en mango (Oxicloruro de cobre)</li> <li>▪ <i>C. gloeosporioides</i> en papaya (Boscalid+Pyraclostrobin)</li> </ul>
T6	Testigo inoculado
T7	Testigo absoluto sin inocular

Las variables estudiadas fueron:

**Crecimiento del micelio:** se midió cada 24 horas el crecimiento del daño alrededor de las punciones de los frutos de mango por 13 días.

**Severidad por antracnosis:** para determinar el porcentaje de infección se observó el daño ocasionado por la enfermedad en frutos. Se calculó el número de frutos que presentaron daño por antracnosis, con base en el total de frutos por tratamiento. Para medir el área afectada, se diseñó una escala de cuatro grados de severidad (Cuadro 6). En el caso de papaya se midió el diámetro de las nuevas colonias en la superficie de los frutos.

**Daño interno por antracnosis:** los frutos se cortaron transversalmente y se observaron en el tejido la presencia o afectación por la enfermedad, se utilizó una escala del uno al cuatro para medir el daño ocasionado por antracnosis.

Tanto en severidad y daño interno por antracnosis se consideró una escala de daño del uno al cuatro.

Cuadro 6. Grado de severidad y daño interno por antracnosis.

	Grado de severidad por antracnosis	Daño interno por antracnosis
0	ninguno	ninguno
1	1-25%	1-25%
2	26-50%	26-50%
3	51-75%	51-75%
4	76-100%	76-100%

**Patogenicidad:** Sobre aquellos frutos que no manifestaron daño se realizó un corte del área donde se inoculó y fueron sembradas en cajas Petri con medio de PDA, para apreciar si hay o no crecimiento de *C. gloeosporioides*.

**Cuantificación de conidias totales y germinadas:** sobre los frutos que presentaron crecimiento micelial del patógeno, se realizó un raspado superficial a los frutos antes de la prueba de destrucción y se lavó con agua destilada hasta su dilución, mismo en la que se cuantificó el número de esporas totales y germinadas.

El diseño experimental fue completamente al azar, se realizó el análisis de varianza y comparación de medias mediante la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ), usando el software S.A.S® versión 17 para Windows.



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Etapa 1. Efectividad de preparados minerales

#### 4.1.1 Efecto de preparados minerales al 40% [V: V] sobre *Colletotrichum gloeosporioides* aislado de papaya

El efecto inhibitorio de los preparados minerales al 40% (V:V) polisulfuro de calcio, caldo visosa, caldo bordelés + permanganato de potasio, caldo bordelés + sulfato de zinc + magnesio y silicosulfocálcico sobre el crecimiento radial de *C. gloeosporioides* a los 12 días después de la siembra, presentaron menor crecimiento micelial respecto al testigo químico, testigo absoluto y bicarbonato de sodio (Figura 6).



Figura 6. Efectos *in vitro* de Preparados minerales al 40% sobre sobre *C. gloeosporioides* de papaya.

Los resultados señalan que existen dos grupos de preparados minerales, el primero que inhibe totalmente a *C. gloeosporioides*, y el segundo que permite el crecimiento de micelio y la formación de conidios. En el primer grupo se encuentra polisulfuro de calcio, respecto al segundo grupo los tratamientos de caldo bordelés + sulfato de zinc + magnesio, caldo visosa, caldo bordelés + permanganato y silicosulfocálcico inhibieron el crecimiento micelial entre el 87.77 al 47.50%, mientras en conidias totales inhibieron el desarrollo de estas estructuras entre el 92.59 al 99.97% en comparación al testigo absoluto. De igual manera, los preparados minerales inhibieron en mayores porcentajes tanto en crecimiento micelial que va de 12.5 al 100%, en la formación de conidias totales del 8.38 al 100% y germinación de esporas con valores de 21.28% al 100% (Cuadro 7).

El polisulfuro de calcio al 40% [V:V] inhibió totalmente el crecimiento y desarrollo de *Colletotrichum gloeosporioides*, lo cual coincide con lo reportado por Ramírez (2013) y por Ochoa *et al.* (2015).

Cuadro 7. Efectos *in vitro* de los preparados minerales al 40% de concentración sobre *C. gloeosporioides* aislado de papaya.

Tratamiento	Crecimiento (mm)	Conidias totales ( $\times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ )	Conidias germinadas ( $\times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ )
PC	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
CBS	11.00 <sup>b</sup>	0.12 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
CV	19.00 <sup>c</sup>	2.66 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
CBP	38.50 <sup>d</sup>	0.29 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
SSC	47.25 <sup>e</sup>	41.85 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
T. químico	72.25 <sup>f</sup>	219.95 <sup>a</sup>	1.41 <sup>a</sup>
BiS	78.75 <sup>g</sup>	517.56 <sup>b</sup>	6.77 <sup>b</sup>
T. absoluto	90.00 <sup>h</sup>	564.91 <sup>b</sup>	8.60 <sup>b</sup>

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Los tratamientos PC, CBS, CV, CBP y SSC inhibieron totalmente la germinación de las conidias, mientras que el tratamiento de bicarbonato de sodio redujo su germinación en 21.28% y el testigo químico (boscalid + pyraclostrobin) en 83.60% con respecto al testigo absoluto, donde registraron la mayor cantidad esporas germinadas.

El testigo químico boscalid+ pyraclostrobin presentó crecimiento y desarrollo del patógeno, aunque en menor proporción que el BiS y el testigo absoluto, pero fue superado por los demás preparados minerales evaluados. Resultados a los que difiere por Estrada *et al.*, (2017) donde reportan inhibición *in vitro* de *C. gloeosporioides* con tiabendazol, azoxystrobin+fludioxonil, gluconato de cobre y pyraclostrobin.

Los resultados indican que PC, CBS, CV, CBP y SSC, de los seis preparados minerales experimentados, tienen efecto fúngico al presentar diferentes grados de inhibición en el crecimiento y desarrollo del patógeno, siendo una alternativa en el manejo de la enfermedad, sin embargo, el polisulfuro de calcio, debido a su alta efectividad, fue seleccionado como el mejor para pasar a la siguiente etapa del presente estudio.

#### 4.1.1.1 Determinación de CMI de preparados minerales sobre *C. gloeosporioides* aislado de papaya

Para la determinación de la CMI del polisulfuro de calcio en un primer ensayo se evaluó a concentraciones del 30, 20 y 10% [V:V] sobre *C. gloeosporioides* aislado de papaya, el efecto se puede apreciar en la figura 7 y cuadro 8, donde ve claramente la inhibición total sobre el crecimiento del patógeno hasta la concentración más baja utilizada. El análisis de varianza registró diferencias estadísticas entre los tratamientos para las tres variables evaluadas (Cuadro A2). La prueba de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ), muestra que las concentraciones de 30, 20 y 10% presentan diferencias estadísticas con respecto al testigo absoluto, el cual registró el mayor valor de crecimiento de micelio (90 mm) y de conidias totales  $12.39 \text{ mL}^{-1} \times 10^6$ .



Figura 7. Efecto del polisulfuro de calcio al 30, 20 y 10% [V:V] sobre *C. gloeosporioides* aislado de papaya.

Considerando que el polisulfuro de calcio a concentraciones del 10, 20 y 30% [V:V] inhiben totalmente a *C. gloeosporioides* aislado de papaya, fue necesario realizar la evaluación de concentración inferiores a fin de determinar la CMI.

Cuadro 8. Efecto *in vitro* del polisulfuro de calcio (PC) sobre el crecimiento y formación de conidios de *C. gloeosporioides* aislado de papaya.

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Conidias totales ( $\times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ )	Conidias germinadas $\text{mL}^{-1}$
PC al 30%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0
PC al 20%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0
PC al 10%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0
Testigo absoluto	50.00 <sup>b</sup>	12.39 <sup>b</sup>	0

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

En un segundo ensayo para la determinación de la CMI de polisulfuro de calcio se evaluaron concentraciones del 5 y 3% y los resultados se pueden apreciar en el cuadro 8 y figura 9.

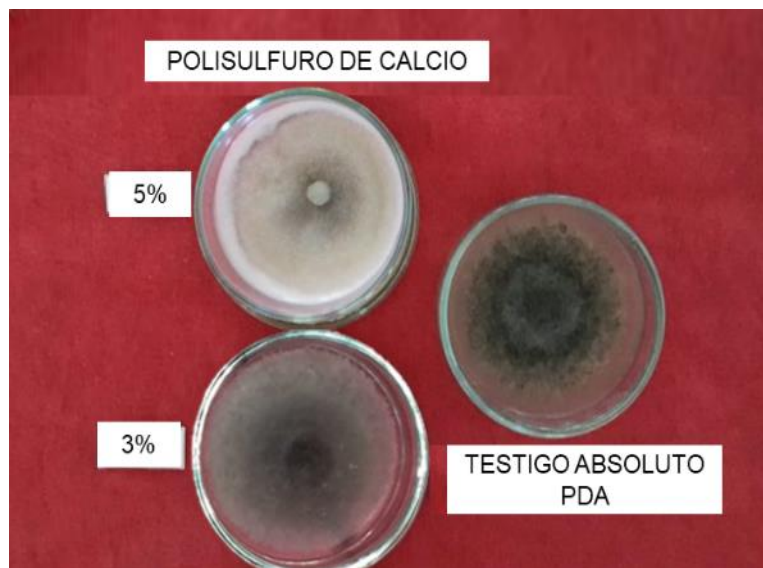


Figura 8. Efecto *in vitro* del polisulfuro de calcio al 5 y 3% [V:V] sobre *C. gloeosporioides* aislado de papaya.

Cuadro 9. Efecto *in vitro* del polisulfuro de calcio al 5, 3 y 1% sobre *C. gloeosporioides* aislado de papaya.

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Conidias totales ( $\times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ )	Conidias germinadas ( $\times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ )
PC 5%	42.33 <sup>a</sup>	80.66 <sup>a</sup>	8.33 <sup>a</sup>
PC 3%	43 <sup>a</sup>	193.00 <sup>b</sup>	41.66 <sup>b</sup>
T. absoluto	50 <sup>b</sup>	544.25 <sup>c</sup>	92.50 <sup>c</sup>

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Polisulfuro de calcio a concentraciones menores inhiben el crecimiento del micelio de *C. gloeosporioides* aislado de papaya entre el 15.34 al 14%, mientras en conidias totales reducen un 85.17 al 64.53% y germinadas del 90.99 al 54.96%, resultados inferiores al testigo absoluto. Estos resultados fueron similares a los de Rojas *et al.* (2014) donde menciona que el polisulfuro de calcio a concentraciones de 1,25; 2,25; 3;0 3,75; y 4,5 L/hL controlan en campo a *Neonectria ditissima*, causante de la enfermedad Cancro Europeo del Manzano.

El análisis de varianza (Cuadro A3) indica que se existen diferencias estadísticas entre los tratamientos en las tres variables evaluadas, y la prueba de comparación de medias por Tukey ( $P \leq 0.05$ ), el cual se puede apreciar en el cuadro 9, donde indica que el PC registra diferencia con el testigo.

#### 4.1.2 Efectos de los preparados minerales al 40% de concentración (V/V) sobre *Colletotrichum gloeosporioides* aislado de mango

En la figura 9 y el cuadro 10 se aprecian los efectos de los preparados minerales al 40% [V:V] sobre el crecimiento micelial y desarrollo de *C. gloeosporioides* de mango.

Estos resultados indican que existen dos grupos de productos minerales, aquellos que producen inhibición total y los que inhiben parcialmente el crecimiento y desarrollo del patógeno. El polisulfuro de calcio, el caldo bordelés más sulfato de zinc complementado con magnesio presentaron inhibición completa, tanto de crecimiento como de formación de conidias, mientras que el caldo visosa inhibió 88.33% el crecimiento radial del patógeno y el 99.54 % de la formación de conidias y el 83.4% la germinación de las mismas. Los tratamientos con CBP, SCC y BIS a pesar que permitieron algún grado de crecimiento del micelio y la formación de conidias, inhibieron completamente la germinación de las mismas.

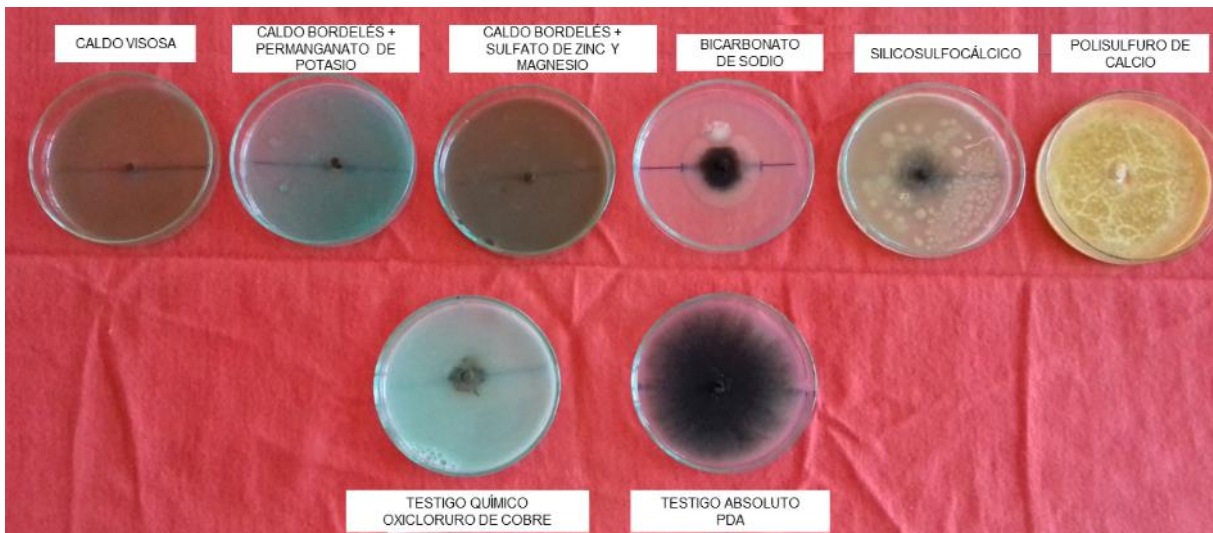


Figura 9. Efecto *in vitro* de los preparados minerales al 40% [V:V] sobre el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* a 12 días después de la siembra.

Estos resultados se corroboran con el análisis estadístico en el cual se registró diferencias significativas entre los tratamientos para las tres variables evaluadas (Cuadro A4); la comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) indica que para la variable crecimiento micelial los tratamientos CBS y PC registraron los menores valores y diferencia estadística con todos los tratamientos incluidos los testigos químico y absoluto. Sin embargo, en la producción de conidias los tratamientos CBS, PC, CV, CBP, testigo químico y SSC, no registraron diferencias entre ellos, pero sí con el tratamiento BiS y el testigo absoluto. En cuanto a la germinación de conidias tan solo se registró en el CV y el testigo absoluto, los cuales registraron diferencias estadísticas entre ellos.

Cuadro 10. Efectos *in vitro* de los preparados minerales al 40% de concentración sobre *C. gloeosporioides* aislado de mango.

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Conidias totales (x10 <sup>5</sup> mL <sup>-1</sup> )	Conidias germinadas (x10 <sup>4</sup> mL <sup>-1</sup> )
CBS	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
PC	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
CV	10.50 <sup>b</sup>	2.95 <sup>a</sup>	1.66 <sup>b</sup>
CBP	12.75 <sup>bc</sup>	1.02 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Testigo químico	21.25 <sup>c</sup>	0.75 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
SSC	31.50 <sup>d</sup>	28.43 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
BiS	49.25 <sup>e</sup>	121.91 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>
Testigo absoluto	90.00 <sup>f</sup>	654.41 <sup>c</sup>	10.00 <sup>c</sup>

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey, P ≤ 0.05).

El Polisulfuro de calcio y el caldo bordelés más sulfato de zinc y magnesio, evaluados a concentración del 40 % [V:V] no permitieron el crecimiento y desarrollo del patógeno, este efecto es importante, ya que mediante el crecimiento del micelio y la formación de conidios, el patógeno se reproduce y puede entonces infectar tejido vegetal sano. Resultados que son similares a los reportados por Ramírez *et al.* (2011) y Ochoa *et al.* (2015) los cuales señalan que el polisulfuro de calcio inhibe *in vitro* el crecimiento del micelio y la formación de conidios del hongo *M. roleri*.

Los preparados minerales PC y CBS demuestran ser mejores al testigo químico, oxiclورو de cobre, al no permitir el desarrollo del patógeno en condiciones de laboratorio.

Con respecto a los tratamientos de CBP, SSC y BIS, estos resultaron ser mejores al testigo con crecimiento del micelio y conidios totales, sin embargo, no permitieron la germinación de las conidios, este efecto es importante ya que, mediante estas estructuras, el patógeno realiza la infección al penetrar la cutícula del fruto.

Existen pocos reportes bibliográficos de productos químicos de síntesis con un efecto de inhibición total sobre *C. gloeosporioides*, es de destacar que los resultados obtenidos en esta investigación, muestran que los seis preparados minerales estudiados tienen un efecto reductor significativo del crecimiento y desarrollo de este patógeno.

Otros estudios indican que la aplicación de fungicidas como el curacarb, captan, oxiclورو de cobre y Mancozeb (Ploetz y Prakash, 1997) son exitosos en la protección de frutos de mango contra la antracnosis (Arias y Carrizales, 2007), en esta investigación se utilizó el oxiclورو de cobre como testigo, sin embargo, los resultados mostraron que permitió el crecimiento micelial y la formación de conidios del hongo, *C. gloeosporioides*.

Por su parte Gutiérrez *et al.* (2003) indican que en condiciones de laboratorio y campo los fungicidas a base de benzimidazoles, inhiben el crecimiento del hongo *C. gloeosporioides*, aunque por el uso indiscriminado de este producto se ha observado la inducción de resistencia del patógeno (Astúa *et al.* 1994; Arauz, 2000; Spalding 1982).

#### 4.1.2.1 Determinación de CMI de preparados minerales sobre *C. gloeosporioides* aislado de mango

Considerando que los únicos preparados minerales que a concentración del 40% inhibieron completamente el crecimiento y desarrollo del patógeno fueron el polisulfuro de calcio y caldo bordelés más sulfato de zinc y magnesio, estos se evaluaron a concentraciones más bajas (30, 20 y 10%) con el fin de determinar su CMI. Los resultados de esta prueba se pueden apreciar en la figura 10 y cuadro 11, en donde se aprecia que el CBS al 30% no permite el crecimiento del micelio y desarrollo de *C. gloeosporioides*, pero a concentraciones inferiores (20% y 10%) inhibe el crecimiento del patógeno en un 81.66 y 23.61% respectivamente con relación al testigo absoluto, respecto a la formación de conidias inhibió un 99.76% a concentración del 20%, mientras que para la del 10% fue del 93.64% con relación al testigo absoluto (Cuadro 11).

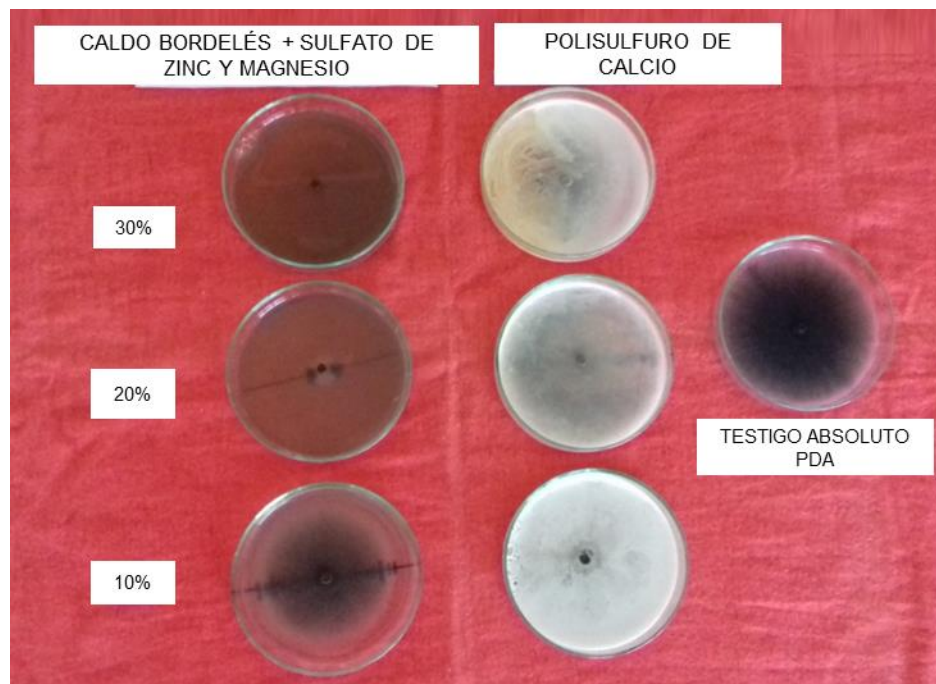


Figura 10. Efectos *in vitro* de CBS y PC sobre *C. gloeosporioides* aislado de mango.

Con respecto al PC las tres concentraciones evaluadas permitieron el crecimiento parcial del patógeno, con una inhibición del 46.11 al 11.38% y la formación de conidias entre un 94.83 y 85.16%, con respecto del testigo absoluto.

El análisis de varianza (Cuadro A5) realizado indica que existen diferencias estadísticas para cada variable, crecimiento micelial y formación de conidias. Y tal como se aprecia en el cuadro 11, la prueba de comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) indica la existencia de diferencias estadísticas del CBS al 30% para la variable crecimiento con respecto a las demás concentraciones evaluadas y a las tres concentraciones de PC y al testigo absoluto, mientras que para la formación de conidias se cuantifico diferencia con respecto al testigo absoluto.

El caldo bordelés complementado con sulfato de zinc y sulfato de magnesio, en concentraciones del 20 y 10%, aunque inferior en eficacia al CBS al 30%, ejerció inhibición sobre el crecimiento, esporulación y germinación de esporas de *C. gloeosporioides* de mango, estos resultados son similares a los que reporta Ochoa *et al.* (2015), al controlar a *M. royeri* en condiciones *in vitro*.

Cuadro 11. Determinación *in vitro* de CMI de preparados minerales sobre crecimiento y desarrollo de *C. gloeosporioides* aislado de mango.

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Conidias totales ( $\times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ )	Conidias germinadas $\text{mL}^{-1}$
CBS 30%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0
CBS 20%	16.50 <sup>a</sup>	0.72 <sup>a</sup>	0
CBS 10%	68.75 <sup>c</sup>	19.81 <sup>a</sup>	0
PC 30%	48.50 <sup>b</sup>	16.10 <sup>a</sup>	0
PC 20%	79.00 <sup>cd</sup>	25.81 <sup>a</sup>	0
PC 10%	79.75 <sup>cd</sup>	46.22 <sup>a</sup>	0
T. Absoluto	90.00 <sup>d</sup>	311.60 <sup>b</sup>	0

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Polisulfuro de calcio a 30, 20 y 10% aunque, no inhibieron completamente a *C. gloeosporioides* aislado de mango, reduce el crecimiento y desarrollo de este, resultados similares son reportados por Lozano *et al.* (2008) donde PC al 10% registro disminución de la germinación de las conidias de *Fusarium* sp.

La concentración mínima inhibitoria de CBS fue al 30% al inhibir completamente el desarrollo y crecimiento del patógeno en relación a los otros tratamientos (figura 11). Ochoa *et al.* (2015) indican a CBS como producto con potencial en el control de *M. royeri*, al inhibir el crecimiento micelial.

#### 4.1.3 Efectos de los preparados minerales al 40% de concentración sobre *Alternaria alternata* aislada de tomate

El efecto de los seis preparados minerales evaluados a concentración del 40% sobre el crecimiento y desarrollo de *A. alternata* aislado de tomate se puede apreciar en la figura 11 y cuadro 12.





Figura 11. Aspecto del crecimiento micelial de *A. alternata* aislado de tomate.

El Polisulfuro de calcio presentó el mejor efecto fungicida al inhibir completamente a *A. alternata* aislado de tomate, en relación a los testigos absoluto y químico, los cuales permitieron el crecimiento de micelio, formación y germinación de conidios. Estos resultados son similares a los que reporta Ochoa *et al.* (2015), al utilizar polisulfuro de calcio al 40% sobre *M. royeri*, al causar *in vitro* la mayor mortalidad de esporas e inhibición del crecimiento micelial del patógeno.

Cuadro 12. Efecto *in vitro* de los preparados minerales al 40% de concentración sobre el crecimiento y desarrollo de *A. alternata* aislando de tomate.

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Conidias totales ( $\times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ )	Conidias germinadas ( $\times 10^3 \text{ mL}^{-1}$ )
PC	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
CV	12.00 <sup>b</sup>	2.08 <sup>a</sup>	7.29 <sup>a</sup>
CBS	14.50 <sup>b</sup>	2.18 <sup>a</sup>	14.58 <sup>a</sup>
SSC	32.50 <sup>c</sup>	4.16 <sup>a</sup>	27.08 <sup>a</sup>
CBP	16.50 <sup>b</sup>	9.37 <sup>a</sup>	40.62 <sup>a</sup>
Testigo químico	12.75 <sup>b</sup>	36.61 <sup>a</sup>	178.64 <sup>ab</sup>
BiS	37.25 <sup>c</sup>	61.667 <sup>a</sup>	350.00 <sup>b</sup>
Testigo absoluto	50.00 <sup>d</sup>	157.50 <sup>b</sup>	626.04 <sup>c</sup>

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Respecto a los tratamientos de caldo visosa, caldo bordelés más permanganato de potasio, caldo bordelés más sulfato de zinc y magnesio, silicosulfocálcico y bicarbonato de sodio, aunque permitieron el crecimiento del hongo y la formación de conidios, estos resultados fueron menores al testigo absoluto, mismos que presentando diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

El CV presentó inhibición del 76% del crecimiento del micelio encontrando diferencias significativas con el testigo absoluto mas no con el testigo químico. Respecto a la formación y germinación de conidias el tratamiento de caldo visosa registró resultados menores a los testigos, al inhibir la formación de conidias totales y germinadas entre el 98.68 al 98.84%. Estos resultados coinciden con el reporte de Aquino *et al.* (2008).

Respecto a CBP y CBS estos presentaron inhibición del 67 al 71% sobre el crecimiento radial del hongo comparados con el testigo absoluto, mientras en conidias totales inhibieron entre el 94.05 al 98.61% y las germinadas del 93.51 al 97.67%, en comparación al testigo químico, el cual mosró mayor número de estas estructuras.

El Bicarbonato de sodio al 40% de concentración ejerció el menor efecto de inhibición respecto al crecimiento y desarrollo de *A. alternata* en comparación a los demás compuestos.

El polisulfuro de calcio presentó el mayor efecto de inhibición respecto a los tratamientos a base de cobre al reducir el 100% del crecimiento del micelio, formación y germinación de esporas del patógeno.

En cuanto al testigo químico (boscalid+ pyraclostrobin) este presentó diferencias significativas con los tratamientos SCC y BiS ( $P \leq 0.05$ ), siendo más eficiente en la reducción del crecimiento del micelio. En la formación de conidios el tratamiento de SSC redujo el número de esporas totales y germinadas respecto al testigo químico, caso contrario se observo con el tratamiento BiS al registrar mayores valores, sin embargo, todos registraron diferencia estadística con respecto al testigo absoluto.

En la figura 12 y cuadro 13 se presentan el efecto de polisulfuro de calcio a concentraciones de 30, 20 y 10% sobre el crecimiento micelial de *A. alternata* en tomate.

Cuadro 13. Determinación de CMI de los preparados minerales sobre *A. alternata* aislado de tomate

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Conidias totales ( $\times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ )	Conidias germinadas ( $\times 10^3 \text{ mL}^{-1}$ )
PC 30%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
PC 20%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
PC 10%	31.67 <sup>ab</sup>	25.25 <sup>a</sup>	71.80 <sup>a</sup>
Testigo Absoluto	46.33 <sup>b</sup>	33.54 <sup>a</sup>	66.66 <sup>a</sup>



Figura 12. Efecto de polisulfuro de calcio sobre *A. alternata* aislado de tomate.

El polisulfuro de calcio al 30 y 20% inhibió completamente al hongo *A. alternata*, mientras que al 10% presentó inhibición tan solo del 31.64%; en la formación de conidias totales mostro un efecto inhibitor del 24.71%, y en conidias germinadas este tratamiento supero ligeramente al testigo absoluto. El Análisis de varianza registró diferencias estadísticas entre los tratamientos para las tres variables evaluadas (Cuadro A6).

Cuadro 13. Determinación de CMI de polisulfuro de calcio sobre *A. alternata* aislada de tomate.

La concentración mínima inhibitoria del Polisulfuro sobre de calcio sobre *A. alternata* resulto del 20%, este producto representa una alternativa para el manejo de este patógeno dada su facilidad de preparación y bajo costo.

#### **4.1.4 Efectos de los preparados minerales al 40% de concentración sobre *Phytophthora* spp. en cacao aquí nos quedamos**

En la figura 13 se aprecia el crecimiento de *Phytophthora* spp. aislado de cacao bajo los efectos de los seis preparados minerales al 40% (V: V), se observa que el polisulfuro de calcio, el caldo visosa, el caldo bordelés más permanganato de potasio y caldo bordelés más sulfato de zinc y magnesio no permitieron el crecimiento del hongo comparativamente con los otros tratamientos evaluados.

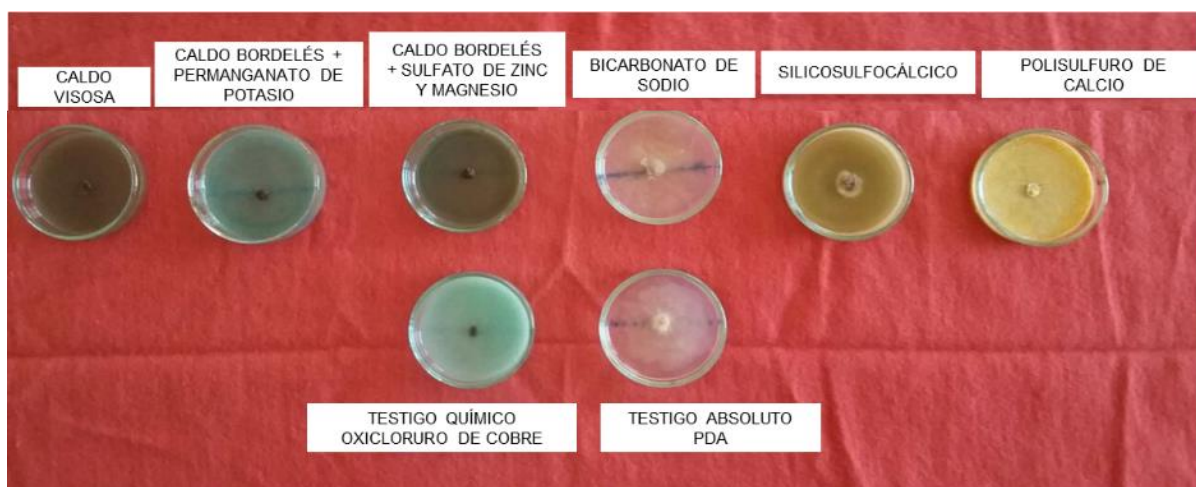


Figura 13. Efecto *in vitro* de los preparados minerales al 40% sobre *Phytophthora* spp.

En el cuadro 14 se presenta el efecto de los preparados minerales a concentración del 40% sobre la inhibición del crecimiento del micelio y la formación de zoosporas de *Phytophthora* spp en cacao.

Cuadro 14. Efecto *in vitro* de Preparados minerales al 40%de concentración sobre el crecimiento de *Phytophthora* spp.

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Zoosporas Totales ( $\times 10^6$ mL <sup>-1</sup> )
CV	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
CBP	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
CBS	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
PC	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
**Testigo químico	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
SSC	18.00 <sup>b</sup>	1.00 <sup>b</sup>
BIS	50.00 <sup>c</sup>	1.89 <sup>c</sup>
Testigo absoluto	50.00 <sup>c</sup>	1.83 <sup>c</sup>

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). \*\*Oxicloruro de cobre (350g/100 L).

Los preparados de CV, PC, CBS y CBP inhibieron totalmente a *Phytophthora* spp., al no presentar crecimiento micelial y zoosporas del hongo, estos tratamientos poseen efecto fungicida al compararlos con SSC, BIS y el testigo absoluto en los que se registraron crecimiento y desarrollo del patógeno ( $P \leq 0.05$ ). Aunque los tratamientos de PC y SSC contengan casi los mismos minerales en concentraciones diferentes, el efecto que ejercieron fue diferente, al registrar polisulfuro de calcio inhibición total en el crecimiento y desarrollo de *Phytophthora* spp., mientras silicosulfocálcico presentó inhibición del 64% sobre el crecimiento micelial del hongo y permitió la formación de zoosporas del 47.09 %.

El Oxicloruro de cobre presentó inhibición de *Phytophthora* spp., Sin embargo, otros los preparados minerales fueron más eficaces al registrar mayor efecto inhibitorio del patógeno.

El Bicarbonato de sodio al 40% no presento efecto de inhibición del patógeno, registrando valores similares para las variables evaluadas a las del testigo absoluto. El Análisis de varianza registró diferencias estadísticas entre los tratamientos (Cuadro A7) para las tres variables evaluadas. La prueba de comparación de medias por Tukey ( $P \leq 0.05$ ) registró diferencias estadísticas de CV, PC, CBS, CBP con los demás tratamientos, pero no entre ellos, así como SSC mostró diferencias con los testigos.

#### 4.1.4.1 Determinación de CMI de preparados minerales sobre *Phytophthora* spp.

En la figura 14 se aprecian los resultados del diámetro de crecimiento del micelio de *Phytophthora* spp., bajo el efecto de los preparados minerales a tres concentraciones (30, 20 y 10%), dicho efecto se ve reflejado que, a mayor concentración del producto utilizado, presenta menor crecimiento del hongo; resultados que se corroboran en el siguiente cuadro 15.

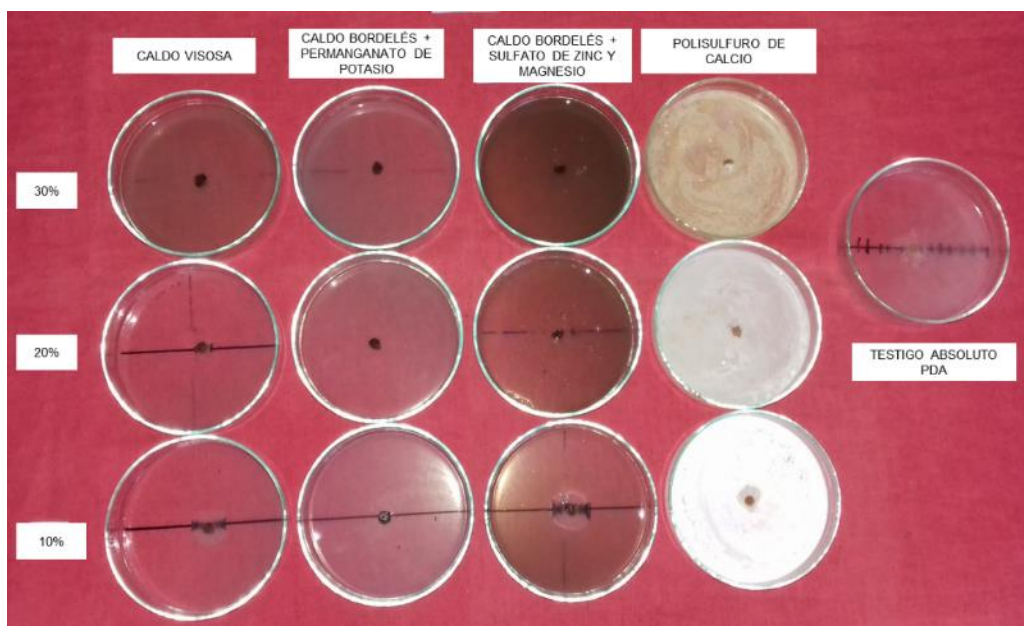


Figura 14. CMI de CV, CBP, CBS y PC sobre *Phytophthora* spp en cacao.

Los tratamientos caldo visosa (CV), polisulfuro de calcio (PC), caldo bordelés más permanganato de potasio (CBP) y caldo bordelés más sulfatos de zinc y magnesio (CBS) al 30% mostraron un comportamiento similar entre ellos, inhibiendo completamente el crecimiento micelial y la formación de zoosporas.

El tratamiento de CV a concentración del 30% presento inhibición total de *Phytophthora* spp., mientras a concentraciones del 20 y 10% redujo del 91.11 al 71.11% el crecimiento del hongo y en zoosporas totales entre el 98.86 al 96.24%

comparado con el testigo absoluto, el cual registró los mayores valores de crecimiento y formación de zoosporas (figura y cuadro 15), estos resultados son similares a los reportados por Lozano *et al.* (2008).

Los tratamientos de CBP y CBS a concentraciones del 30 y 20% inhibieron completamente a *Phytophthora* spp., en relación con el testigo absoluto, con el que se encontró diferencias significativas. A concentración del 10% estos dos tratamientos ejercieron menor efecto de inhibición sobre el crecimiento del micelio del 90.56 al 77.22% y zoosporas totales entre 98.94 al 95.67% sin embargo estos fueron menores al testigo absoluto (cuadro 15). El análisis de varianza (Cuadro A8) registró diferencias estadísticas entre los tratamientos para las dos variables evaluadas. La prueba de comparación de medias por Tukey ( $P \leq 0.05$ ) mostró diferencias significativas de todos los tratamientos con el testigo absoluto para las dos variables evaluadas.

Cuadro 15. Determinación de CMI de los preparados minerales sobre *Phytophthora* spp. aislado de cacao

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Zoosporas totales ( $\times 10^5$ mL <sup>-1</sup> )
CV 30%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
CBP 30%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
CBP 20%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
CBS 30%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
CBS 20%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
PC 30%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
PC 20%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
PC 10%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
CV 20%	8.00 <sup>a</sup>	0.58 <sup>a</sup>
CBP 10%	8.50 <sup>a</sup>	0.54 <sup>a</sup>
CBS 10%	20.50 <sup>b</sup>	2.20 <sup>a</sup>
CV 10%	26.00 <sup>b</sup>	1.91 <sup>a</sup>
Testigo absoluto	90.00 <sup>c</sup>	50.83 <sup>b</sup>

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

El Polisulfuro de calcio a las concentraciones de 30, 20 y 10% Inhibe totalmente el crecimiento y la formación de zoosporas de *Phytophthora* spp. de cacao en comparación a los demás compuestos minerales y al testigo absoluto. Sin embargo, a concentraciones menores (5, 3 y 1%), este producto presenta diferentes grados de inhibición del patógeno (figura 15).

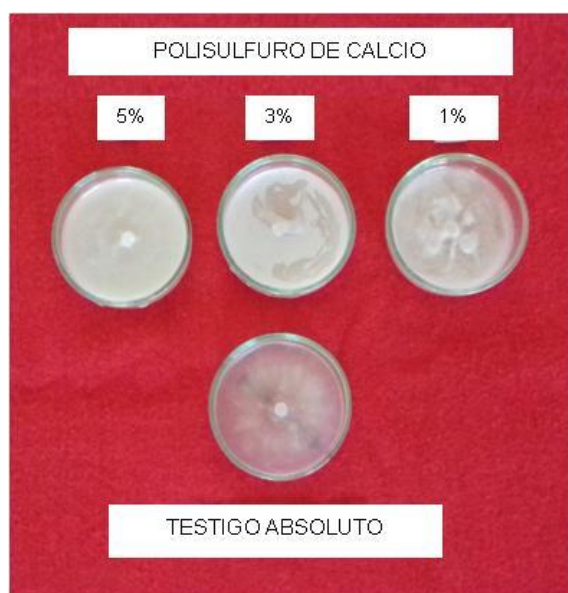


Figura 15. Determinación de CMI de PC sobre el crecimiento de *Phytophthora* spp. en cacao.

Estos datos indican que el efecto inhibitorio del polisulfuro de calcio sobre *Phytophthora* spp, es afectado por la concentración utilizada; a medida que se incrementa las dosis, este ejerce una mayor inhibición sobre el crecimiento radial del hongo, tal como se aprecia en la figura 15 y cuadro 16.

Cuadro 16. CMI de PC sobre *Phytophthora* spp. en cacao

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Zoosporas ( $\times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ )
PC 5%	10.25 <sup>a</sup>	2.24 <sup>a</sup>
PC 3%	12.50 <sup>a</sup>	3.14 <sup>a</sup>
PC 1%	34.25 <sup>b</sup>	5.68 <sup>b</sup>
T. Absoluto	50.00 <sup>c</sup>	8.90 <sup>c</sup>

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

El polisulfuro de calcio a concentraciones del 1, 3 y 5% presentó inhibición del 31.50 al 79.50% sobre el crecimiento del micelio y del 36.18 al 74.83% en producción de zoosporas totales, encontrándose diferencias significativas entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). El PC a las concentraciones del 5, 3 y 1% permitió la formación de micelio y producción de zoosporas; estos resultados si bien presentaron un efecto menor en la inhibición del patógeno, fueron superiores al testigo absoluto. De lo anterior se concluye que la CMI para *Phytophthora* spp. aislado de cacao es del 10%. Estos resultados son concordantes con los reportados por Ochoa *et al.* (2015) y Ramírez *et al.* (2011) que indican que la concentración mínima inhibitoria de polisulfuro de calcio sobre *M. roreri* en cacao es del 10%. Este producto es promisorio para el control *in*

*vitro* de *Phytophthora* spp. aislado de cacao en condiciones de laboratorio. El análisis de varianza (cuadro A9) registró diferencias estadísticas entre los tratamientos para las dos variables evaluadas, la prueba de comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) registró diferencias significativas de las concentraciones del 5 y 3% con la del 1% así como con el testigo absoluto, tanto para el crecimiento micelial como para la formación de zoosporas.

## 4.2 Etapa 2. Efectividad de extractos vegetales

### 4.2.1 Evaluación extractos vegetales al 40% de concentración sobre *C. gloeosporioides* aislado de papaya

En el cuadro 17 y la figura 16 se aprecia el efecto de los extractos vegetales evaluados a concentración del 40% [V:V] sobre el crecimiento y desarrollo de *C. gloeosporioides* aislado de papaya.



Figura 16. Efecto de los extractos vegetales sobre *C. gloeosporioides* aislado de papaya.

Los resultados muestran el potencial antifúngico del extracto de la hoja de pimienta, al inhibir totalmente el crecimiento del micelio y la formación de esporas de *C. gloeosporioides* comparado con el testigo absoluto. El efecto fungicida del extracto puede deberse al contenido de metabolitos secundarios que están constituidos en su mayoría por aceites esenciales, siendo una alternativa con bastante potencial para el control *in vitro* de la antracnosis en el cultivo de papaya.

El análisis de varianza (Cuadro A10) registró diferencias estadísticas entre los tratamientos para las tres variables evaluadas. La prueba de comparación de medias por el método de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) (cuadro 17), para la variable de crecimiento registró diferencias estadísticas entre los tratamientos de pimienta hoja y maguey morado con los demás tratamientos y para conidias totales y germinadas se registraron diferencias



entre los extractos de la hoja y el fruto de pimienta y el maguey morado con respecto al testigo absoluto.

Cuadro 17. Efecto de los extractos vegetales al 40% sobre *C. gloeosporioides* en papaya

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Conidias totales ( $\times 10^4$ mL <sup>-1</sup> )	Conidias germinadas ( $\times 10^3$ mL <sup>-1</sup> )
Pimienta hoja	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Maguey morado	15.00 <sup>a</sup>	3.75 <sup>a</sup>	4.16 <sup>a</sup>
Pimienta fruto	39.33 <sup>b</sup>	2379.44 <sup>a</sup>	98.61 <sup>a</sup>
Jengibre	50.00 <sup>b</sup>	6380.00 <sup>b</sup>	894.44 <sup>ab</sup>
T. Absoluto	50.00 <sup>b</sup>	7166.66 <sup>b</sup>	1158.33 <sup>b</sup>
Coeficiente de variación	0.7136	1.0327	1.3948

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Se encontró que maguey morado fue el único tratamiento que a concentración del 40% no inhibe totalmente a *C. gloeosporioides* aislado de papaya, estos resultados difieren con los reportados por Ramírez *et al.* (2007) y Ramírez *et al.* (2011) que encontraron que el extracto de *T. spathacea* a concentración del 50% y 30%, inhibió el crecimiento de los patógenos *P. palmivora* y *M. roreri*.

El extracto de pimienta fruto presentó inhibición del 21.34% sobre el crecimiento radial del hongo, mientras en conidias totales y germinadas registraron el 66.80 al 91.49% de inhibición respectivamente. Estos resultados difieren a los de Ramírez *et al.* (2016) que reportan que los extractos de pimienta fruto obtenidos por destilación y asistido por microondas inhiben *in vitro* a *C. gloeosporioides* en papaya a concentraciones del 30 y 20%.

#### 4.2.1.1 Determinación de CMI de los extractos vegetales sobre *C. gloeosporioides* aislado de papaya

Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria del extracto de la hoja de pimienta, en un primer ensayo se evaluaron concentraciones del 30, 20 y 10% sobre *C. gloeosporioides* aislado de papaya, el resultado se puede apreciar en la figura 17 y el cuadro 18, se observa un efecto de inhibición que varía con la concentración, así como un cambio en la coloración del micelio con los productos utilizados.

El tratamiento de pimienta hoja al 30% presentó una inhibición del 88% en el crecimiento del hongo, mientras en conidias totales registró 99.61% en comparación al testigo absoluto; al 20% registró una inhibición del 47.34 con respecto al crecimiento y del 99.32% para conidias totales, encontrando diferencias estadísticas con el testigo absoluto (cuadro 18). Resalta que a la concentración del 10%, el extracto no presentó

inhibición en el crecimiento micelial y por el contrario estimulo la producción de conidias totales en comparación al testigo absoluto, con el cual no se registró diferencias significativas.

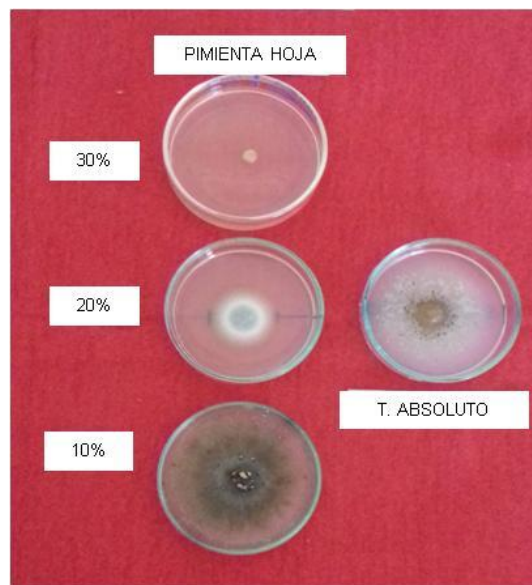


Figura 17. CMI de pimienta hoja sobre *C. gloeosporioides* aislado de papaya.

Estas observaciones son corroboradas con el análisis de varianza de los datos registrados, determinándose diferencias estadísticas entre los tratamientos (cuadro A11). La prueba de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) muestra que las concentraciones de 30 y 20 presentan diferencias estadísticas con respecto a la concentración del 10% y al testigo absoluto, donde registraron mayores valores de crecimiento de micelio (50 mm) y de conidias totales. A medida que su concentración del extracto disminuye, el efecto que produce es menor.

Cuadro 18. CMI de pimienta hojas sobre *C. gloeosporioides* en papaya

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Conidias totales ( $\times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ )	Conidias germinadas $\text{mL}^{-1}$
Pimienta hoja 30%	6.00 <sup>a</sup>	1.12 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Pimienta hoja 20%	26.33 <sup>b</sup>	1.98 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Pimienta hoja 10%	50.00 <sup>c</sup>	293.18 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
T. Absoluto	50.00 <sup>c</sup>	53.83 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

#### 4.2.2 Evaluación extractos vegetales al 40% sobre *C. gloeosporioides* aislado de mango

En la figura 18 se aprecia el efecto de inhibición que ejercieron los extractos vegetales al 40% sobre el crecimiento radial de *C. gloeosporioides* aislado de mango, donde se

observa que los tratamientos con hoja de *P. dioica* L., y *T. spathacea* Swartz no permitieron el crecimiento del hongo.

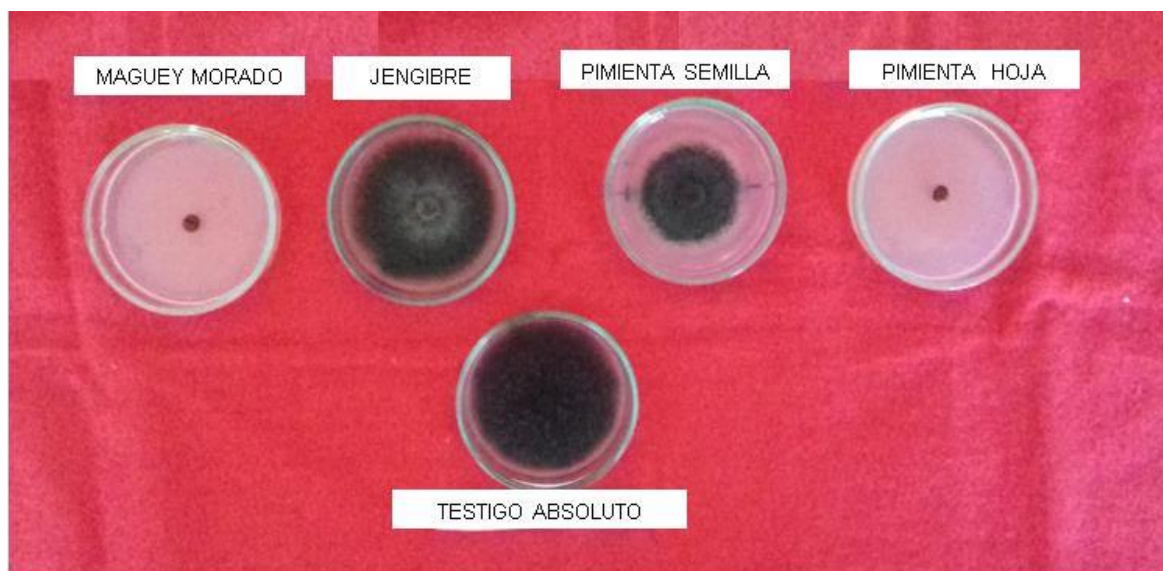


Figura 18. Efecto de los extractos vegetales al 40% sobre crecimiento de *C. gloeosporioides* aislado de mango.

Los resultados de los extractos vegetales evaluados al 40% de concentración sobre el crecimiento y desarrollo de *C. gloeosporioides* aislado de mango se pueden apreciar en cuadro 19, el análisis de varianza (Cuadro A12) indica que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos y la prueba de comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ), registró diferencia estadística entre los tratamientos de pimienta hoja y maguay morado con respecto el testigo absoluto, el cual presentó los mayores valores de crecimiento y formación y germinación de conidias.

Cuadro 19. Extractos vegetales sobre crecimiento y desarrollo de *C. gloeosporioides* en mango

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Conidias totales ( $\times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ )	Conidias germinadas ( $\times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ )
Maguay morado	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Pimienta hoja	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Pimienta fruto	39.00 <sup>b</sup>	96.18 <sup>ab</sup>	49.86 <sup>b</sup>
Jengibre	45.33 <sup>bc</sup>	174.09 <sup>b</sup>	19.86 <sup>ab</sup>
Testigo absoluto	50 <sup>c</sup>	86.18 <sup>ab</sup>	7.08 <sup>a</sup>
Coeficiente de variación	0.8636	1.1224	1.4419

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

Los tratamientos *T. spathacea* Swartz y hoja de *P. dioica* L., a la concentración del 40% inhiben totalmente a *C. gloeosporioides* aislado de mango, los efectos de estos

dos tratamientos pueden deberse a los metabolitos secundarios presentes. Resultados que se suman a diversas investigaciones realizadas en otros centros de investigación, en las que se han reportado diferentes actividades biológicas de estos extractos (Pérez *et al.*, 2010; Ramírez, 2013; Tamayo *et al.*, 2016; Ramirez *et al.*, 2016).

Respecto a los extractos de *P. dioca* fruto y *Z. officinale* ejercieron efectos inferiores, al inhibir entre el 9.34 al 22% en el crecimiento radial del hongo, mientras en la formación y germinación de conidios registraron mayor producción de estas estructuras en relación al testigo absoluto. Estos resultados difieren los que reportan Ramírez *et al.* (2007) y Joya *et al.* (2015) al encontrar inhibición de *P. palmivora* aislado de cacao y *M. royeri* utilizando al 50% el extracto de jengibre.

#### 4.2.2.1 Determinación de CMI de los extractos sobre *C. gloeosporioides* aislado de mango.

En la figura 20 se puede apreciar el efecto que ejercen los extractos de pimienta hoja y magüey morado sobre el crecimiento radial de *C. gloeosporioides* aislado de mango a concentraciones del 30, 20 y 10%. El extracto de la hoja de pimienta al 30% ejerció el mejor efecto de inhibición, al no permitir el crecimiento del hongo respecto a los otros tratamientos evaluados. En la misma imagen se observa una menor esporulación del hongo de los tratamientos de hoja de pimienta al compararlos con el testigo absoluto.

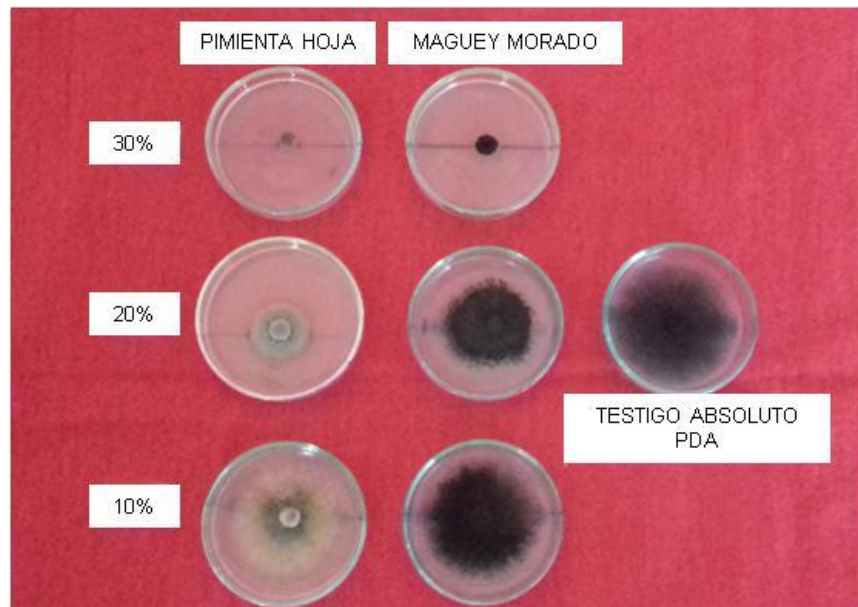


Figura 19. Efecto *in vitro* de los extractos de pimienta hoja y magüey morado sobre *C. gloeosporioides* aislado de mango.

En el cuadro 20 se aprecian los resultados del crecimiento radial del hongo y la formación de esporas de *C. gloeosporioides* aislado de mango bajo los efectos de los dos extractos evaluados a concentraciones del 30, 20 y 10%; el análisis de varianza (cuadro A13) indica que existen diferencias estadísticas entre los efectos de estos tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

El extracto de la hoja de Pimienta al 30% inhibió totalmente a *C. gloeosporioides* aislado de mango en relación al testigo absoluto; a las concentraciones de 20 y 10% redujo el crecimiento del micelio entre un 47.86 al 52.15%, mientras en conidias totales del 63.62 al 85.16% y en conidias germinadas del 0 al 100%, entre los que se encontraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) con el testigo absoluto.

Cuadro 20. Determinación *in vitro* de CMI de pimienta hoja y maguey morado sobre el crecimiento y desarrollo de *C. gloeosporioides* aislado de mango.

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Conidias totales ( $\times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ )	Conidias germinadas ( $\times 10^3 \text{ mL}^{-1}$ )
Pimienta hoja 30%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Pimienta hoja 20%	22.33 <sup>bc</sup>	349.23 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Pimienta hoja 10%	24.33 <sup>bc</sup>	856.08 <sup>a</sup>	142.08 <sup>a</sup>
Maguey morado 30%	8.67 <sup>ab</sup>	2.50 <sup>a</sup>	1.38 <sup>a</sup>
Maguey morado 20%	39.33 <sup>cd</sup>	438.33 <sup>a</sup>	133.33 <sup>a</sup>
Maguey morado 10%	45.67 <sup>d</sup>	2353.33 <sup>b</sup>	83.33 <sup>a</sup>
Testigo Absoluto	46.67 <sup>d</sup>	720.97 <sup>a</sup>	43.05 <sup>a</sup>

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

Los tratamientos de maguey morado a concentraciones del 30, 20 y 10% presentaron inhibición del 81.42 al 2.14 en el crecimiento radial del hongo, aunque en menor efecto que el del extracto de pimienta hoja. Respecto a conidias totales los tratamientos del 30 y 20% redujeron un 99.65 al 39.20% y en esporas germinadas de 96.79 al 0%. A la concentración del 10%, este tratamiento estimulo la formación de estas estructuras reproductivas, en comparación al testigo absoluto, el cual registró un menor número de conidios.

La concentración mínima inhibitoria del extracto de pimienta hoja fue al 30% al inhibir completamente a *C. gloeosporioides* en mango, donde no presentó crecimiento y desarrollo del patógeno en relación a los otros tratamientos evaluados. Para el caso de maguey morado su concentración mínima inhibitoria fue del 40%, debido a que a concentraciones menores se presentó el crecimiento micelial y la formación de conidios. El análisis de varianza (cuadro A14) indica que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ), al registrar a pimienta hoja los mejores efectos de inhibición respecto el testigo.

### 4.2.3 Evaluación extractos vegetales al 40% de concentración sobre *Alternaria alternata* aislado de tomate

En la siguiente figura 20 se aprecia los diferentes grados de inhibición que ejercen los extractos vegetales al 40% sobre el crecimiento radial de *A. alternata*, donde pimienta hoja obtuvo el mejor efecto de inhibición, al no permitir el crecimiento del patógeno en relación a los otros tratamientos evaluados.

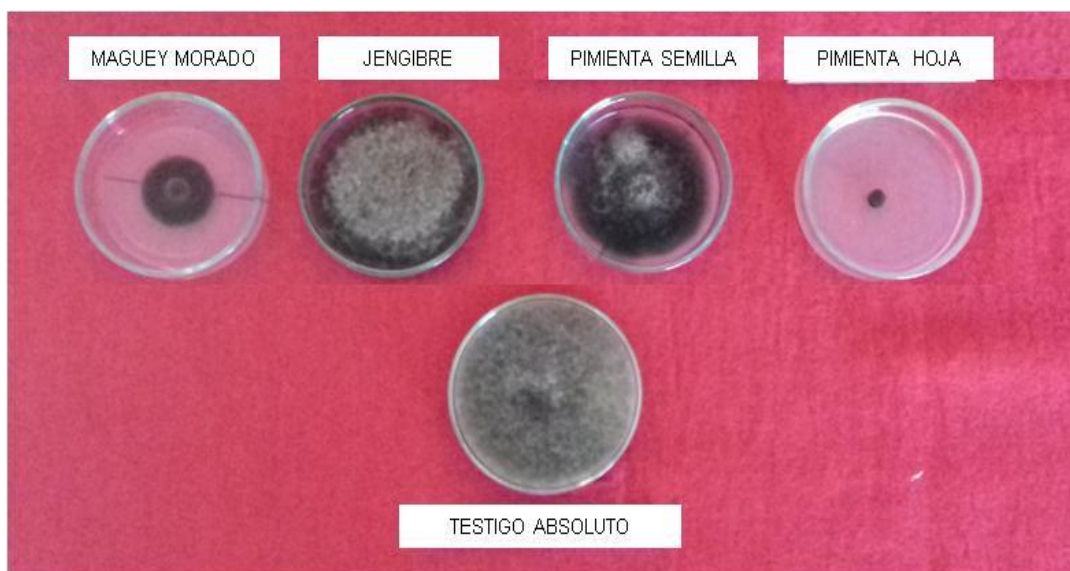


Figura 20. Efectos de inhibición de los extractos de plantas en el crecimiento micelial de *A. alternata*.

El efecto de los extractos vegetales a concentración del 40% sobre *A. alternata* se puede apreciar en el cuadro 21. El extracto de hoja de *P. dioica* L. al 40% presentó el mejor efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial y formación de conidias de este patógeno en comparación al testigo absoluto (cuadro 21). Este extracto presentó inhibición del 100% sobre el crecimiento micelial y formación y germinación de conidias, resultados que superan a los reportados por Guerrero *et al.* (2007) al encontrar inhibición micelial de los extractos de metanol: cloroformo (1:1), hexano y etanol con un promedio de 82.0, 81.6 y 80.3%. El análisis de varianza (Cuadro A15) indica que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ), los tratamientos de pimienta hoja y maguey morado mostraron diferencias para las tres variables evaluadas con los demás tratamientos incluido el testigo absoluto.

El extracto de maguey morado al 40% presentó inhibición de *A. alternata* en el crecimiento radial con el 37.40%, efecto superior al de los extractos de pimienta fruto y jengibre. Resultados similares a Tamayo *et al.* (2016) donde reportan inhibición en la formación de conidias totales y germinadas de *M. roleri* utilizando el maguey morado a concentraciones de 50 y 40%.

Respecto al extracto del fruto de pimienta, el efecto ejercido fue menor al reducir un 6.47% el crecimiento del hongo con relación al testigo absoluto, mientras que, para la variable formación y germinación de conidios, éste presentó mayores valores en comparación al mismo testigo.

Cuadro 21. Efecto *in vitro* de los extractos vegetales 40% sobre *A. alternata* aislado de tomate.

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Conidias totales (x10 <sup>4</sup> mL <sup>-1</sup> )	Conidias germinadas (x10 <sup>4</sup> mL <sup>-1</sup> )
Pimienta hoja	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Maguey morado	29.00 <sup>a</sup>	36.52 <sup>ab</sup>	9.93 <sup>a</sup>
Pimienta fruto	43.33 <sup>bc</sup>	167.91 <sup>c</sup>	86.52 <sup>a</sup>
Testigo absoluto	46.33 <sup>bc</sup>	33.54 <sup>ab</sup>	6.66 <sup>a</sup>
Jengibre	50.00 <sup>d</sup>	129.77 <sup>bc</sup>	43.13 <sup>a</sup>

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey, P≤ 0.05).

Estos resultados son similares a los que reportan Ramírez *et al.* (2016) al encontrar crecimiento y desarrollo de *Alternaria solani* y *Fusarium oxysporum* utilizando el extracto de pimienta fruto obtenidos por destilación y asistido por microondas al 30%.

Mientras Ramírez *et al.* (2007) reportan inhibición total de *P. palmivora*, en esta investigación se observó que el extracto de jengibre estimuló el crecimiento micelial, la formación y germinación esporas del hongo superando los resultados del testigo absoluto, de la misma manera Joya *et al.* (2015) y Tamayo *et al.* (2016) reportan inhibición del 100% del crecimiento micelial *M. roseri* aislado de cacao, utilizando extracto de jengibre a concentraciones del 50 y 40%.

#### 4.2.3.1 Determinación de CMI de los extractos vegetales sobre *Alternaria alternata* aislado de tomate

En la siguiente figura 21 se observan los diferentes grados de inhibición que ejerce el extracto de la hoja de pimienta a concentraciones de 30, 20 y 10% sobre *A. alternata* aislada de tomate.

En cuadro 22 se aprecian los resultados del efecto de hoja de pimienta a concentraciones de 30, 20 y 10% sobre el crecimiento y desarrollo *A. alternata*. El análisis de varianza (Cuadro A16) indica diferencias estadísticas entre los tratamientos (P≤ 0.05), en las tres variables evaluadas; el extracto de hoja de *pimenta dioica* al 30 y 20% inhibió el 100% el crecimiento del patógeno, mientras a concentración del 10% permitió el crecimiento de *A. alternata*, así como la formación y germinación de conidias, sin embargo, fueron menores al testigo absoluto. El análisis estadístico practicado para la variable crecimiento micelial, corrobora que existen diferencias significativas entre la concentración de pimienta hoja al 10% con las demás evaluadas,

pero no con el testigo absoluto. Mientras que para número de conidias totales y para las germinadas el mayor valor lo presentó el testigo absoluto registrando diferencias estadísticas con respecto a la concentración del 10% que fue la única que presentó estas estructuras y con las concentraciones del 20 y 30%, las cuales las inhibieron.

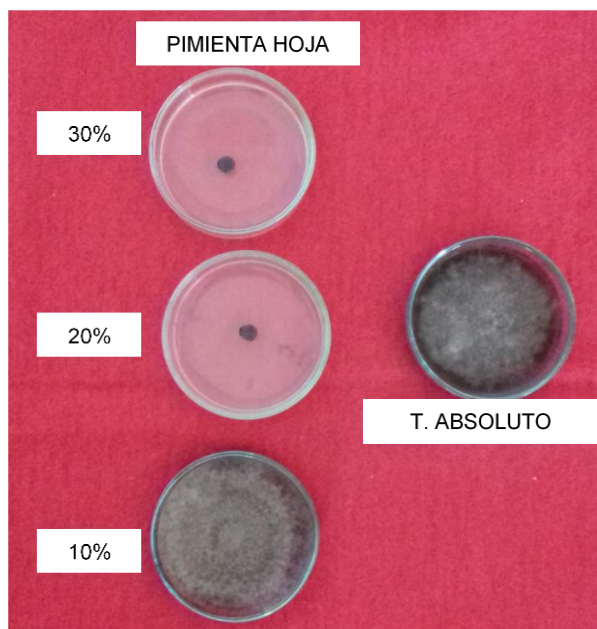


Figura 21. Efecto de inhibición de pimienta hoja sobre el crecimiento de *A. alternata* aislada de tomate.

Estos resultados son similares a los encontrados por Ramírez *et al.* (2016) quienes reportan que al utilizar extracto de pimienta dioica al 30% con dos formas de extracción (hidrolato y hidrolato micronadas) y aceite esencial al 0.1% permiten el crecimiento y formación de conidias de *A. solani* y pero que inhiben totalmente el desarrollo de *C. gloeosporioides* de papaya.

Cuadro 22. Efecto *in vitro* del extracto pimienta hoja a concentraciones de 30, 20 y 10% sobre el crecimiento y desarrollo de *A. alternata* aislado de tomate.

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Conidias totales ( $\times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ )	Conidias germinadas ( $\times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ )
Pimienta hoja 30%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Pimienta hoja 20%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Pimienta hoja 10%	49.33 <sup>b</sup>	3.64 <sup>b</sup>	8.12 <sup>a</sup>
Testigo Absoluto	50.00 <sup>b</sup>	38.58 <sup>c</sup>	155.00 <sup>b</sup>

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ )



#### 4.2.4 Extractos vegetales al 40% sobre *Phytophthora* spp. aislado de cacao

En la figura 22 se observa el crecimiento micelial de *Phytophthora* spp. aislado de cacao en presencia de extractos vegetales; los resultados para las tres variables evaluadas de los extractos vegetales sobre el crecimiento y desarrollo de *Phytophthora* spp. aislado de cacao se presentan en el cuadro 23.

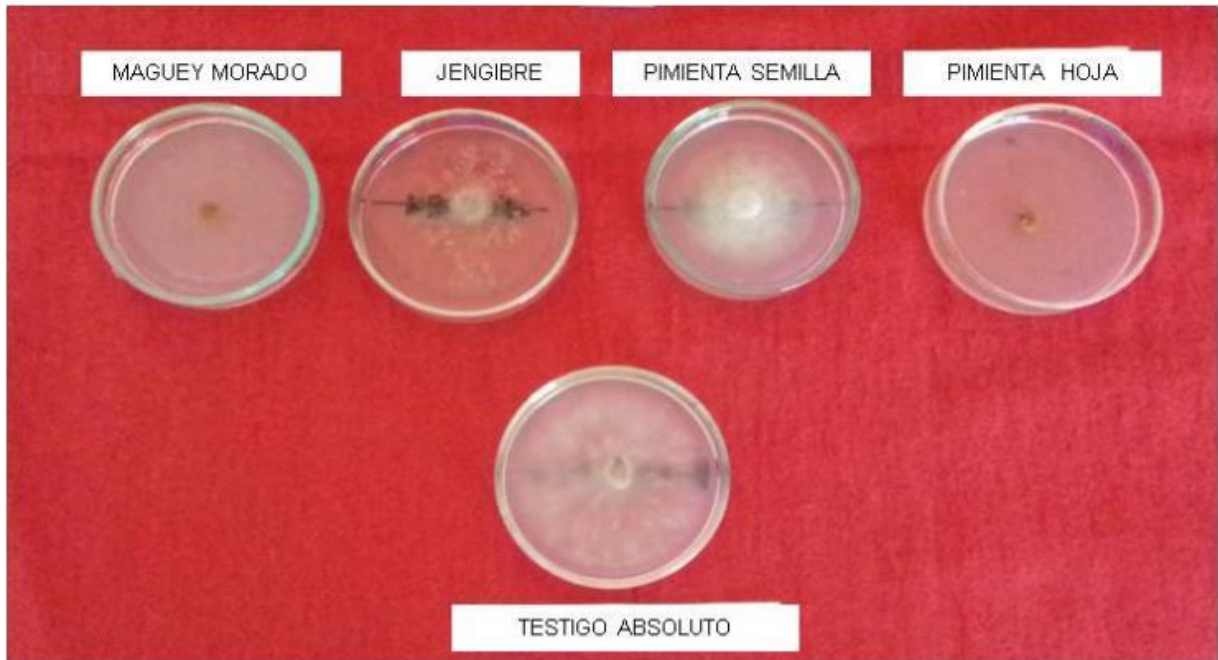


Figura 22. extractos vegetales sobre el crecimiento de *Phytophthora* spp. aislado de cacao.

El análisis de varianza (cuadro A17) muestra diferencias estadísticas entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). La prueba de comparación de medias de Tukey indica que los extractos de maguay morado y pimienta hoja, no registraron diferencias significativas entre ellos para el crecimiento y formación de zoosporas del patógeno, pero si con los demás tratamientos evaluados, incluido el testigo absoluto. Es posible que este efecto de inhibición sea provocado por el contenido de metabolitos secundarios presentes en los extractos. El efecto logrado es muy importante para ambos tratamientos, ya que pueden ser una alternativa para el manejo de esta enfermedad; sin embargo, debe ser probado en campo para corroborar el efecto de estos extractos, además es muy importante remarcar que la inhibición lograda en esta investigación fue utilizando 300 g/L de hojas frescas de maguay morado y 300 g/L de pimienta hoja utilizando el método de hidrodestilación.

Cuadro 23. Efectos *in vitro* de los extractos vegetales sobre *Phytophthora spp.*, aislado de cacao.

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Zoosporas ( $\times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ )
Maguey morado	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Pimienta hoja	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Jengibre	35.00 <sup>b</sup>	99.16 <sup>a</sup>
Pimienta fruto	40.67 <sup>c</sup>	281.38 <sup>b</sup>
T. absoluto	50.00 <sup>d</sup>	395.55 <sup>b</sup>

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

El extracto obtenido de pimienta fruto, aunque presentó menor grado de inhibición respecto a los demás extractos evaluados, los resultados fueron mejores al testigo absoluto. Resultados similares a los que reporta Ramírez *et al.* (2007; 2016) al encontrar diferentes grados de inhibición sobre el crecimiento micelial y formación de esporas *F. oxysporum* y *P. palmivora*.

El extracto de *Z. officinale* presentó crecimiento, formación de zoosporas, sin embargo, registró diferencias con respecto al pimienta fruto y al testigo absoluto. Respecto al porcentaje de inhibición este tratamiento redujo el 30% del crecimiento micelial de *Phytophthora spp.*, y en zoosporas del 74.93%, resultados menores al testigo absoluto, donde se encontró diferencias significativas. Resultados similares reporta Ramírez *et al.* (2007) al controlar *in vitro* a *P. palmivora* y en *M. roreri*. Mientras Joya *et al.* (2015) muestran que los hidrolatos de jengibre, obtenidos tanto con material fresco como seco al sol (45 g/L, relación 10:1) son capaces de inhibir la germinación de conidias de *M. roreri*.

#### 4.2.4.1 Determinación de CMI de los extractos vegetales sobre *Phytophthora spp.* aislado de cacao

El efecto de inhibición de pimienta hoja y maguey morado a concentraciones del 30, 20 y 10% sobre el crecimiento radial de *Phytophthora spp.* aislado de cacao se aprecia en figura 23.

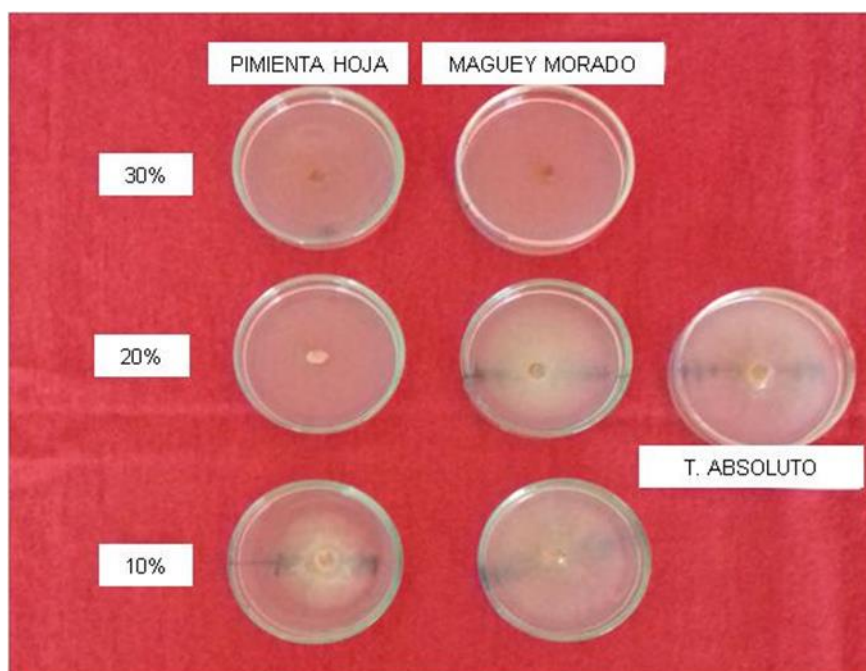


Figura 23. Efecto de inhibición de los extractos vegetales sobre el crecimiento de *Phytophthora* spp. aislado de cacao.

En el cuadro 24 se aprecian los resultados de los extractos de hoja de *P. dioica* L. y *Tradescantia spathacea* Swartz (maguey morado) a concentraciones del 30, 20 y 10% sobre *Phytophthora* spp. aislado de cacao. El análisis de varianza (cuadro A18) indica que existe diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ), para las dos variables evaluadas.

Cuadro 24. Evaluación *in vitro* de pimienta hoja y maguey morado al 30, 20 y 10% sobre el crecimiento y desarrollo de *Phytophthora* spp. aislado de cacao.

Tratamientos	Crecimiento (mm)	Zoosporas ( $\times 10^4$ mL <sup>-1</sup> )
Pimienta hoja 30%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Pimienta hoja 20%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Pimienta hoja 10%	32.00 <sup>b</sup>	65.27 <sup>a</sup>
Maguey morado 30%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Maguey morado 20%	40.00 <sup>c</sup>	47.50 <sup>a</sup>
Maguey morado 10%	50.00 <sup>d</sup>	264.58 <sup>b</sup>
Testigo Absoluto	50.00 <sup>d</sup>	321.66 <sup>b</sup>

\*Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

El extracto de maguey morado al 30% inhibió completamente el crecimiento y desarrollo del patógeno, mientras a concentración del 20% registró reducción tanto en el crecimiento radial del hongo y en la formación de zoosporas del 20 al 85.23%

respectivamente, mientras a concentración del 10% igualo el crecimiento del hongo respecto al testigo absoluto.

La CMI de maguey morado fue al 30% y hoja de pimienta al 20%, al encontrar inhibición del 100% sobre *Phytophthora* spp. aislado de cacao. A concentraciones inferiores se registró crecimiento y formación de estructuras del patógeno. El extracto de hoja de *P. dioica* L. a concentraciones del 30 y 20% presentaron inhibición total en el crecimiento radial y formación de zoosporas del patógeno, mientras a concentración del 10% ejerció inhibición del 36% en el crecimiento del hongo y en formación de zoosporas del 79.70%, resultado menor al testigo absoluto el cual registró diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

En el cuadro 25 se presenta un resumen de los efectos de inhibición que los preparados minerales y los extractos vegetales expresaron sobre los cuatro patógenos estudiados.

El Polisulfuro de calcio a diferentes concentraciones (40, 30 y 20%) inhibe completamente el crecimiento y desarrollo de *C. gloeosporioides* aislado de *Carica papaya* L, *Phytophthora* spp. de *Th. cacao* y *A. alternata* de *S. lycopersicum*, mientras a concentraciones menores permitió el crecimiento, aunque limitado de estos patógenos.

Para el caso de *C. gloeosporioides* aislado de *Mangifera* presentó inhibición del 11.39 al 100% sobre el crecimiento del hongo y en la formación y germinación de conidias del 85.17 al 100% (40,30, 20 y 10%). Resultados que coinciden con Ramírez (2011b, 2013) y Ochoa *et al.* (2015) al encontrar *in vitro* inhibición del crecimiento de micelio de *M. roreri* con polisulfuro de calcio a diferentes concentraciones, mientras Holb *et al.* (2008) indican el control de la Roña (*Venturiaina equalis*) del manzano y Lozano *et al.* (2008) registra disminución de la germinación de las conidias de *Fusarium* sp. con PC 10%.

Los tratamientos de CBS y CBP a concentraciones (40, 30, 20 y 10%) registran diferentes grados de inhibición en los cuatro patógenos evaluados, mismos que mostraron diferencias significativas con el testigo absoluto. Estos resultados son corroborados con los de Ochoa *et al.* (2015) al encontrar inhibición total en el crecimiento de *M. roreri* aislado de cacao a concentraciones de 50 al 30%, mientras al 20%, estos redujeron más del 60%. Otras investigaciones han demostrado que los caldos minerales bórdeles y sulfocálcico son eficientes para el manejo de la mancha negra (*Phytophthora* spp.) (López *et al.*, 2002; Ramírez *et al.*, 2007), además estos compuestos podrían estar incorporando elementos minerales como el calcio, azufre, cobre, magnesio, entre otros, favoreciendo la disponibilidad de nutrimentos para la nutrición de los cultivos, favoreciendo la expresión de mecanismos de resistencia a posibles enfermedades fungosas. Criterios que ha sido señalado por Tomlinson y Hunt (1987), Huber y Wilhelm (1988) y Rouxel *et al.*, (1990).

Cuadro 25. Porcentajes de inhibición de los productos minerales y extractos vegetales sobre *C. gloeosporioides* aislado de *C. papaya* L. y de *M.a indica*, *Phytophthora spp.* aislado de *Th. cacao* y *A. alternata* de *S. lycopersicum*.

PRODUCTO	Con/%In.	<i>C. gloeosporioides</i> de papaya			<i>C. gloeosporioides</i> de mango			<i>Alternaria alternata</i> de tomate			<i>Phytophthora</i> <i>spp.</i> de cacao	
		Cre	Co.T	Co.Ger	Cre	Co.To	Co.Ger	Cre	Co.To	Co.Ger	Cre	Zo.
PC	40%	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	30%	100	100	100	46.11	94.83	100	100	100	100	100	100
	20%	100	100	100	12.22	91.72	100	100	100	100	100	100
	10%	100	100	100	11.39	85.17	100	31.64	24.71	0	100	100
	5%	15.34	85.18	90.99							79.50	74.83
	3%	14.00	64.54	54.96							75.00	64.72
CBS	40%	87.78	99.97	100	100	100	100	71	98.62	97.67	100	100
	30%				100	100	100				100	100
	20%				81.67	99.77	100				100	100
	10%				23.61	93.64	100				77.22	95.67
CV	40%	78.89	99.529	100.00	88.33	99.54	83.40	76	98.68	98.84	100	100
	30%										100	100
	20%										91.11	98.86
CBP	40%	57.22	99.949	100.00	85.83	99.84	100	67.00	94.05	93.51	100	100
	30%										100	100
	20%										100	100
SSC	40%	47.50	92.59	100.00	65.00	95.65	100.00	35.00	97.36	95.67	64.00	47.09
	BIS	40%	12.5	8.38	21.28	45.27	81.37	100.00	25.50	60.85	44.09	0
Pimienta hoja	40%	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	30%	88.00	99.62	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	20%	47.34	99.32	100	52.15	85.16	100	100	100	100	100	100
Maguey morado	10%	0	0	100	47.87	63.62	0.00	1.34	90.57	94.76	36.00	79.71
	40%	70	99.95	99.64	100	100	100	37.40	0	0	100	100
	30%				81.42	99.65	96.79				100	100
	20%				15.73	39.20	0				20	85.23
Pimienta fruto	10%				2.14	0	0				0	17.75
	40%	21.34	66.80	91.49	22.00	0	0	6.47	0	0	18.66	28.86
Jengibre	40%	0	10.98	22.78	9.34	0	0	0	0	0	30	74.93

\*Con=concentración; % In= Porcentaje de inhibición. Cre= inhibición en el crecimiento de micelio; Co.To= inhibición conidias totales; Co.Ger= inhibición conidias germinadas; Zo= inhibición de zoosporas.

Respecto al Caldo mineral Visosa al 40% redujo significativamente el crecimiento y desarrollo de *A. alternata* en tomate, *Phytophthora spp.* aislado de cacao, *C. gloeosporioides* aislado de mango y papaya. Este mineral registró inhibición en el crecimiento radial del micelio del 76 al 100%, en formación de conidias totales del 98.68 al 100% y germinadas del 83.40 al 100%. En relación a la inhibición total, esta se dio en *Phytophthora spp.* aislado de cacao utilizando al 40 y 30%, mientras a concentraciones del 10 y 20% mostro inhibición en el crecimiento micelial del 71.11 al 91.11% y en zoosporas totales del 96.24 al 98.86%. Resultados similares a los que reporta Lozano *et al.* (2008) donde señalan que caldo visosa a concentraciones del 50 y 30% ejerce la inhibición en la germinación de *Fusarium sp.* en el cultivo de maracuyá, mientras Aquino *et al.* (2008) reporta el control de la mancha de Ramularia en algodón.

El caldo silicosulfocálcico presentó cierto grado de inhibición sobre los cuatro patógenos, este efecto que se le puede atribuir a la ceniza vegetal, este ingrediente presenta macro y microelementos (Solla *et al.*, 2001; Omil, 2007), dentro de las cuales

el silicio es uno de los componentes importantes, según reportes presenta acción fungicida. Chérif *et al.* (1994) indica el efecto del silicio sobre plántulas de pepino infectadas con *Phytophthora* spp. y encontraron que indujo mecanismos de defensa en respuesta a la infección, entre los que se encuentran la producción de compuestos con una fuerte actividad fungistática sobre el hongo. Riveros (2010) menciona que el silicio tuvo efectos importantes en el control de patógenos como *Magnaporthe grisea* en arroz, *Sphaerotheca fuliginea* en pepino cohombro, melón y zucchini y *Blumeria graminis* en trigo.

Mientras Ochoa *et al.* (2015) y French *et al.* (2010) reportan inhibición total de *M. roseri* y *Phytophthora capsici* respectivamente al tratarlos con silicosulfocalcico. Otras investigaciones documentan estos mismos efectos (inducción de resistencia a diversos cultivos sobre el ataque de enfermedades y sequia) (Chérif *et al.*, 1994; Fauteux *et al.*, 2005; Qin & Tian 2005; Restrepo, 2007). Aunque BiS presentó diferentes grados de inhibición sobre el crecimiento y desarrollo de los patógenos evaluados, solo en *Phytophthora* spp. en caco supero ligeramente al testigo absoluto. Resultados similares a los que reporta Mills *et al.* (2004) donde encuentran efecto similar, al estimular el crecimiento de *Verticillium albo-atrum* y Ochoa *et al.* (2015) sobre *M. roseri* utilizando bicarbonato de sodio al 10%.

Otras investigaciones mencionan al bicarbonato de sodio como alternativa de manejo, al reducir un 69% la severidad de la roya blanca (*Puccinia horiana*) del crisantemo (Rodríguez *et al.*, 1996) y mildew polvoso del pepino *Sphaerotheca fuliginea* (Reuveni *et al.*, 1996; Dik *et al.*, 2003). Pérez *et al.* (2010) señala que a dosis del 1% reduce la severidad de daño de cenicilla en el follaje de *Cucumis sativus*, mientras Dessalegn *et al.* (2013) reportan control en postcosecha la antracnosis del mango, al sumergir los frutos con una solución de bicarbonato de sodio al 3% a 51.5 °C. Sin embargo, estos resultados no coinciden con los de la investigación ya que se encontró crecimiento y desarrollo del patógeno.

Respecto a los extractos vegetales se encontró que todas las concentraciones del de pimienta hoja presentaron diferentes grados de inhibición sobre el crecimiento y desarrollo de los cuatro patógenos, tal como se aprecia en el cuadro 25, es de destacar que a concentración del 40% inhibió totalmente a *Phytophthora* spp. aislado de cacao, *A. alternata* aislado de tomate y *C. gloeosporioides* aislado de mango y papaya, a concentración del 20 y 30% redujeron del 47 al 100% el crecimiento radial de los hongos y en formación y germinación de conidias del 52.15 al 100%. Mientras concentraciones del 10% el efecto fue casi nulo en algunos patógenos y en otros presentaron inhibición del 1.34 al 47.87%. El efecto de inhibición puede deberse a los metabolitos secundarios, estos ejercen cierta actividad fúngica a medida que la concentración se incrementa, estudios por Hernández *et al.* (2003) indican la actividad antimicrobiana con aceite de hoja de *P. dioica* L., siendo el principal componente el eugenol. Por su Ramírez *et al.* (2007) reporta inhibición totalmente el crecimiento y formación de zoosporas de *P. palmivora* en cacao en condiciones de laboratorio. Otras

investigaciones reportan diferentes grados de inhibición sobre *C. gloeosporioides*. Silva *et al.* (2011) reporta el 61% de inhibición del crecimiento micelial y la germinación *C. gloeosporioides* aplicando aceite de neem (*Azadirachta indica*). Mientras Guédez *et al.* (2014) registra actividad antifúngica del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis* L.) sobre hongos postcosecha en frutos de lechosa (*Carica papaya* L.) y Narváez *et al.* (2017) inhibición del 100% en el crecimiento radial de *C. gloeosporioides* en papaya con el uso de 4% de solución *Citrus sinensis* L.

El extracto *T. spathacea* al 40% registra inhibición de 100% en *C. gloeosporioides* aislado de mango y *Phytophthora* spp., aislado de cacao, mientras a concentraciones inferiores (30, 20 y 10%) reduce considerablemente del 81.42 al 0%. Estos resultados concuerdan a los que reporta Ramírez *et al.* (2007) al controlar a *P. palmivora* de cacao en condiciones de laboratorio con *T. spathacea* a concentración del 50%(V:V); mientras a concentraciones del 30% (V:V) inhibe totalmente a *M. roreri* (Ramírez *et al.*, 2011) empleando el método por hidrodestilación. El efecto que puede poseer maguey morado se deba a los compuestos como los fenoles. Reyes *et al.* (2009) menciona que el extracto de las hojas frescas de maguey morado contiene propiedades antioxidantes, fenoles y una humedad de 91,5%. El tratamiento de pimienta fruto ejerció un menor efecto de inhibición en los cuatro patógenos, respecto al extracto de maguey morado y pimienta hoja.

El tratamiento de pimienta fruto registró reducción sobre el crecimiento del 6.34 al 22% y en formación y germinación de esporas del 0 al 91.49%. estos resultados difieren a Ramírez *et al.* (2016) donde reporta que los extractos de pimienta fruto obtenidos por destilación y asistido por microondas inhiben *in vitro* a *C. gloeosporioides* en papaya a concentraciones del 30 y 20%. Esta misma autora menciona encontrar crecimiento y desarrollo de *A. solani* y *F. oxysporum* utilizando el extracto de pimienta fruto obtenidos por destilación y asistido por microondas al 30%. Mientras Ramírez *et al.* (2007) menciona el efecto de inhibición en *P. palmivora* a concentración del 50% (volumen/volumen) en condiciones de laboratorio.

Respecto a jengibre solo presentó inhibición en el crecimiento radial del hongo de *C. gloeosporioides* aislado de mango y *Phytophthora* spp., aislado de cacao, mientras en *C. gloeosporioides* aislado de papaya y *Alternaria alternata* aislado de tomate estimuló su crecimiento. Resultados que corroboran a los de Montes *et al.* (2000) donde evaluaron 206 especies vegetales contra 26 especies de hongos fitopatógenos, y encontraron que entre 32 y 51% de las plantas evaluadas, interactuaban con los hongos y causaban desde estimulación biológica hasta inhibición total. Ramírez *et al.* (2007) mencionan inhibición total de *P. palmivora* aislado cacao utilizando concentración del 50% (V: V). Esta misma autora obtiene el mismo efecto fúngico de en *M. roreri* a concentraciones del 50, 40 y 30% (V: V) al inhibir al 100% el crecimiento y desarrollo del patógeno (Ramírez *et al.*, 2011). Mientras Joya *et al.* (2015) muestran que los hidrolatos de jengibre, obtenidos tanto con material fresco como seco al sol (45 g/L, relación 10:1) son capaces de inhibir la germinación de conidias de *M. roreri*.

y Tamayo *et al.* (2016) reportan inhibición del 100% el crecimiento micelial *M. roleri* aislado de cacao, utilizando jengibre a concentraciones de 50 y 40%.

Estos resultados muestran que los extractos vegetales y los preparados minerales presentan compuestos que ejercen una acción directa sobre el crecimiento y desarrollo de los cuatro patógenos evaluados, lo cual evidencia un alto potencial para el manejo de estas enfermedades a nivel de campo.

### **4.3 Etapa 3. Prueba de medio líquido**

#### **4.3.1 Determinación del medio para la formación y germinación de conidios de *A. alternata* y *C. gloeosporioides***

##### **4.3.1.1 *C. gloeosporioides* aislado de papaya**

En la figura 24 se aprecia los resultados de la evaluación para la determinación del mejor medio de cultivo para la producción de conidias de *C. gloeosporioides* aislado de papaya en cinco horas de conteo (24, 48, 72 y 96 horas). La primera variable evaluada fue la producción de conidias; la mayor producción de éstas estructuras se encontró en el tratamiento de papa+dextrosa+bicarbonato de sodio+agua que, durante las cinco horas de evaluación registró los mayores valores con respecto otros medios evaluados.

El análisis de varianza practicado para las cinco horas de evaluación indica la existencia de diferencias entre los tratamientos (cuadro A19). La prueba de comparación de medias por Tukey ( $P \leq 0.05$ ) registró diferencias significativas con el testigo absoluto (agua destilada estéril) con los demás tratamientos en las cinco momentos de evaluación, no obstante el tratamiento de papa+dextrosa+agua presentó mayor producción de esporas al tratamiento de papa+dextrosa+jugo V8®+bicarbonato de sodio+agua durante la primera evaluación, sin embargo estos resultados variaron durante las 24 y 96 horas, siendo superior el tratamiento a base de papa+dextrosa+ bicarbonato de sodio+agua. Los medios de cultivo a base de bicarbonato de sodio registraron mayor efecto en la producción a esporas por mL<sup>-1</sup> en comparación a los demás tratamientos. Estos resultados son similares a los que reporta Mills *et al.* (2004), al encontrar al bicarbonato de sodio como estimulante en el crecimiento de *Verticillium albo-atrum*, mientras Ochoa *et al.* (2015) en la moliniasis del cacao.



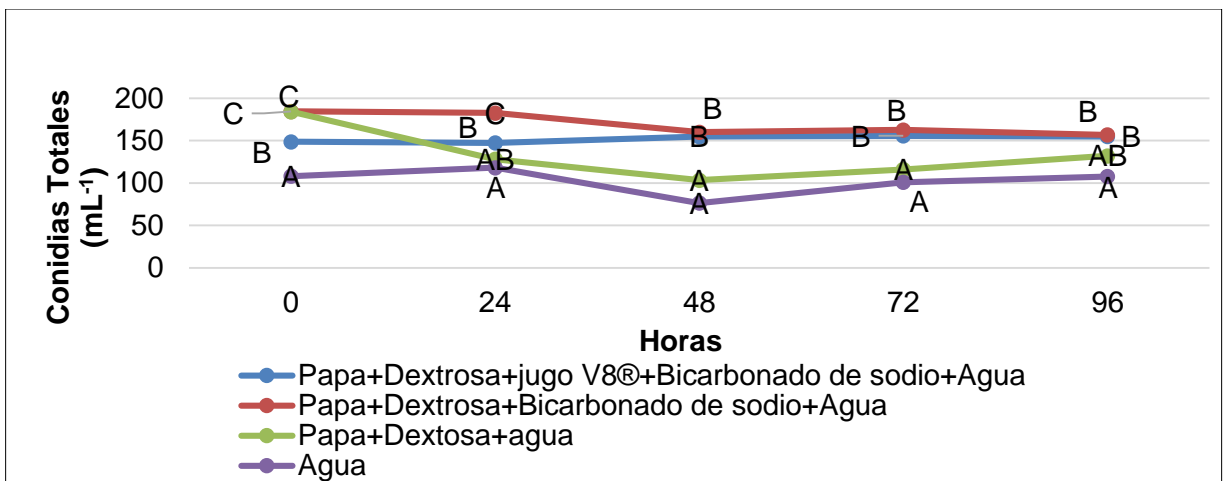


Figura 24. Evaluación de medios de cultivo para la formación de conidias de *C. gloeosporioides* durante cinco horas de conteo. \*Letras diferentes en cada hora de conteo presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

El comportamiento de los medios de cultivo sobre la germinación de conidias de *C. gloeosporioides* aislado de papaya durante las cinco horas de conteo, se puede observar en la figura 25.

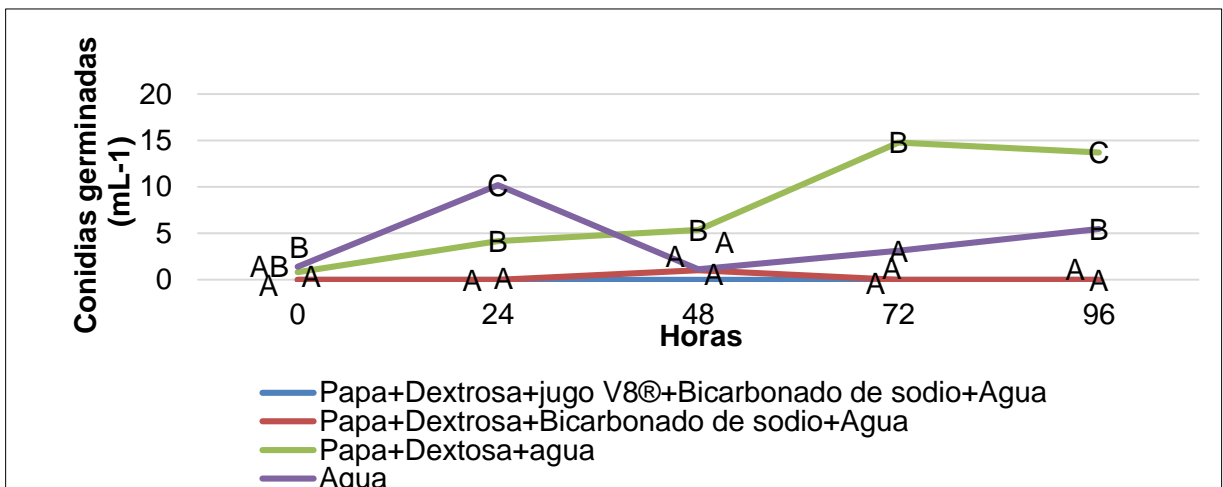


Figura 25. Evaluación de medios de cultivo para la formación de conidias germinadas de *C. gloeosporioides* durante cinco horas de conteo. \*Letras diferentes en cada hora de conteo presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Si bien los tratamientos a base de bicarbonato de sodio presentaron mayor número de esporas totales durante las 0 y 96 horas de conteo, estos dos tratamientos ejercieron menor efecto en la germinación de esporas en relación al tratamiento de papa+dextrosa+agua, donde se registró un aumento significativo de esporas germinadas durante las cuatro horas restantes de evaluación, pasando de 58.82% al 100% en relación a los demás tratamientos. Estos resultados del análisis de varianza indican diferencias entre los tratamientos para las cinco horas de evaluación y la

prueba de comparación de medias (cuadro A19) indica la existencia de diferencias estadísticas entre el medio de papa+dextrosa+agua con relación a los demás tratamientos el cual registró los mayores valores a las 48, 72 y 96 horas.

El testigo absoluto registró mayor número de conidias germinadas de *C. gloeosporioides* aislado de papaya a las 0, 72 y 96 horas en relación a los tratamientos a base de bicarbonato de sodio donde su comportamiento y efecto fue casi nulo, al no presentar un mayor porcentaje en la formación de estas estructuras. Resultados similares se obtuvieron con Ochoa *et al.* (2014) al inhibir la germinación de esporas *M. roleri* tratadas con bicarbonato de sodio al 50% de concentración.

#### 4.3.1.2 *Alternaria alternata* aislado de tomate

En la figura 26 se aprecia el comportamiento los cuatro medios de cultivo en solución líquida para evaluar la producción de esporas de *A. alternata* aislada de tomate durante cinco horas de conteo (0, 24, 38, 72 y 96 h).

El tratamiento de extracto de papa +dextrosa+ bicarbonato de sodio+ agua presentó el mejor comportamiento en la producción de esporas por mL durante las dos primeras horas de conteo (0 y 24 h), seguidos del tratamiento papa+dextrosa+jugo V8®+ bicarbonato de sodio+ agua.

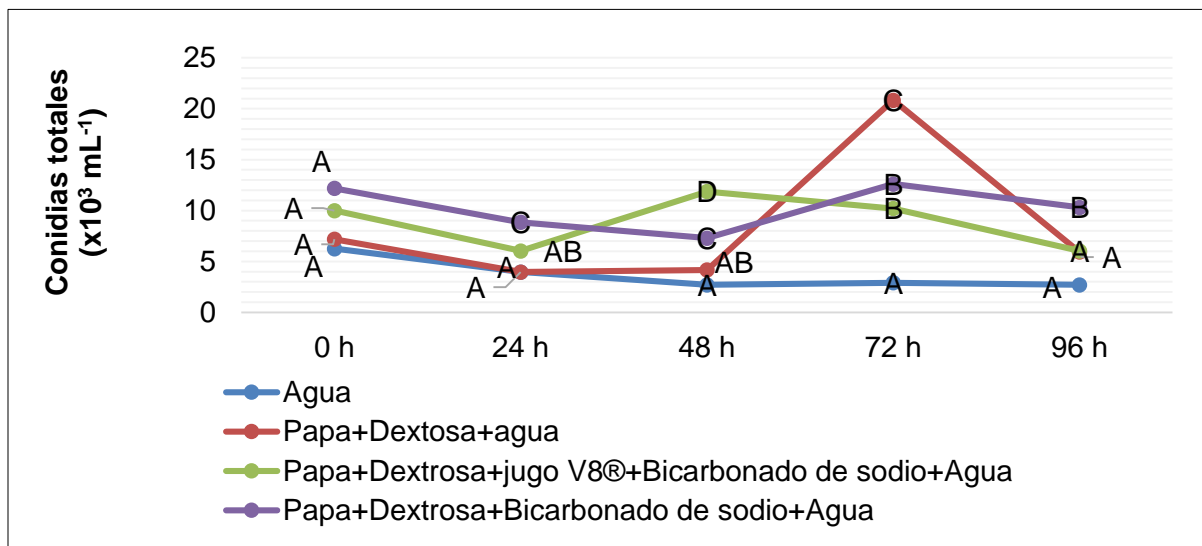


Figura 26. Evaluación de medios de cultivo para la formación de conidias de *A. alternata* aislado de tomate durante cinco horas de conteo. \*Letras diferentes en cada hora de conteo presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Durante las siguientes evaluaciones los tratamientos a base de papa+ dextrosa manifestaron un crecimiento significativo en la formación de esporas de *A. alternata*, a diferencia del testigo absoluto, donde registró una disminución del número de esporas durante las cinco horas de conteo.

Los medios de cultivos tratados con bicarbonato de sodio y jugo V8® registraron un mejor comportamiento en las dos primeras evaluaciones, mientras a las 48 horas estas

descendieron significativamente, a las 72 horas el tratamiento con extracto de papa+dextrosa+ agua presentó el mayor número de conidias totales respecto a los demás tratamientos, encontrando con ellos diferencias significativas.

El testigo absoluto redujo el porcentaje de esporas durante las cinco evaluaciones pasando de 51.28 al 14%, este efecto pudo deberse a que las esporas no tenían las condiciones germinar y comenzar con el proceso de reproducción. Para el caso de los demás tratamientos se observó diferentes picos de aumento y disminución de número total esporas; sin embargo, el tratamiento de papa+dextrosa+ agua presentó un comportamiento más constante en el transcurso de las cinco horas de evaluación, registrando diferencias estadísticas con los demás tratamientos.

En relación a las conidias germinadas por mL, el comportamiento de los medios de cultivo para *A. alternata* se puede apreciar en la figura 27. El efecto que ejercen dichos medios de cultivos fueron estadísticamente iguales en la primera hora de conteo, sin embargo, a las 24 horas este efecto cambio al aumentar ligeramente el número de esporas germinadas en el tratamiento de papa+dextrosa+bicarbonato de sodio+agua. Durante la tercera evaluación el tratamiento de papa+dextrosa+jugo V8®+bicarbonato de sodio+agua presentaron mayor número de esporas germinadas, sin embargo, estas disminuyeron en las siguientes dos evaluaciones.

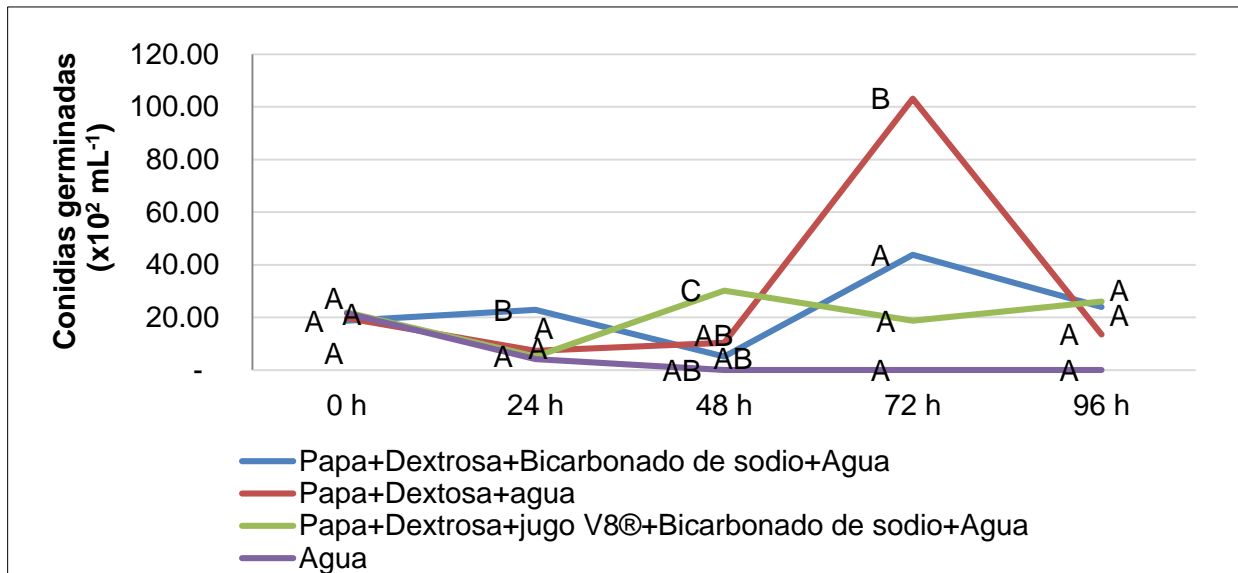


Figura 27. Evaluación de medios de cultivo para la formación de conidias germinadas de *A. alternata* aislado de tomate durante cinco horas de conteo. \*Letras diferentes en cada hora de conteo presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

Análisis de varianza (Cuadro A20) indicó la existencia de diferencias entre los tratamientos. En la cuarta hora de conteo el tratamiento que sobresalió fue el extracto de papa+dextrosa+agua superando los medios de cultivos a base de bicarbonato de sodio, y la prueba de comparación de medias Tukey ( $P \leq 0.05$ ) registró diferencias estadísticamente significativas entre este tratamiento con los demás.

En base al número de conidias germinadas los tratamientos con bicarbonato de sodio estimularon ligeramente a la formación de estas estructuras superando el testigo absoluto, este mismo efecto lo reporta Mills *et al.* (2004) y Ochoa *et al.* (2015) al promover el número de conidias totales de *Verticillium albo-atrum* y de la moliniasis del cacao. Otras investigaciones reportan como alternativa de manejo en la roya blanca (*Puccinia horiana*) del crisantemo, al reducir un 69% la severidad (Rodríguez *et al.*, 1996). Mientras Pérez *et al.* (2010) señalan que a dosis del 1% reduce la severidad de daño de cenicilla en el follaje de *Cucumis sativus* y la antracnosis del mango en postcosecha (Dessalegn *et al.*, 1992).

### **4.3.2 Determinación del efecto del preparado mineral y extracto vegetal en la formación y germinación de conidios**

#### **4.3.2.1 Prueba medio líquido de *C. gloeosporioides* aislado de papaya**

En la figura 28 se aprecia los resultados de los conteos de esporas realizados a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas después de inoculación utilizando el medio seleccionado de papa+dextrosa+ agua.

El extracto de hojas de pimienta y polisulfuro de calcio al 50% provocaron la mayor mortalidad de esporas en todas las horas de evaluación, mostrando diferencia estadísticamente significativa con el testigo.

A las cero horas el extracto de hoja de pimienta y polisulfuro de calcio al 50% redujeron del 49.96 al 42.31%, a las 24 horas el porcentaje de reducción fue mayor del 82.23 al 57.21%, mientras a las 48 horas el porcentaje de inhibición disminuyó al presentar conidias totales del 21.16 al 18.82%. A las 72 horas el preparado mineral de polisulfuro de calcio solo registró inhibición del 13.08% en la formación de conidias, mientras pimienta hoja al 50% [V:V] el efecto fue nulo al superar ligeramente al testigo absoluto, sin embargo no se encontró diferencias significativas entre los tratamientos; a las 96 horas de conteo el porcentaje aumento, al registrar inhibición de conidias totales del 49.87 y 69.81% respecto al testigo absoluto, mismos que presentaron diferencias significativas. Estos resultados son similares a los que reporta Ramírez *et al.* (2011b) al encontrar reducción del 74.7% a las 72 h con PC sobre *M. royeri* y Ochoa *et al.* (2015) registra diferentes porcentajes de inhibición con polisulfuro de calcio en medio líquido durante las cinco hora de conteo reduciendo el número de esporas hasta 79.9%.

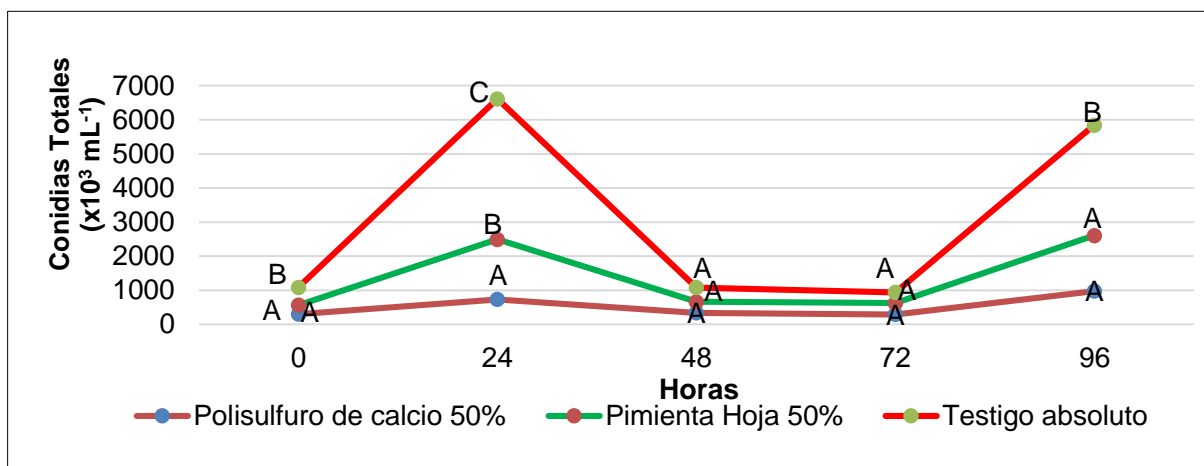


Figura 28. Efecto del polisulfuro de calcio y extracto de hoja de pimienta sobre la formación de conidios de *C. gloeosporioides* aislado de papaya durante cinco horas de conteo. \*Letras diferentes en cada hora de conteo presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

En la figura 29 se observan el comportamiento el efecto del extracto y preparado mineral a concentración del 50% sobre conidias germinadas de *C. gloeosporioides* aislado de papaya durante las cinco horas de evaluación. El análisis de varianza practicado (cuadro A21) registró diferencias entre los tratamientos para las cinco evaluaciones.

El extracto de hoja de pimienta, presento inhibición total de conidias germinadas de *C. gloeosporioides* aislado de papaya, al no permitir la formación de estas estructuras durante las cinco horas de evaluación, en relación al testigo absoluto, con el cual registró diferencias estadísticas. El polisulfuro de calcio, aunque presentó algunas conidias germinadas, la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) no registró diferencias significativas con el extracto de hoja de pimienta, pero si con el testigo absoluto.

El extracto de hoja de pimienta no ha sido reportado para la prueba en medio líquido, pero existen antecedentes en otras evaluaciones sobre el control de patógenos a nivel *in vitro*. Hernández *et al.* (2003) reporta la actividad antimicrobiana con aceite de hoja de *Pimenta dioica* L., siendo el principal componente el eugenol. Ramírez *et al.* (2016) reportan control *in vitro* de *C. gloeosporioides* con extracto de frutos secos de pimienta al 30 y 20%, mientras Ramírez *et al.* (2007) a *P. palmivora* en cacao mediante el uso del extracto de hojas de pimienta a concentración del 50% (volumen/volumen).

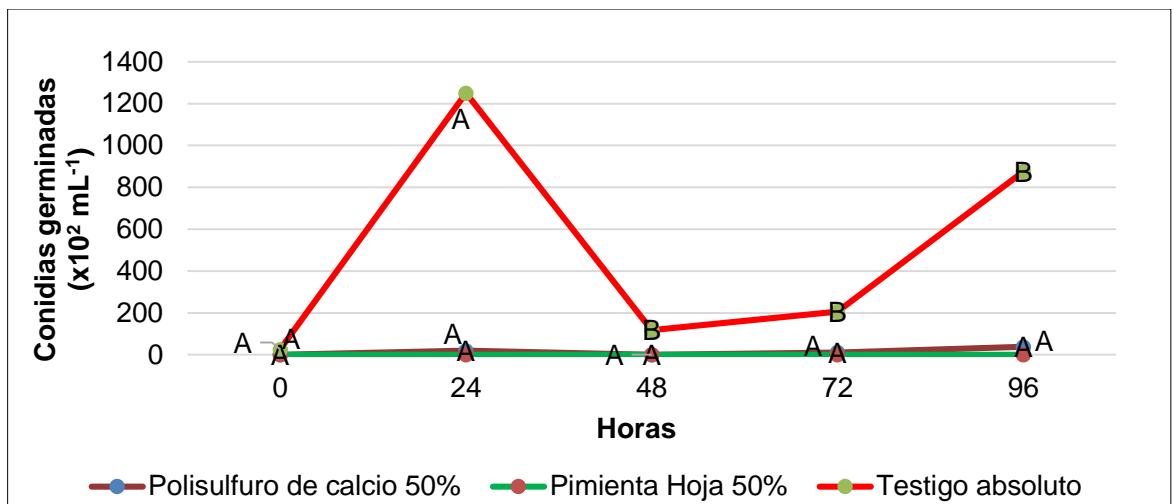


Figura 29. Efectos de los tratamientos sobre la formación de conidias germinadas de *C. gloeosporioides* aislado de papaya durante las cinco horas de evaluación. \*Letras diferentes en cada hora de conteo presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

La eficacia de polisulfuro de calcio al 50% se aprecia a partir de las 24 h al reducir el número de conidias germinadas el 98.44%, mientras para las 72 y 96 horas se observó inhibición del 94.59 al 95.7%, encontrando diferencias significativas con el testigo absoluto a partir de las 48 horas de conteo. Los resultados son similares a los Ramírez (2013) y Ramírez *et al.* (2011) al reportar reducción del número de conidias producidas y germinadas de *M. roreri*, al tratarlos con polisulfuro de calcio al 10%, mientras Ochoa *et al.* (2015) indican mortalidad de esporas germinadas 98.2 y 79.9%.

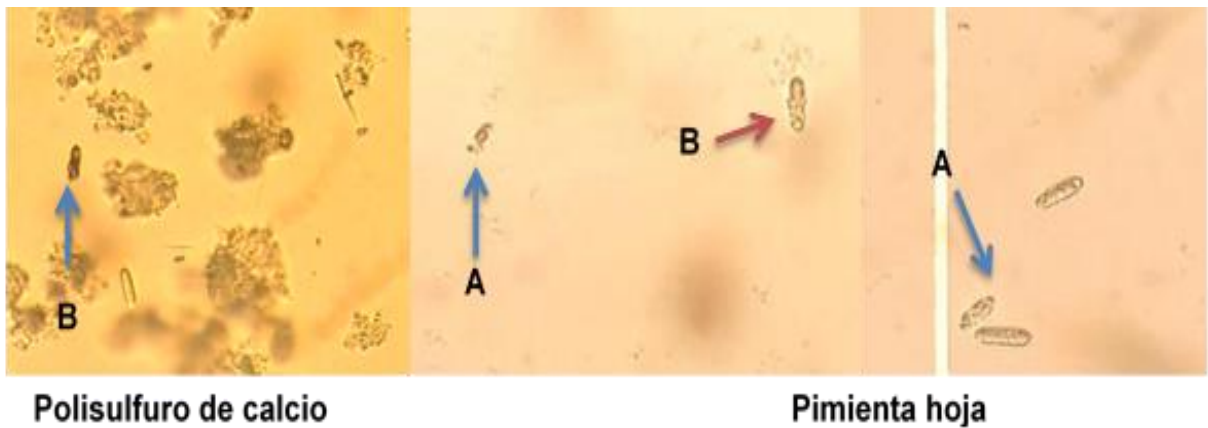


Figura 30. Efectos ejercidos por PC y hoja de pimienta sobre *C. gloeosporioides* a las 96 horas; A) Degradación y ruptura de la pared celular, B) Espora deshidratada por la exposición al extracto vegetal y/o preparado mineral.

#### 4.3.2.2 Prueba en medio líquido de *C. gloeosporioides* aislado de mango

En la figura 32 se aprecia los resultados de los conteos de esporas realizados a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas después de inoculación. El análisis de varianza practicado (Cuadro A22) indica diferencias significativas para las variable conidias totales.

El extracto de hoja de pimienta al 50% presentó menor formación de conidias al reflejar inhibición del 70.86 al 99.87% y CBS del 58.18 al 99.49%. Los resultados indican que tanto el mineral y el extracto vegetal ejercen diferentes grados de inhibición, al reducir el número de conidias totales respecto al testigo, misma que se encontraron diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ), para las diferentes horas de evaluación.

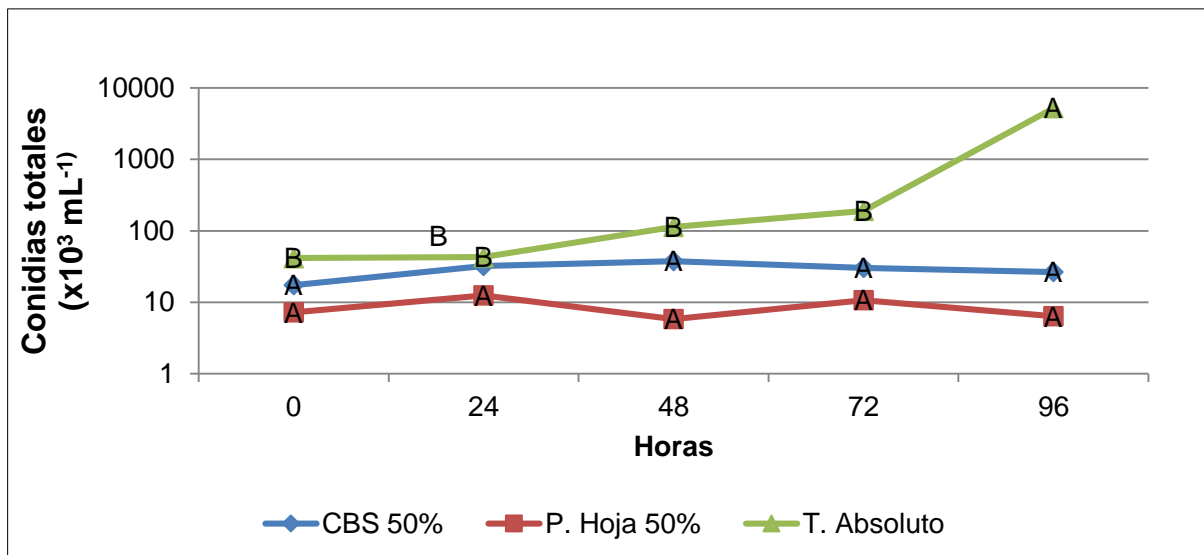


Figura 31. Efecto del extracto de hoja de pimienta y CBS sobre la formación de conidios de *C. gloeosporioides* aislado de mango durante cinco horas de conteo. \*Letras diferentes en cada hora de conteo presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Respecto a CBS existen antecedentes de la efectividad del producto en medio líquido al reducir el número de esporas de *M. roseri* durante cinco horas en relación al testigo absoluto (Ochoa *et al.*, 2015). Resultados que coinciden con esta investigación al encontrar una disminución de esporas durante las 24 a las 96 horas, donde CBS redujo significativamente la producción de esporas en relación al testigo absoluto.

En la figura 32 se aprecia los resultados de la variable esporas germinadas de *C. gloeosporioides* aislado de mango durante cinco horas de evaluación bajo los efectos del extracto de hoja de pimienta y CBS al 50%.

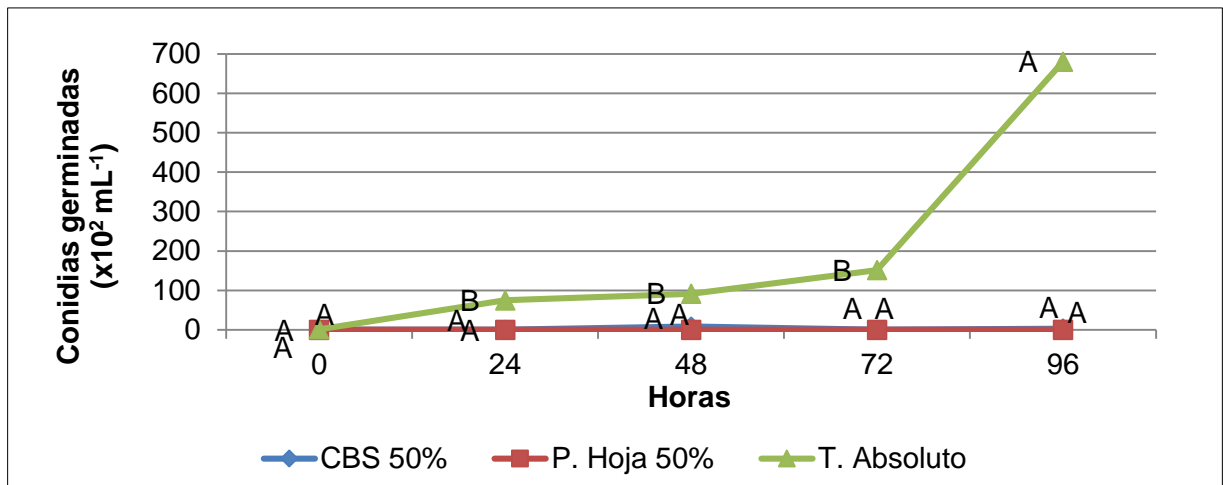


Figura 32. Efecto del extracto de hoja de pimienta y CBS en la formación de conidias germinadas de *C. gloeosporioides* aislado de mango durante cinco horas de conteo. \*Letras diferentes en cada hora de conteo presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

La eficacia del extracto de hoja de pimienta y CBS al 50% al inhibir las germinación de las conidias se aprecia desde las 24 horas, a las 48 y 96 horas redujeron del 90.91 al 99.59% en relación al testigo absoluto donde mostro mayor producción de estas estructuras; el Análisis de varianza (cuadro A22) registró diferencias estadísticas entre los tratamientos y la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) indica diferencias estadísticas entre el CBS y la hoja de pimienta con respecto al testigo absoluto pero no entre ellos. Estos efectos lo han documentado, Ochoa *et al.* (2015) señalan reducción de conidios de *M. roleri* utilizando CBS a diferentes concentraciones. Respecto al extracto de hoja de pimienta el efecto de inhibición fue inmediato al no presentar esporas germinadas durante las cinco observaciones. Este efecto no ha sido documentado sobre medio líquido para *C. gloeosporioides* aislado de mango, sin embargo, existen otras publicaciones donde evalúan *in vitro* la actividad antimicrobiana con aceite de hoja de *P. dioica* L. (Hernández *et al.*, 2003) mientras Ramírez *et al.* (2016) reportan control *in vitro* de *C. gloeosporioides* con extracto de frutos secos de pimienta al oncentraciones del 30 y 20%. Otros estudios señalan la actividad fungicidad los extractos vegetales, Hernandez *et al.* (2016) demuestra dicha actividad, al obtener inhibición del 100% el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* y *Pestalotiopsis clavispora* al tratarlos con extractos crudos de *Argemone ochroleuca*, *Lantana hirta* y *Adenophyllum porophyllum*, obtenidos por macerado (acetato de etilo) a una concentración de 5 mg/mL, mientras los extractos de *L. hirta* obtenidos por Soxhlet (extractos etanólicos y de acetato de etilo) inhibieron 50 y 58% respectivamente, a *C. gloeosporioides*.



#### 4.3.2.3 Prueba medio liquido de *Alternaria alternata* aislado de tomate

En la figura 33 se aprecia los resultados del efecto del extracto de hoja de pimienta y polisulfuro de calcio al 50% sobre la producción de conidias totales de *Alternaria alternata* aislado tomate durante en cinco horas de conteo (24, 48, 72 y 96 horas).

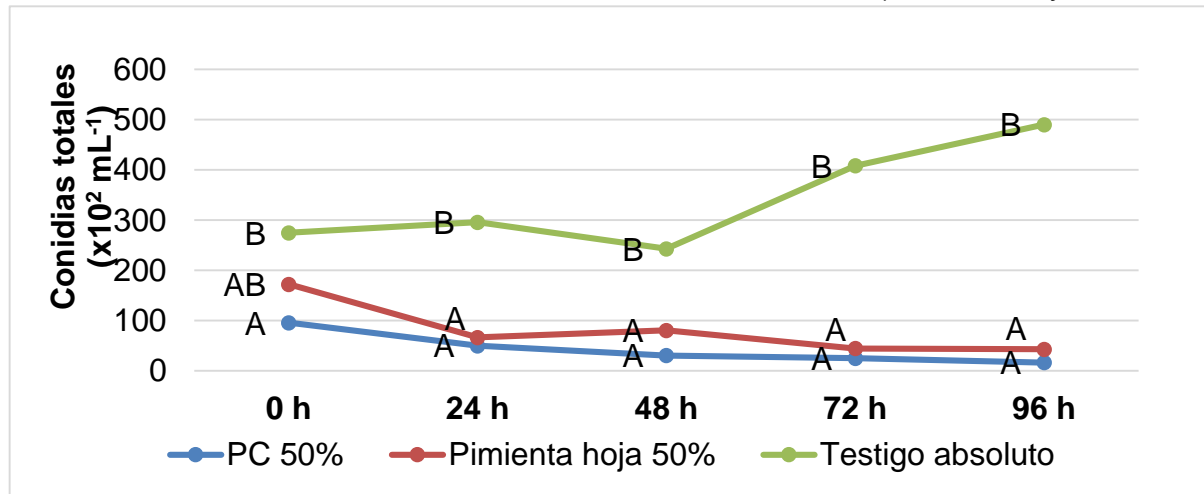


Figura 33. El efecto del extracto de pimienta hoja y polisulfuro de calcio en la formación de conidias de *Alternaria alternata* aislado de tomate durante cinco horas de conteo. \*Letras diferentes en cada hora de conteo presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

El Polisulfuro de calcio al 50% fue el mejor tratamiento al inhibir el mayor número de conidias totales durante las cinco evaluaciones, a las 0 horas este tratamiento redujo el 65.15% mientras a las 96 horas este porcentaje aumento hasta llegar a inhibir el 96.60%. Este mismo comportamiento se puede apreciar con el extracto de hoja de pimienta, aunque el porcentaje de inhibición fue menor, registró reducción de conidios entre 37.37 al 84.34% con respecto al testigo, durante las cinco horas de conteo. De acuerdo a la metodología aplicada, tanto el extracto vegetal y preparado mineral presentan reducción de conidas conforme al paso tiempo, tal como se observa en la figura 34. El análisis de varianza (cuadro A23) indica que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos, y la Prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) registró diferencias estadísticas entre pimienta hoja y PC con respecto al testigo absoluto, pero no entre ellos para las cinco horas de evaluación.

Los resultados de la germinación de conidias de *A. alternata* se pueden observar en la figura 34, en la cual se aprecia que el extracto de pimienta hoja y el polisulfuro de calcio al 50% mostraron inhibición de la germinación de estas estructuras.

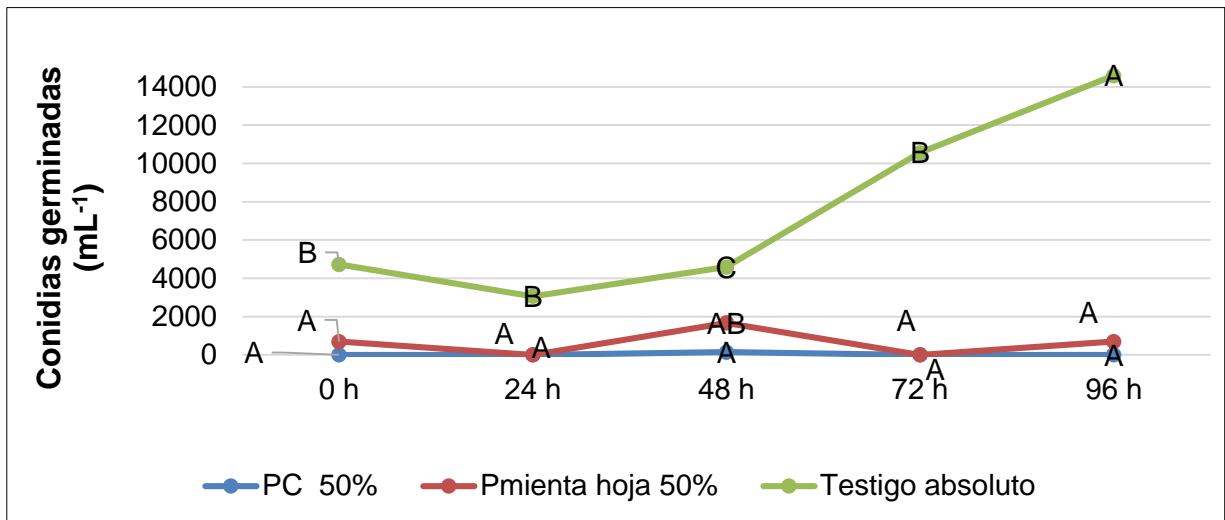


Figura 34. El efecto del extracto de pimienta hoja y polisulfuro de calcio en la formación de conidias germinadas de *A. alternata* aislado de tomate durante cinco horas de conteo. \*Letras diferentes en cada hora de conteo presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

El Polisulfuro de calcio registró inhibición del 100% durante los conteos a 0, 24, 72 y 96 horas, mientras a las 48 horas de evaluación redujo el 95.23%. Respecto al extracto de hoja de pimienta al 50% registró inhibición del 100%, durante dos horas de evaluación (a las 24 y 72 horas), a las 0 y 96 horas ejercieron inhibición del 82.75 al 95% respectivamente, mientras el menor efecto de inhibición los registró a las 48 horas (47.61%). El análisis de varianza (Cuadro A23) indica la existencia de diferencias estadísticas entre los tratamientos. Y la Prueba de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) registró diferencias significativas entre el extracto de hoja de pimienta y Polisulfuro de calcio con respecto al testigo absoluto, pero entre ellos.

Tanto en conidias totales y germinadas el polisulfuro de calcio al 50% logró controlar efectivamente *A. alternata*, resultados que son similares a los reportados por Ghorbani y Wilcockson (2007) quienes señalan que el polisulfuro de calcio es efectivo contra mildes polvosos y el tizón tardío de la papa (*P. infestans*). Por su parte, Desrosiers y Díaz (1955) encontraron un efecto significativo de seis fungicidas, donde el más eficaz fue el azufre mojable logrando una reducción del 85% en porcentaje de infección y un incremento del 290% en el rendimiento, aunque éste último se atribuye también al control ejercido sobre otros problemas fitosanitarios presentes en el cultivo.

Aunque el extracto de la hoja de pimienta al 50% no presentó el mayor porcentaje de inhibición respecto al tratamiento mineral, este ejerció inhibición del 47.61 al 100% durante las cinco evaluaciones, resultados mayores a los que reportó Sánchez *et al.* (2007) al tratarlos con quinosato a concentraciones del 2.5%.

En la figura 35 se aprecia el modo de acción tanto del extracto vegetal y preparado mineral sobre *A. alternata* aislado de tomate. En esta figura (36 A) se observan esporas firmes y germinadas encontradas en el tratamiento testigo, mientras las que se estuvieron en contacto con el extracto de hoja de pimienta y/o polisulfuro de calcio presentaron ruptura y degradación de la pared celular de las esporas (36 B y C). Este mismo efecto lo reporta Ochoa *et al.* (2015) al tratar la moniliasis del cacao con preparados minerales.

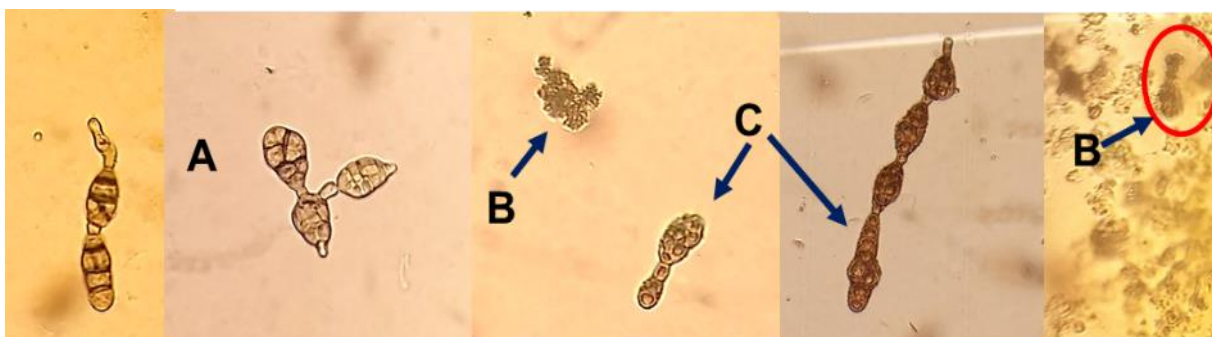


Figura 35. Efectos ejercidos por PC y extracto de hoja de pimienta sobre *Alternaria alternata* aislado de tomate a las 48 horas; A) Espora normal del patógeno, B) Degradación y ruptura de la pared celular, C) Espora deshidratada por la exposición al extracto vegetal y/o preparado mineral.

#### 4.3.2.4 Prueba medio liquido de *Phytophthora* spp. aislado de cacao

El efecto de los tratamientos evaluados sobre la producción de zoosporas en *Phytophthora* spp. aislado de cacao se aprecia en la figura 36. Se observa que el Polisulfuro de calcio y la hoja de pimienta al 50% redujeron significativamente el número de zoosporas del patógeno durante las cinco evaluaciones. En la primera hora de conteo, registraron inhibición del 74.83 al 78.92%, estos porcentajes de inhibición fueron aumentando durante las siguientes dos evaluaciones (24 y 48 horas). El análisis de varianza (cuadro A24) indica que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ), la Prueba de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) registró diferencias estadísticas del polisulfuro de calcio y el extracto de hoja de pimienta con respecto al testigo en las cinco horas de evaluación, pero no entre ellos para las 0, 24 y 48 horas, pero si para las 72 y 96, presentando un menor número de zoosporas el tratamiento con el producto mineral.

En las evaluaciones de las 72 y 96 horas, el polisulfuro de calcio aumento el porcentaje de inhibición sobre la producción de zoosporas totales, el caso contrario fue observado con el extracto de hoja de pimienta donde presento mayor número de estas estructuras, sin embargo, no sobrepaso los resultados del testigo absoluto, el cual mantuvo la producción de zoosporas más alta, mismos que se encontraron diferencias estadísticas.

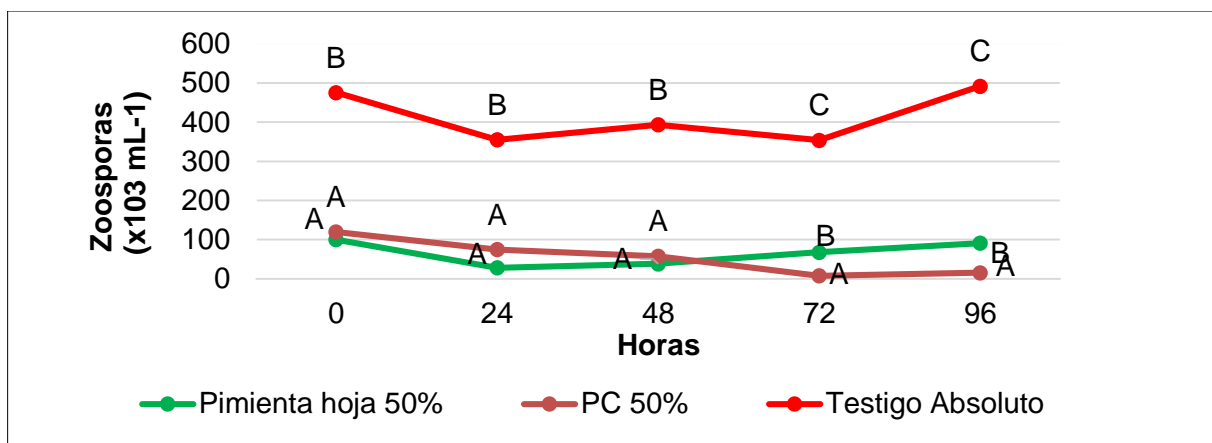


Figura 36. Cuantificación de zoosporas de *Phytophthora* spp. aislado de cacao durante cinco horas de conteo. \*Letras diferentes en cada hora de conteo presentan diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Tanto el extracto de hoja de pimienta y el polisulfuro de calcio presentaron la mayor mortalidad de zoosporas de *Phytophthora* spp., siendo una buena alternativa de control para este patógeno. Estos resultados son similares a los encontrados por Ramírez *et al.* (2016) que reportan el control *in vitro* de *A. solani*, *F. oxysporum*, *C. gloeosporioides* con extracto de frutos secos de pimienta al 30 y 20%; mientras Ochoa *et al.* (2015) indican mortalidad de esporas germinadas de *M. roreri* entre 98.2 y 79.9% al tratarlos con polisulfuro de calcio, este mismo efecto lo reporta Ramírez *et al.* (2011) al encontrar reducción del número de conidias producidas y germinadas de *M. roreri* con PC al 10%.

#### 4.4 Etapa 4. Efectividad de extractos y preparados minerales sobre *C. gloeosporioides* en poscosecha

##### 4.4.1 Poscosecha en mango

Los resultados del comportamiento de los tratamientos evaluados en frutos de mango sobre el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* durante 14 días (cada 24 horas) se aprecian en el cuadro 26. en el cual se aprecia que el tratamiento del testigo inoculado presento crecimiento desde el día 1, mientras que el testigo químico inicio hacia el día 4 con un valor de crecimiento similar al del testigo inoculado, seguido por el tratamiento de hoja de pimienta asperjado 24 horas después de la inoculación con crecimiento hacia el día 6; los demás tratamientos iniciaron crecimiento hasta el día 7, sin embargo registraron diferencias estadísticas entre el CBS (asperjado antes y después de la inoculación) y el extracto de hojas de pimienta (asperjado antes y después de la inoculación) con el testigo químico y el testigo inoculado, situación similar se registró para los siguientes días.

Sin embargo para el día 14 se apreció que el tratamiento del extracto de hoja de pimienta asperjado 24 horas después de la inoculación registró el menor valor de crecimiento del patógeno, seguido por el CBS asperjado 24 horas después de la

inoculación, registrando diferencias estadísticas entre ellos y con los demás tratamiento, seguido por el tratamiento de los tratamiento CBS asperjado 24 horas antes de la inoculación y del extracto de hoja de pimienta asperjado 24 horas antes de la inoculación los cuales no registraron diferencias estadísticas entre ellos pero si con los demás tratamientos, incluido el testigo químico el cual fue el tratamiento que presentó el mayor crecimiento micelial aun mayor que el del testigo inoculado y registrando diferencias estadísticas entre ellos.

Cuadro 26. Crecimiento micelial *C. gloeosporioides* durante 14 días sobre frutos de mango inoculados.

Tratamientos/ crecimiento (mm)	Día 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
CBS 30% 24 h antes de la inoculación	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0.2 <sup>a</sup>	0.8 <sup>ab</sup>	2 <sup>ab</sup>	2.6 <sup>ab</sup>	4.5 <sup>ab</sup>	6.1 <sup>ab</sup>	7.8 <sup>ab</sup>	7.8 <sup>abc</sup>
CBS 30% 24 h después de inoculación	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0.5 <sup>a</sup>	0.7 <sup>ab</sup>	0.9 <sup>ab</sup>	2. <sup>ab</sup>	2.0 <sup>ab</sup>	2.6 <sup>ab</sup>	4.3 <sup>ab</sup>	5 <sup>ab</sup>
Pimienta hoja 30% 24 h antes de inoculación	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0.7 <sup>a</sup>	1.3 <sup>ab</sup>	2. <sup>ab</sup>	2.4 <sup>ab</sup>	2.5 <sup>ab</sup>	3.2 <sup>ab</sup>	3.8 <sup>ab</sup>	5.7 <sup>ab</sup>
Pimienta hoja 30% 24 h después de inoculación	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	.07 <sup>a</sup>	0.1 <sup>a</sup>	0.6 <sup>ab</sup>	1.5 <sup>ab</sup>	2 <sup>ab</sup>	2.7 <sup>ab</sup>	3.7 <sup>ab</sup>	4 <sup>ab</sup>	4.7 <sup>a</sup>
Testigo químico	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0.4 <sup>a</sup>	0.4 <sup>a</sup>	0.7 <sup>a</sup>	1.2 <sup>ab</sup>	1.9 <sup>ab</sup>	3.7 <sup>ab</sup>	5.5 <sup>ab</sup>	7.8 <sup>b</sup>	9.9 <sup>b</sup>	13.2 <sup>b</sup>	15.4 <sup>c</sup>
Testigo inoculado	0.2 <sup>a</sup>	0.2 <sup>a</sup>	0.4 <sup>a</sup>	0.4 <sup>a</sup>	1.2 <sup>b</sup>	1.8 <sup>b</sup>	2.4 <sup>b</sup>	3.0 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>	6.7 <sup>b</sup>	7.5 <sup>b</sup>	8.4 <sup>ab</sup>	12.3 <sup>b</sup>	14.5 <sup>bc</sup>
Testigo sin inocular	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>

\*Letras iguales entre columnas no presentan diferencias estadísticamente significativas en la prueba de comparación de medias (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

Los tratamientos de CBS al 30% mostraron presencia del patógeno hasta los siete días después de la inoculación de *C. gloeosporioides* en frutos de mango, constatando la presencia de la enfermedad mediante las lesiones necróticas típicas en la superficie de los frutos en comparación a los testigos evaluados (inoculado y químico), a los 14 días el Caldo bórdeles más sulfato de zinc y magnesio al 30% tanto en pre-inoculación y pos-inoculación presentaron menor crecimiento radial de *C. gloeosporioides* del inhibir del 45.81 al 65.51 con respecto al testigo inoculado. Estos resultados concuerdan con Thompson (1987), donde argumenta que los productos a base de cobre son efectivos el control de la antracnosis del mango. En relación a los tratamientos de hoja de pimienta asperjado en pre-inoculación y pos-inoculación (24 horas antes y 24 horas después de la inoculación) presentó inhibiciones 60.59 al 67.48 69.44%, en comparación con el testigo inoculado. El efecto fúngico del extracto puede estar promovido por la formación de algún compuesto secundario (monoterpenos, los sesquiterpenos y los componentes ferúlicos), el cual permitido la inhibición en el crecimiento de *C. gloeosporioides*. Resultados similares encontró Hernández *et al.* (2003) al reportar la actividad antimicrobiana con aceites de hoja de *P. dioica* L. siendo el eugenol el responsable de dicha actividad.

En el cuadro 27 se observa el efecto de los tratamientos evaluados en pre-inoculación y pos-inoculación sobre la formación de esporas totales y germinadas de *C.*

*gloeosporioides* en frutos de mango. El mejor efecto fúngico se observó en el extracto de pimienta hoja al 30% asperjado 24 h después de inoculación, al presentar menor número de conidias totales en relación al extracto asperjado 24 horas antes de inoculación y a los demás tratamientos. Respecto al preparado mineral CBS al 30% el efecto que ejerció fue al contrario, al encontrar en pre-inoculación menor número de conidias. El análisis de varianza (cuadro A25) indica que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ), al registrar a pimienta hoja y CBS al 30% los mejores efectos de inhibición respecto al testigo absoluto y al testigo químico.

Cuadro 27. Efecto del extracto hoja de pimienta y CBS al 30% sobre la formación de conidias totales y germinadas de *C. gloeosporioides* en frutos de mango.

Tratamientos	Conidias totales ( $\times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ )	Conidias germinadas ( $\times 10^3 \text{ mL}^{-1}$ )
CBS 24 h antes de la inoculación	4.76 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
CBS 24 h después de la inoculación	7.14 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
P. hoja 24 h antes de inoculación	5.71 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
P. hoja 24 h después de inoculación	3.57 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Testigo químico	15.32 <sup>b</sup>	4.76 <sup>ab</sup>
Testigo inoculado	67.11 <sup>b</sup>	11.60 <sup>b</sup>
Testigo absoluto	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>

\*Letras iguales no presentan diferencias estadísticamente significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

Tanto el extracto vegetal y el preparado mineral aplicados en pre-inoculación o pos-inoculación no permitieron la germinación de conidias en el momento de la cuantificación de esporas, en comparación a los testigos (inoculado y químico) donde se registraron los mayores números de esporas germinadas. Resultado similar a Ramírez *et al.* (2007) al encontrar *in vitro* inhibición total en la formación de zoosporas de *P. palmivora* en cacao mediante el empleo de extractos de pimienta fruto y hojas a concentración del 50% (volumen/volumen). Respecto al uso de plantas con propiedades antimicrobiales, Lara *et al.* (2014) encontraron que los glucosinolatos aislados de floretes de brócoli a concentraciones de 1.54 y 0.92  $\mu\text{g}/\mu\text{L}^{-1}$  inhibieron en su totalidad la germinación de esporas de *C. gloeosporioides* aislado de mango (*M. indica* L.).

En la figura 37 se aprecia la severidad de antracnosis en frutos de mango cultivar Atafulfo, donde el testigo inoculado y el químico presentaron mayor daño de la enfermedad.



Figura 37. Severidad por antracnosis en frutos de mango.

En el cuadro 28 se aprecian los resultados de la severidad y el daño interno por antracnosis en frutos de mango evaluados al concluir el ensayo, donde el extracto de pimienta hoja al 30% asperjado 24 horas después de la inoculación presentaron menor grado de severidad, así como de daño interno, seguido por el CBS asperjado antes, indicando el análisis estadístico diferencias entre estos tratamientos y de ellos con los demás, siendo los testigos inoculado y químico los que registraron los mayores valores. Estos resultados son similares a los que reporta Bolívar *et al.*(2009) al mantener la severidad de antracnosis entre el 33 y 37%, utilizando extractos etanolicos de 2.5% de *Gliricidia sepium* (mata ratón) y *Lippia origanoides* (orégano silvestre).

Cuadro 28. Evaluación grado de severidad y daño interno por antracnosis en frutos de mango.

Tratamientos	Grado de severidad por antracnosis	Daño interno por antracnosis
CBS 30% 24 h antes de inocular	1.00 <sup>abc</sup>	1.00 <sup>b</sup>
CBS 30% 24 h después de inocular	1.00 <sup>abc</sup>	1.43 <sup>bcd</sup>
P. hoja 30% 24 h antes de inocular	1.29 <sup>bcd</sup>	1.14 <sup>bc</sup>
P. hoja 30% 24 h después de inocular	0.71 <sup>ab</sup>	0.86 <sup>ab</sup>
Testigo químico	2.14 <sup>d</sup>	2.00 <sup>cd</sup>
Testigo inoculado	2.00 <sup>cd</sup>	2.14 <sup>d</sup>
Testigo sin inocular	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>

\*Letras iguales no presentan diferencias estadísticamente significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

En la figura 38 se aprecia el daño interno provocado por la antracnosis en frutos de mango donde el testigo absoluto y químico presentaron mayor daño, mientras los

tratamientos de CBS y extracto de hoja de pimienta aplicados 24 horas antes o después de la inoculación.



Figura 38. Daño interno por antracnosis en frutos de mango.

La utilización del extracto de hoja de pimienta y preparado mineral CBS parecen ser una buena alternativa para el control de antracnosis en poscosecha, debido que el uso indiscriminado de productos químicos ha generado en muchos hongos resistencia.

*C. gloeosporioides* agente causal de la antracnosis en mango (*M. indica* L.), posee una capacidad extraordinaria de adaptación y variación (Alahakoon *et al.*, 1992). Mientras Spalding (1982) reportó un incremento marcado a partir de 1976 a 1980 en el número de aislamientos resistentes a benomil en el cultivo de mango. Aunque existen diferentes alternativas para el manejo de esta enfermedad, el uso de fungicidas sintéticos sigue siendo (Becerra-Leor, 1995; Eckert y Ogawa, 1985; Orozco, 1992; Vega, 1994) la principal estrategia de manejo poscosecha.

Estos dos productos (pimienta hoja y CBS) poseen propiedades sistémicas y con actividad fúngica después de la infección de *C. gloeosporioides*, al ejercer efectos de inhibición en el crecimiento del micelio en el área inoculada, así como la formación y germinación de las conidias, reduciendo el porcentaje de daño interno y externo por la antracnosis. Mismos que superaron los resultados del testigo químico (oxicloruro de cobre).



#### 4.4.1 Poscosecha en papaya

El efecto de polisulfuro de calcio al 10% y el extracto de hoja de pimienta al 40%, evaluado en pre-inoculación (24 horas antes de inocular) y pos-inoculación (24 horas después de inocular) se puede observar en la figura 39. Tanto el extracto vegetal y el preparado mineral redujeron el daño ocasionado por *C. gloeosporioides* en frutos de papaya en relación a los testigos (inoculado y químico), donde presentaron mayor crecimiento de micelial y daño por la antracnosis.



Figura 39. Severidad por antracnosis en frutos de papaya después de 7 días de evaluación.

Los resultados de los tratamientos en pre y pos-inoculación evaluados a los tres y seis días en frutos de papaya se presentan en el cuadro 29. En este cuadro se aprecia las variables severidad externa e interna ocasionada por antracnosis.

Cuadro 29. Evaluación de severidad por antracnosis (S.A) y daño interno por antracnosis (D.I.A) en frutos de papaya

Tratamientos	S.A. (3 días)	S. A. (6 días)	D.I.A. (día 6)
PC 24 horas después de la inoculación	0 <sup>a</sup>	1.50 <sup>bc</sup>	0.75 <sup>a</sup>
Pimienta hoja 24 h antes de la inoculación	0.38 <sup>a</sup>	1.38 <sup>abc</sup>	0.75 <sup>a</sup>
Pimienta hoja 24 h después de la inoculación	0.50 <sup>ab</sup>	1.13 <sup>ab</sup>	0.63 <sup>a</sup>
PC 24 horas antes de la inoculación	0.63 <sup>ab</sup>	1.50 <sup>bc</sup>	0.75 <sup>a</sup>
Testigo químico	0.88 <sup>ab</sup>	2.63 <sup>cd</sup>	1.88 <sup>b</sup>
Testigo inoculado	1.38 <sup>b</sup>	3.13 <sup>d</sup>	2.50 <sup>b</sup>
Testigo sin inocular	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>

\* Letras iguales no presentan diferencias estadísticamente significativas (Tukey, P≤ 0.05)

A los tres y seis días de evaluación los tratamientos de extracto de pimienta hoja 40% y polisulfuro de calcio (10%) asperjados 24 horas antes o después de la inoculación fueron los más eficaces, al presentar el grado de severidad más bajo por antracnosis, así como el daño interno, en relación al tratamiento químico e inoculado en donde se manifestaron los mayores valores. El análisis de varianza realizado indica la existencia de diferencias estadísticas entre los tratamientos (Cuadro A25). La prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) para la Severidad evaluada a los tres días indica la existencia de diferencias estadísticas entre PC aplicado después de la inoculación y el extracto de pimienta asperjado antes de la inoculación con los demás tratamientos pero no entre ellos, resultados similares a los de Ramírez *et al.* (2011) quienes reportaron inhibición total de *M. royeri* con la aplicación de polisulfuro 10% antes o después de la inoculación artificial sobre frutos de cacao, encontrando el 100% de la incidencia de la enfermedad en el testigo inoculado. Por su parte Ochoa *et al.* (2017) indican el control total *in vivo* de *M. royeri* en frutos de cacao utilizando polisulfuro de calcio 10%.

El extracto de pimienta hoja al 40% presentó un mejor comportamiento sobre el grado de severidad y daño interno por antracnosis (cuadro 29), el cual registró un menor porcentaje de infección al compararlos con los testigos (inoculado y químico). Estos resultados son similares a los que reporta Bolívar *et al.* (2009) al mantener la severidad de antracnosis entre el 33 y 37%, utilizando extractos etanolicos de 2.5% de *Gliricidia sepium* (mata ratón) y *Lippia organoides* (orégano silvestre).



Figura 40. Efecto de los tratamientos en pre y pos-inoculación sobre *C. gloeosporioides* en frutos de papaya.

En cuanto al polisulfuro de calcio, se observó que este producto asperjado 24 horas antes de la inoculación, creó una película sobre la superficie del fruto permitiendo cierto grado de severidad del patógeno; a 24 horas después de la inoculación el efecto fue inmediato a inhibir el crecimiento de las nuevas colonias, al creando una capa de color blanco del producto sobre el tejido afectado (figura 40). Resultados que concuerdan con Holb y Schnabel (2008) quienes señalan que polisulfuro de calcio es un fungicida con actividad curativa al controlar la roña del manzano (*Venturia inaequalis*), aunque

Dias (2012) indica este producto actúa como fungicida de contacto. El efecto sistémico de este producto se le atribuye a la producción de sulfuro de hidrógeno, esta es una sustancia capaz de permear tanto las células del hongo como las de la planta (Tweedy, 1969, 1981, citado por Holb y Schnabel, 2008).

Tanto PC y pimienta hoja al 40% reducen a *C. gloeosporioides*, al registrar menor daño interno y externo en frutos de papaya, este efecto es importante ya que disminuye la severidad de antracnosis y por lo tanto una fruta más comercializable, según Álvarez y Nishijima (1987) *C. gloeosporioides* ocasiona pelado del fruto y pérdidas económicas (Arauz, 2000). Mientras el efecto del químico boscalid+ pyraclostrobin sobre la antracnosis fue menor, al registrar mayor porcentaje de infección en comparación con los demás tratamientos. Estudios por Zavala *et al.* (2005) indicaron que en la primera etapa de evaluación en frutos de papaya controlaron la antracnosis aplicando procloraz y benomilo con una efectividad promedio de 96.5 al 15.71 %.

Las variables de conidias totales y germinadas de *C. gloeosporioides* en frutos de papaya se aprecian en el cuadro 30. Donde el polisulfuro de calcio al 40% aplicado 24 horas antes de la inoculación del patógeno presentó menor número de conidias totales en relación al tratamiento 24 horas después de la inoculación. Estos dos tratamientos redujeron entre 57.67 al 67.32% el número de conidias en comparación al testigo químico donde registró una inhibición del 38.06%. Reportes por Ramírez *et al.* (2011b) y Ochoa *et al.* (2015) indican que polisulfuro de calcio al 10% reduce el número de conidias totales y germinadas de *M. rozeri*. Mientras Montag *et al.* (2005) indican el control de la roña del manzano (*Venturia inaequalis*) utilizando 1.5% del producto al puede reducir el porcentaje de penetración del hongo a menos de un 10%, aun en tratamientos aplicados 40 h después de la infección. Respecto al extracto pimienta hoja 24 h después de la inoculación ejerció una inhibición en conidias totales y germinadas del 65.82% al 100% en relación al tratamiento 24 horas antes de inoculación donde redujo el 57.67 al 98.93% de la formación de estas estructuras.

Cuadro 30. Cuantificación de conidias totales y germinadas de *C. gloeosporioides* en frutos de papaya tratados en poscosecha con extracto de hoja de pimienta y polisulfuro de calcio.

Tratamientos	Conidias totales (x10 <sup>3</sup> mL <sup>-1</sup> )	Conidias germinadas (x10 <sup>2</sup> mL <sup>-1</sup> )
Testigo sin inocular	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
PC 24 horas antes de la inoculación	14346.42 <sup>ab</sup>	145.83 <sup>a</sup>
Pimienta hoja 40% 24 horas después de la inoculación	15004.68 <sup>ab</sup>	0 <sup>a</sup>
Pimienta hoja 24 horas antes de la inoculación	18583.42 <sup>ab</sup>	24.00 <sup>a</sup>
PC 24 horas después de la inoculación	20726.31 <sup>abc</sup>	0 <sup>a</sup>
Testigo químico	27195.68 <sup>bc</sup>	850.000 <sup>a</sup>
Testigo inoculado	43909.02 <sup>c</sup>	2253.47 <sup>b</sup>

\*Letras iguales no presentan diferencias estadísticamente significativas (Tukey P≤ 0.05).

El análisis de varianza (Cuadro A26) indica que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ), al registrar a pimienta hoja y PC los mejores efectos de inhibición respecto al testigo inoculado y al testigo químico.

El efecto del extracto y preparado mineral sobre fruto de papaya es importante ya que redujeron el número de conidias totales y germinadas después de seis días de evaluación, estos productos fungen como fungicidas preventivos o de control. Casarrubias *et al.* (2002) mencionan que las esporas del hongo germinan después de 48 h y forman un tubo germinativo que penetra de manera directa la cutícula del fruto inmaduro donde permanece latente, pero se reactiva la invasión durante la maduración del fruto (Prusky, 1996).

Es de hacer notar que el tratamiento testigo químico (boscalid+pyraclostrobin) presentó un efecto menor sobre la formación de conidios en comparación al resto de los tratamientos aplicados en pre y pos-inoculación; sin embargo, no presentaron diferencias significativas, pero sí con el testigo inoculado, donde se reflejó la mayor producción de esporas. Estos resultados difieren a los de Estrada *et al.* (2017) al reportar inhibición de *C. gloeosporioides* aislado de *M. indica* tratados con tiabendazol, azoxystrobin+fludioxonil, gluconato de cobre y pyraclostrobin. Mientras Zavale *et al.* (2005) concluye que procloraz fue el fungicida con mejor control tanto de la antracnosis como de la germinación y crecimiento micelial de *C. gloeosporioides*.

## 5. CONCLUSIONES

Los extractos de plantas como las hojas de *P. dioica* y *T. spathacea*, así como los preparados minerales polisulfuro de calcio y caldo bórdeles con sulfatos de zinc y magnesio se perfilan con potenciales alternativas de control de hongos fitopatógenos como *C. gloeosporioides* aislado de *M. indica* y *C. papaya*, *Phytophthora spp.* de *Th. cacao* y *A. alternata* de *S. lycopersicum*.

Los extractos de hoja de *P. dioica* y *T. spathacea* obtenidos mediante destilación son eficientes en el control *in vitro* de *C. gloeosporioides* aislado de *M. indica* y *C. papaya*, *Phytophthora spp.* de *Th. cacao* y *A. alternata* de *S. lycopersicum*. La concentración mínima inhibitoria del extracto de hoja pimienta sobre *Phytophthora spp.* y *A. alternata* resulto en 20% [V/V], mientras que para *C. gloeosporioides* de mango y papaya fue al 30 y 40% respectivamente; la del extracto de *T. spathacea* fue 40% para *C. gloeosporioides* aislado de mango y asi como para *Phytophthora spp.*

Los preparados minerales que son una alternativa para reducir el crecimiento y desarrollo *in vitro* de fitopatógenos son el polisulfuro de calcio al 10% para *Phytophthora spp.* y *C. gloeosporioides* de papaya, y a concentración del 20% para *A. alternata* y el Caldo bordelés más sulfato de zinc y magnesio a concentración del 30% para *C. gloeosporioides* de Mango.

En condiciones de poscosecha tanto el extracto obtenido de hoja de *P. dioica* al 30%, como caldo bórdeles con sulfatos de zinc y magnesio al 30% asperjados 24 horas o después de la inoculación del patógeno sobre frutos de mango y el polisulfuro de calcio al 10% en frutos de papaya permitieron reducir la aparición de *C. gloeosporioides*, así como reducir la severidad y el daño interno en frutos de papaya, superando los resultados de los testigos químicos, pudiendo ser alternativas para el manejo de éstos patógenos.

## 6. LITERATURA CITADA

- Adejumo, T. 2005. Crop protection strategies for major diseases of cocoa, coffee and cashew in Nigeria. *Afr. J. Biotechnol*, 4(2): 143-150.
- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*. Fifth edition ed. New York, USA: Elsevier Academic Press. 952 p.
- Andersen, B., Kroger, E. y Roberts, G., 2001. Chemical and morphological segregation of *Alternaria alternata*, *Agaisen* and *A. longipes*. *Mycological Reseach*, 105: 291–299.
- Anderson, B. S., Hunt, J.W., Phillips, B. M., Nicely, P.A., Vlaming, V. D., Connor, V., Richard, N. y Tjeerdema, R. S. 2003. Integrated assessment of the impacts of agricultural drainwater in the Salinas River (California, USA). *Environmental Pollution*, 124: 523-532.
- Aquino, L. A. Berger P. G., Rodrigues, F. A., Zambolim, L., Ogoshi F., Miranda, L. M. y Lélis M. M. 2008. Controle alternativo da mancha de Ramularia do algodoeiro. *Summa Phytopathologica* 34(2): 131-136.
- Alahakoon, P. W., Sreenivasaprasad, S., Brown, A. E., y Millis, P. R. 1992. Selection of a genetic variant within *Colletotrichum gloeosporioides* isolates pathogenic on mango by passaging through wounded tomato fruit. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 41(4): 227-240.
- Alvarez, A. M. y Nishijima, W. T. 1987. Postharvest diseases of papaya. *Plant Dis.* 71: 681-686.
- Arauz, L. F. 2000. Mango anthracnose: Economic impact and current options for integrated management. *Plant Disease* 84: 600-611.
- Astua, G., Arauz, L. F. y Umana, G., 1994. Reduced sensitivity to thiabendazole in *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from papaya. *Agronomía Costarricense*, 18: 35-39.
- Avelino, J., Toledo, J. y Medina B. 1992. El caldo bordelés y la recepa en el control del ojo de gallo. *In: Memoria Técnica de investigaciones en café 1990 -1991. ANACAFE-DICAFE.*
- Bateman, R., Hidalgo, E., García, J., Arroyo, C., ten Hoopen, G.; Adonijah, V. y Krauss, U. 2005. Application of chemical and biological agents for the management of frosty

- pod rot (*Moniliophthora roreri*) in Costa Rican cocoa (*Theobroma cacao*). *Annals of Applied Biology* 147: 129-138.
- Bautista, B., S., Hernández, L. M., Bosquez, M., E. y Wilson, C. L. 2003. Effect of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides* anthracnose level and quality of papaya fruit. *Crop Protection* 22: 1087-1092.
- Becerra, L. E. N. 1995. Enfermedades del cultivo de mango. pp. 83-101. En: Inocente Mata Beltrán y Raúl Mosqueda Vázquez (eds.). *La Producción de Mango en México*. Noriega Editores. México, D.F. 159 p.
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=pimienta&id=7916>
- Bolívar K., Sanabria, M. E., Rodríguez, D., Camacaro, M., Ulacio, D., Cumana, L. J., Crescente, O. 2009. Potencial efecto fungicida de extractos vegetales en el desarrollo *in vitro* del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. y de la antracnosis en frutos de mango. *Revista UDO Agrícola* 9(1): 175-181.
- Campos A., J. E., Vázquez, M. M. S. y R. Rodríguez, G. 1994. Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento de *Rhizobium solani*, en laboratorio. pp.47. *In: Memorias del XXI Congreso Nacional de Fitopatología*. Cuernavaca, Morelos, México.
- Carrillo, F. J. A., García, E. R. S., Muy, R. M. D., Sañudo, B. A, Márquez, Z. I., Allende, M. R., de la Garza, R. Z., Patiño, V. M., Galindo, F. 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.
- Carrillo, L., 2003. *Los Hongos de los Alimentos y Forrajes*. Universidad Nacional de Salta, 4. 130 p.
- Casarrubias, C. U., Cárdenas, S. E., Nieto, Á. D., Gutiérrez, A. J. G. 2002. Histopatología de frutos de papaya (*Carica papaya* L.) infectados por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 20(1): 88-93.
- Castillo, P. 2003. Incidencia de la mancha negra (*Phytophthora palmivora*) en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) en los sistemas de producción cacao-chalum y cacao-mamey en Tapachula, Chiapas. Tesis de Ingeniero agrónomo tropical. Universidad Autónoma de Chiapas, Facultad de Ciencias Agrícolas, Campus IV. Huehuetán, México. 53 p.

- Chérif, M., Asselin, A. y Bélanger, R. 1994. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Phytophthora* spp. *Molecular Plant Pathology* 84(3): 236- 242.
- Cia, P., Aparecida, B. E., De Toledo, V. S. R., Delgado de Almeida Anjos, V., Scolfaro, P. F.; Sanches, J. e Monteiro, T. M. 2009. Radiação ultravioleta no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em uva 'Niagara rosada'. *Bragantia*, Campinas 68(4):1009-1015.
- Córdova, V., Sánchez, M., Estrella, N., Sandoval, E. y Ortiz, C. (2001). Factores que afectan la producción de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el ejido Francisco I. Madero del plan Chontalpa, Tabasco, México. *Revista Universidad y Ciencia* 17(34): 93-100.
- Crop Life Latin America. (2017). CropLife Latin America. Recuperado el 15 de junio de 2017, de <http://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/antracnosis>
- Deliopoulos, T., Kettlewell, P. & Hare, M., 2010. Fungal disease suppression by inorganic salts: a review. *Crop Protection*, 29:1059-1075.
- Derbyshire, D. M. y Shipway, M. R. 1978. Control of postharvest deterioration in vegetables in the UK. *Outlook on Agriculture*, 9: 246-252.
- Desrosiers, R. y Díaz, J. 1955. Efecto de diversos fungicidas en el combate de la "podredumbre de las mazorcas" causada por la Monilia. *Agricultura Tropical* 11(9): 759-763.
- Dessalegn, Y., Ayalew, A. y Woldetsadik, K. 2013. Integrating plant defense inducing chemical, inorganic salt and hot water treatments for the management of postharvest mango anthracnose. *Postharvest Biology and Technology* 85: 83-88.
- Dreaden, T. y Smith, J. 2013. Annosum Root Rot of Southern Pines. School of Forest Resources and Conservation, IFAS Extension University of Florida. 3 p. Recuperado el 12 de febrero de 2014 en: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/FR/FR33100.pdf>
- Díaz, Plaza, R. 1996. Infusiones vegetales en el control de tizón temprano en jitomate, en Yucatán. *Revista Mexicana de Fitopatología* 14: 170 (Resumen).
- Dik, A., van der Gaag, D., Slooten, M. 2003. Efficacy of salts against fungal diseases in glasshouse crops. *Comm. Agric. Appl. Biol. Sci.* 68(4):475-485.
- Díaz B., V. 1994. Evaluación del efecto fungicida y/o bactericida de extractos del árbol de cuachalalate (*Amphyterygium adstringens* S.) mediante antibiogramas y bioensayos *in vitro*. In: *Memorias del XXI Congreso Nacional de Fitopatología*. Cuernavaca, Morelos, México. pp. 45.



- Duke, S., Dayan, F. E., Rimando, A. M., Schrader, K. K., Aliotta, O. G., y Romagni, J. G. 2002. Chemicals from nature for weed management. *Weed Sci.*, 50: 138-151.
- Eckert, J. W., and Ogawa, J. M. 1985. The chemical control of postharvest diseases: subtropical and tropical fruits. *Annual Review of Phytopathology* 23:421-454
- Enríquez, G.A. 2003. El cultivo orgánico de cacao bajo el concepto de calidad total. Estación Experimental Tropical Pichilingue, INIAP, Pichilingue, Ecuador. 27 p.
- Estrada B, M. A., Morales G, J. L., Pedraza S, M.E., Chávez B. A.T. y Morales, M. K. L. 2017 Evaluación “*in vitro*” de diferentes fungicidas para el control de antracnosis (*Colletotrichum* spp.) en aguacate (*Persea americana*), papaya (*Carica papaya*), mango (*Mangifera indica*), guanábana (*Annona muricata*) y guayaba (*Psidium guajava*) en Michoacán. *Revista Mexicana de Fitopatología* 37: S 38.
- Environment Protection Agency of the United States. 2014. Potassium bicarbonate (073508) and Sodium bicarbonate (073505) Fact Sheet. 2 p. Recuperado el 12 de febrero de 2014 en: [http://www.epa.gov/opp00001/chem\\_search/reg\\_actions/registration/fs\\_G-135\\_01-Oct-04.pdf](http://www.epa.gov/opp00001/chem_search/reg_actions/registration/fs_G-135_01-Oct-04.pdf)
- Evans, H. C. 2007. Cacao Diseases-The Trilogy Revisited. *Phytopathology* 97 (12): 1640-1643.
- Fauteux, F., Rémus, W., Menzies, J. y Bélanger, R. 2005. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. *FEMS Microbiology Letters* 249(1):1-6.
- Fraire S, L., R. Montes B. y R. Pérez P. 1993. Efecto de extractos vegetales en el desarrollo del tizón tardío *Phytophthora infestans* en jitomate. *In: Memorias del XX Congreso Nacional de Fitopatología. Zacatecas, Zacatecas, México.* pp. 52.
- French, R., Avila, F., Korndörfer, G. y Datnoff, L. 2010. Silicon suppresses *Phytophthora* Blight development on bell pepper. *Journal of Phytopathology* 158 (7 8): 554 – 560.
- García, L., R. y R. Montes B. 1992. Efecto de extractos vegetales en la germinación de esporas y en los niveles de daño de *Alternaria solani* en jitomate. *In: Memorias del XIX Congreso Nacional de Fitopatología. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.* pp.159.
- Gessler, C., Pertot, I. y Perazolli, M. 2011. *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathologia Mediterranea* 50: 3-44. DOI: [http://doi.org/10.14601/Phytopathol\\_Mediterr-9360](http://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-9360).

- Ghorbani, R. y Wilcockson, S. 2007. Reducing copper-based fungicide use in organic crop production systems. *In: Handbook of organic food safety and quality*. Cooper, J.; Niggli, U. and Leifert, C. (Eds.). Woodhead Publishing Limited, Cambridge. pp. 392-412.
- Ghosh, A. K., Banerjee, S., Mullick, H. I. y Banerjee, J. 2011. *Zingiber officinale*: a natural gold. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 2: 283-294.
- Godfrey, C. R. A. 1994. *Agrochemicals from natural products*. Editorial Marcel Dekker, Inc. New York, USA. pp. 311-312.
- Gogoi, R., Buruah, P. y Nath, S. C. 1997. Antifungal activity of the essential oil of *Litsea cubeba* Pers. *J. Essential oils Res*, 9: 213-215.
- González, Á, M., Arriaga, Alba. M., de la Garza, M., del Carmen, H. P. M., Domínguez, Ortiz. M. A., Fattel, F. S., Villa, Treviño. S. 2003. Antigenotoxic, antimutagenic and ROS scavenging activities of a *Rhoeo discolor* ethanolic crude extract. *Toxicology in vitro*, 17: 77-83.
- Guédez, C., Cañizalez, L., Castillo, C., Olivar, R., Maffei, M. 2010. Alternativas para el control de hongos postcosecha en naranjas valencia (*Citrus sinensis*) *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 30: 43-47
- Guédez, C., Cañizalez, L., Avendaño, L., Scorza, J., Castillo, C., Olivar, R. 2014. Actividad antifúngica del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis* L.) sobre hongos postcosecha en frutos de lechosa (*Carica papaya* L.). *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 34: 81-85.
- Guerrero, R. E., Solís, G. S., Hernández, C.F.D., Flores O. A., Sandoval, L.V., y Jasso, C. D. 2007. Actividad biológica in vitro de extractos de *Flourensia cernua* D.C. en patógenos de postcosecha: *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl., *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. y *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25:48-53.
- Gutiérrez, A. J. G., Gutiérrez, A. O., Nieto, A. D., Téliz O. D., Zavaleta, M. E. y Delgadillo, S. F. 2004. Manejo integrado de la antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc.] del mango (*Mangifera indica* L.) durante la postcosecha. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 22: 395-402.
- Gutiérrez, A, J. G., Gutiérrez, A. O., Nieto, Á. D., Téliz, O. D., Zavaleta, M. E., Delgadillo, S. F., Vaquera, H. H. 2003. Resistencia a benomil y tiabendazol en aislamientos de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. obtenidos de (*Mangifera indica* L.) en cinco regiones de México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21: 260-266.

- Heredia, J. 2008. Eficiencia de tres caldos minerales en el control de la mancha aceitosa (*Xanthomonas campestris*), antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) y mancha ojo de pollo (*Phomopsis* spp.) en maracuyá (*Passiflora edulis*) en Santo Domingo de los Tsáchilas. Tesis de Ingeniería Agropecuaria. Universidad Técnica del Norte, Ecuador. 97 p.
- Hernández, A., Bautista, S. y Velázquez, M., 2007. Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. Revista Fitotecnia Mexicana, 30(2): 119-123.
- Hernández, D. L., Rodríguez, J. M., García, D. y Pino, A. J. 2003. Actividad antidermatofítica *in vitro* de aceites esenciales. Revista Cubana de Plantas Medicinales 8(2): 0-0.
- Hernández, C. A., Ceja, T. L. F., Loeza, L. P. D. 2016. Inhibición *in vitro* de extractos vegetales sobre hongos aislados de arándano. Suplemento de la Revista mexicana de fitopatología 34: S 69.
- Hernández, L. A. N., Bautista, B.S., Velázquez, V. M. G., Rodríguez, A. S. L., Corona, R. M. L., Solano, N. A., Bosquez, M.E. 2005. Potencial del Quitosano en el Control de las Enfermedades Postcosecha. Revista Mexicana de Fitopatología 23(2):198-205.
- Hidalgo, E., Bateman, R., Krauss, U., Hoopen, M. y Martinez, A. 2003. A field investigation into delivery systems for agents to control *Moniliophthora roreri*. European Journal of Plant Pathology 109(9): 953–961.
- Hislop, E. 1963. Studies on the chemical control of *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. On *Theobroma cacao* L. in Nigeria. Annals of Applied Biology 52(3): 465-480.
- Holb, I. y Schnabel, G. 2008. A detached fruit study on the post-inoculation activity of lime sulfur against brown rot of peach (*Monilinia fructicola*). Australian Plant Pathol 37: 454-459. DOI: <http://doi.org/10.1071/AP08041>.
- Holb, I., Jong, P. y de Heijne, B. 2003. Efficacy and phytotoxicity of lime sulphur in organic apple production. Annals of Applied Biology 142: 225-233.
- Huber, D. and Wilhelm, N. 1988. The role of manganese in resistance to plant diseases. In: manganese in soils and plants. Graham, R.; Hannam, R. and Uren, N. (Eds). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp.155-173.
- Janisiewicz, W. J. & Korsten, L. 2002. Biological control of postharvest disease of fruits. Ann. Review Phytopathol. 40: 411-441.

- Jeffries, P., Dodd, J., Jeger, M. J. y Plumbley, R. A., 1990. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit crops. *Plant Pathology*, 39:343-366.
- Joya, D. J. G., Ramirez, G. I., Lopez, B. O. y Alvarado, G. Á. E. 2015. Efecto antifúngico de hidrodestilados de *Zingiber officinale* Roscoe sobre *Moniliophthora roreri* (Cif&Par). *Ciencia y Agricultura* 12(2): 1-29.
- Karabulut, O.A. y Baykal, N. 2004. Integrated control of postharvest disease of peaches with a yeast, hot water and modified atmosphere packaging. *Crop Protection* 23: 431-435.
- Kiely, T. 1950. Control and epiphytology of black spot of citrus on the central coast of New South Wales. *Journal Science Bulletin, Department of Agriculture New South Wales* 71:88.
- Kluepfel, M. Blake, J. y Keinath, A. 2012. Irish y Sweet Potato Diseases. Clemson University Cooperative Extension Service, Home y Garden Information Center. 5 p.
- Köller, W. 1999. Chemical approaches to managing plant pathogens. *In: Handbook of pest management*. Ruberson, J. (Ed.) New York. Marcel Dekker Inc. pp. 337-376.
- Krauss, U., Hidalgo, E., Bateman, R., Adonijah, V., Arroyo, C., García, J., Crozier, J., Brown, N., ten Hoopen, M. y Holmes; K. 2010. Improving the formulation and timing of application of endophytic biocontrol and chemical agents against frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) in cocoa (*Theobroma cacao*). *Biological Control* 54: 230-240.
- Lara, V. F. M., Nieto, A. D., Nava, D. C., Gutiérrez, A. G., Ayala, G. O. J., Aguilar, P. L. Alfonso y Teresa Martínez, D. 2014. efecto del glucorafano aislado de floretes de brócoli sobre la germinación de esporas de *Colletotrichum gloeosporioides*. *Rev. Fitotec. Mex* 37 (2): 141-147.
- León, J. 1987. *Botánica de los cultivos tropicales*. 2 ed. San Jose Costa Rica: Servicio Editorial. 552 p.
- Leroux, P., 2003. Mode of action of agrochemicals towards plant pathogens. *Comptes Rendus Biologies* 326: 9-21.
- Liebman, M. y Ohno, T. 1998. Crop rotation and legume residue effects on weed emergence and growth: Applications for weed management. *En: Hatfield, J. L.; Buhler, D. O. y Stewart, B. A. (eds.). Integrated weed and soil management*. Ann Arbor Press. Chelsea, Michigan, U.S.A. pp.181-221.
- López, A., Delgado, P., Núñez, V. y Azpeitia, A. 1996. Manejo y producción del cultivo de cacao en Tabasco. Gobierno del Estado de Tabasco. Instituto para el Desarrollo

- de Sistemas de Producción del Trópico Húmedo de Tabasco. Talleres Gráficos de Litografía Margarita, Villahermosa, Tabasco; México. 27 p.
- López, B. O., Pinson, E. P. y Gutiérrez, C. L. 2002. Técnicas para el manejo orgánico de la mancha negra del cacao causada por *Phytophthora* spp. Universidad Autónoma de Chiapas. Campus IV. 18 p.
- Lozano, T. M., Rozo, W. L., Ruiz, Q. N., Quiroga, L. F., y Sandoval, L. A. (2008). Manual del manejo preventivo de la secadera (*fusarium* sp) en el cultivo del maracuyá (primera ed.). Colombia: producción de medios de comunicación.
- Medrano-R., D.E., R. Rodríguez, G. y M. del S. Vázquez, M. 1994. Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento de *Colletotrichum lindemuthianum*, en laboratorio. In: Memorias del XXI Congreso Nacional de Fitopatología. Cuernavaca, Morelos, México. pp. 46.
- Meepagala, K. M., Sturtz, G. & Wedge, D. E., 2002. Antifungal constituents of the essential oil fraction of *Artemisia dracunculoides* L. var *dracunculoides*. J. Agric. Food Chem, 50: 6989-6992.
- Mills, A., Platt, H. y Hurt, R. 2004. Effect of salt compounds on mycelial growth, sporulation and spore germination of various potato pathogens. Postharvest Biology and Technology 34: 341-350.
- Montag, J., Schreiber, L. y Schönherr, J. 2005. An *in vitro* study on the postinfection activities of hydrated lime and lime sulphur against apple scab (*Venturia inaequalis*). Journal of Phytopathology 153(7-8): 485 -491.
- Montes B., R., Pérez, P. R., F. Arce G. y J. García G. 1992. Reducción del daño del chino del jitomate mediante extractos vegetales acuosos. In: Memorias del XIX Congreso Nacional de Fitopatología. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. pp. 160.
- Montes B., R., A. Sosa H., R. Diaz R., E. Taboada V. y R. Pérez P. 1993. Avances en la evaluación de extractos vegetales acuosos para el control del chino del jitomate. In: Memorias del XX Congreso Nacional de Fitopatología, Zacatecas, México. pp. 53.
- Montes B., R., M. Carbajal, R. Figueroa B. e I Méndez. 1997. Extractos sólidos, acuosos y hexánicos de plantas para el combate de *Aspergillus flavus* en maíz. Revista Mexicana de Fitopatología 15: 26-30.
- Montes R, V Cruz C, G Martínez M, G Sandoval G, R García L, S Zilch D, L Bravo L, K Bermúdez T, H E Flores M, M Carvajal M .2000. Propiedades antifúngicas en

- plantas superiores. Análisis retrospectivo de investigaciones. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 18(2):125- 131.
- Narváez B. F. J., Barzola, M. S.E., Fon, Fay. V. F. M., Martínez, C. M.J., Neira, M. J.A., Sánchez, L. S.N. 2017. Potencial antifúngico de *Citrus sinensis* y *Citrus nobilis* sobre el crecimiento de *Rhizopus stolonifer* y *Colletotrichum gloeosporioides* en papaya. *Ciencia y Tecnología* 10(1):41-46
- Nguefack, J.; Leth, V.; Amvam, P. y Marthur, S. 2004. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mucotoxin producing fungi. *Int. J. Food Microbiol.* pp. 329-334.
- Ochoa, F. L. 2014. Preparados minerales en el manejo orgánico de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* (cif. Y par.) Evans et al.) de *Theobroma cacao* L. en el municipio de Tecpatán, Chiapas - México. tesis Maestría en ciencias, Universidad Autónoma de Chiapas, Facultad de Ciencias Agrícolas Campus IV. 69 p.
- Ochoa, F. L. E., Ramírez G, S. I., López, B. O., Moreno M, J. L., y Espinosa Z, S. 2015. Efecto de preparados minerales sobre el crecimiento y desarrollo in vitro de *Moniliophthora roreri* (Cif. & Par.) Evans. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6 (5): 1065-1075.
- Ochoa, F. L., Ramírez, G. S., López, B. O., Espinosa, Z. S., Alvarado, G. Á., y Álvarez, S. F. 2017. Control *in vivo* de *Moniliophthora roreri* en *Theobroma cacao*, utilizando polisulfuro de calcio y silicosulfocálcico. *Revista Ciencia y Agricultura* 14(2): 59-66.
- Omil, B. 2007. Gestión de cenizas como fertilizante y enmendante de plantaciones jóvenes de *Pinus radiata*. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. España. 105 p.
- Orozco, S.M. 1992. Control químico de la antracnosis, cenicilla y roña en mango "Manila". p. 203. XIX Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Saltillo, Coahuila, México. 228 p.
- Ortiz, G., 2004. Especies de *Phytophthora* responsables de la mancha negra del cacao en México y estrategias de su control. Villahermosa, Tabasco; México: Simposio nacional de manejo fitosanitario de cultivos tropicales. *Pathology* 109(9): 953–961.
- Pérez, Á. R., García, E. R., Carrillo, F. J., Angulo, E. M., Valdez, T. J., Muy, R. M. 2010. Control de Cenicilla (*Sphaerotheca fuliginea* Schlechtend.:Fr, Pollaci) con Aceites Vegetales y Sales Minerales en pepino de Invernadero en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 28(1):17-24.

- Pitarokili, D., Tzakou, O., Couladis, M. y Verykokidou, E. 1999. Competition and antifungal activity of the essential oil of *Salvia pomifera* subsp. *Calycina* growing wild in Greece. *J. Essential oil Res* 11: 655-659.
- Prusky, D. 1996. Pathogen quiescence in postharvest diseases. *Annual Review Phytopathology* 34: 413-434.
- Pupo, Y., Bicayi, D., Herrera, L., Malheiros, D. y Vargas, B. 2011. Efecto de extractos vegetales en el crecimiento y germinación de esporas de *Alternaria solani* (E. & M.) J. & G. en condiciones *in vitro*. *Revista Iberoamericana de Micología* 28(1): 60.
- Qin, G. and Tian, S. 2005. Enhancement of biocontrol activity of *Cryptococcus laurentii* by silicon and the possible mechanisms involved. *Biol. Control* 95(1): 69-75.
- Ragazzo, S. J. A.; Coria, T.; Ramírez de León, J. A.; Ortiz- Basurto, R. I.; Cabanillas-Beltrán, H. and Calderon-Santoyo, M. 2015. Control of antracnose in mango (*Mangifera indica* L.) var. ataulfo by high hydrostatic pressure combined with moderated temperature and the biocontrol agent *Candida famata*. *Sylwan* 159: 448-460.
- Ramírez, G. S. I., López, B. O., Espinosa, Z. S. y Wong, V. A., 2016. Actividad antifúngica de hidrodestilados y aceites sobre *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, noviembre- diciembre, 7(8):1879-1891.
- Ramírez G. S. I., 2013. Efectividad de extractos vegetales en el manejo de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao* L.) en México. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Costa Rica. 124 p.
- Ramírez, G. S., López B. O., Guzmán, H. T., Munguía U, S., Espinosa, Z. S. 2011. Actividad antifúngica *in vitro* de extractos de *Origanum vulgare* L., *Tradescantia spathacea* Swartz y *Zingiber officinale* Roscoe sobre *Moniliophthora roreri* (Cif & Par) Evans *et al.*, *Tecnología en Marcha*. 24(2)3-17.
- Ramírez, G. S., López, B. O., Guzmán, H. T., Munguía, U. S., & Moreno, M. J. 2011b. El polisulfuro de calcio en el manejo de la moniliasis *Moniliophthora roreri* (Cif & Par). Evans *et al.*, del cacao *Theobroma cacao* L. *Tecnología en Marcha* 24(4):10-18.
- Ramírez, G. S. I., López, B. O., Lee, R. V. y Velez, M. G., 2007. Extractos vegetales para el manejo orgánico de la mancha negra *Phytophthora palmivora* del cacao. *Agricultura sostenible* 1: 55-67.

- Ramírez, L. M. & Jacobo, C. J. L., 2002. Impacto ambiental del uso de plaguicidas en huertos de manzano del noroeste de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 20:168-173.
- Ramírez, M., 2006. Agroecología y agricultura orgánica en el trópico. Técnicas para la determinación de moléculas bioactivas de extractos de plantas para la formulación de bioplaguicidas, 247 p.
- Reséndez, C. A., 1996. Actividad alelopática de compuestos aislados de dos comelináceas: *Rhoeo spathacea* (Sw.) Stearn y *Zebrina pendula* Schinzlein. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León. 34 p.
- Restrepo, J., 2007. Manual práctico el A, B, C de la agricultura orgánica y harina de rocas. Nicaragua: Servicio de Información Mesoamericano sobre Agricultura Sostenible -SIMAS.
- Reuveni, M. & Reuveni, R., 1995. Efficacy of foliar application of phosphates in controlling powdery mildew fungus on field-grown winegrapes: effects on cluster yield and peroxidase activity in berries. *J. Phytopathol*, 143: 21-25.
- Reglamento (CE) N° 834/2007 de 28 de junio de 2007, sobre producción y etiquetado de productos orgánicos. Diario Oficial de la Unión Europea 2007. [http://www.wipo.int/wipolex/es/text.jsp?file\\_id=199668](http://www.wipo.int/wipolex/es/text.jsp?file_id=199668)
- Reyes, M. A. y otros, 2009. Propiedades antioxidantes del maguey morado (*Rhoeo discolor*). *CyTA - Journal of Food*, 7: 209-216.
- Riveros, A. 2010. Uso de inductores abióticos para el manejo de enfermedades en especies agroforestales tropicales. *In*: Riveros, A. (Ed.). Inducción de resistencia en plantas. Interacción planta –patógeno. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Costa Rica. pp.74 –175.
- Rodríguez Hernández, C., M.L.I. de Bauer, C.G.S. Valdés-Lozano, y S. Sánchez-Preciado (Eds). Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible, CP e ITA Tlaxcala. Montecillo, Texcoco, México. pp. 55-67.
- Rodríguez, N. J., Zavaleta, M. E. & Alatorre, R. R., 1996. Epidemiología y manejo de la roya blanca (*Puccinia horiana* P. Henn.) del crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.). *Fitopatología*, 31:122-132.
- Rojas, O. E. A., Lolas, C. M., & Méndez, M. R. (2014.). Evaluación de polisulfuro de calcio en el control de “*Neonectria ditissima*” causante de la enfermedad cancro europeo del manzano. Universidad de Talca (Chile). Escuela de Agronomía. Retrieved JUNIO 23, 2017, from <http://dspace.utalca.cl/handle/1950/10048>



- Rotem, Y., 1994. The Genus *Alternaria*: Biology Epidemiology and Pathogenicity. APS Press, American Phytopathological Society.
- Rouxel, T., Kollmann, A. y Bousquet, J. 1990. Zinc suppresses sirodesmin PL toxicity and protects *Brassica napus* plants against the blackleg disease caused by *Leptosphaeria maculans*. *Plant Science* 68(1): 77-86.
- Ploetz, R.C. and Prakash, O. 1997. Foliar, floral and soilborne diseases. In: Litz, R.E. (ed.) *The Mango: Botany, Production and Uses*. CABI. pp. 281-326.
- Sánchez, D. D., Gaspar, M. J., Uribe, F. M. & Bautista, B. S., 2005. Efecto del quitosano en el desarrollo *In vitro* de *Alternaria alternata*. *Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología*. Chihuahua, Chihuahua, México., pp. Resumen L-23.
- Sánchez-Domínguez, Delfino; Bautista-Baños, Silvia y Castillo Ocampo. 2007. Efecto del quitosano en el desarrollo y morfología de *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. *Anales de Biología* 29: 23-32.
- Santamaría, B. F. y otros, 2011. 2011. Control de dos especies de *Colletotrichum* causantes de antracnosis en frutos de papaya Maradol. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2(5):631-643.
- Servicio de información toxicológica (SINTOX). 2015 Primeros Auxilios en caso de Intoxicación por Productos para la Protección de los Cultivos (Plaguicidas). <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/oaxaca/Documents/2015/Difusi%C3%B3n%20y%20Eventos/PRIMEROS%20AUXILIOS-PROCCYT%201.pdf>
- Silva, R., Pereira, R., & Nakano, M. (2011). Inibição do crescimento micelial e germinação de *Colletotrichum gloeosporioides* na seringueira pelo óleo de neem (*Azadirachta indica*). *Dialnet*, 8(1): 295-303.
- Singh, R. y Khanna, R. 1969. Effect of certain inorganic chemicals on growth and spore germination of *Alternaria tenuis* auct., the fungus causing core rot of mandarin oranges in India. *Mycopathologia et mycologia applicata* 37(1): 89-96.
- Solano, V. & Arauz, L. F., 1995. Combate de antracnosis en frutos de papaya mediante aplicaciones de fungicidas en el campo en la zona Atlántica de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 19(2): 25-30.
- Solla, F., Rodríguez, R. y Merino, A. 2001. Evaluación del aporte de cenizas de madera como fertilizante de un suelo ácido mediante un ensayo en laboratorio. *Investigación Agraria. Producción y Protección Vegetal* 16(3): 379-393.

- Spadaro, D. and Gullino, M. L. 2004. State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit disease. *Int. J. Food Microbiol* 91:185-194.
- Spalding, D.H. 1982. Resistance of mango pathogens to fungicides used to control postharvest diseases. *Plant Disease* 66:1185-1186.
- Suárez, C., 1979. Las enfermedades del cacao en Latinoamérica. 7a. Conferencia Internacional de Investigación en Cacao. Douala, Camerún. pp.254-257.
- Tamayo, E. L. E. y otros, 2016. Extractos por destilación de *Origanum vulgare*, *Tradescantia spathacea* y *Zingiber*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(5):1065-1076.
- Tamayo, M., 1980. Metodología formal de la investigación científica. México: limusa.
- Thompson, A.K. 1987. The development and adaptation of methods for control of anthracnose. In: Prinsley, R.T. and Tucker, G. (eds). *Mangoes: a Review*. Commonwealth Science Council. pp. 29-38.
- Tomlinson, J. y Hunt, J. 1987. Studies on watercress chlorotic leaf spot virus and on the control of the fungus vector (*Spongospora subterranea*) with zinc. *Annals of Applied Biology* 110 (1): 75-88.
- USDA- NOP. 2014. The National Organic Program standards of the United States Department of Agriculture. <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/NOP-ReglamentosOrganicosEstadounidenses.pdf>
- Verduzco, L., J. Farias, M. Orozco-S. y S. Guzmán. 1996. Efecto de la incorporación de plantas y aplicación de nematicidas sobre el control de nematodos agalladores. *Revista Mexicana de Fitopatología* 14:168.
- Vergara, R. 1997. De la agricultura tradicional a la agricultura biológica. *Memorias Seminario Regional*. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia
- Vos, C. M.; Yang, B.; De Coninck, B. and Cammue, B. P. A. 2014. Fungal (-like) biocontrol organism in tomato disease control. *Biological Control (Print)* A 74:65-81.
- Whalen, M. M., Wilson, S., Gleghorn, C. & Loganathan, B., 2003. Brief exposure to triphenyltin produces irreversible inhibition of the cytotoxic function of humannatural killer cells. *Environmental Research*, 92: 213-220.
- Whittaker, R. H. & Feeny, P. P. (1971). Allelochemicals: Chemical interactions between species. *Science*, 171: 757-770

- Wilson, C. L., Solar, J., El Ghaouth, A. y Winiewski, M. E., 1997. Rapid evaluation of plat extracts and essential oil for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Dis* 81: 204-210.
- Yildirim, I., Onogur, E. y Irshad, M. 2002. Investigations on the efficacy of some natural chemicals against Powdery Mildew [*Uncinula necator* (Schw.) Burr.] of Grape. *Journal of Phytopathology* 150(11-12): 697–702.
- Zavala, León. M, J; Tun-Suárez, J, M; Cristóbal, Alejo, J; Ruiz-Sánchez, E; Gutiérrez-Alonso, O.; Vázquez-Calderón, M.; Méndez-González, R. 2005. Control poscosecha de antracnosis en papaya y sensibilidad de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas organosintéticos. *Revista Chapingo* 11(2):251-255.
- Zavaleta M, E. (1999). Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. *Terra Latinoamericana* 17(3): 201-207.

## 7. ANEXOS

Cuadro A1. Análisis de varianza de los preparados minerales al 40% sobre *C. gloeosporioides* aislado de papaya.

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Crecimiento (mm)	Entre grupos	31238.47	7.00	4462.64	698.88	0.001
	Dentro de los grupos	153.25	24.00	6.39		
	Total	31391.72	31.00			
Conidias totales	Entre grupos	1641000000000000.00	7.00	234400000000000.00	18.49	0.001
	Dentro de los grupos	3042000000000000.00	24.00	126700000000000.00		
	Total	1945000000000000.00	31.00			
Conidias germinadas	Entre grupos	3518000000000.00	7.00	502600000000.00	23.39	0.001
	Dentro de los grupos	515800000000.00	24.00	21490000000.00		
	Total	4034000000000.00	31.00			

Cuadro A 2. Análisis de varianza de los preparados minerales al 30, 20 y 10% sobre *C. gloeosporioides* aislado de papaya.

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Crecimiento (mm)	Entre grupos	6683.00	3.00	2227.67	13366.00	0.001
	Dentro de los grupos	2.00	12.00	0.17		
	Total	6685.00	15.00			
Conidias totales	Entre grupos	46100000000000.00	3.00	15370000000000.00	632.35	0.001
	Dentro de los grupos	2916000000000.00	12.00	243000000000.00		
	Total	46390000000000.00	15.00			
Conidias germinadas	Entre grupos	0.00	3.00	0.00	.	.
	Dentro de los grupos	0.00	12.00	0.00		
	Total	0	15			

Cuadro A3. Análisis de varianza de polisulfuro de calcio al 5 y 3% sobre *C. gloeosporioides* aislado de papaya

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Crecimiento (mm)	Entre grupos	108.222	2	54.111	30.437	0
	Dentro de los grupos	10.667	6	1.778		
	Total	118.889	8			
Conidias totales	Entre grupos	3509048472222220.00	2	1754524236111110.00	746.37	0
	Dentro de los grupos	14104479166666.60	6	2350746527777.77		
	Total	3523152951388880.00	8			
Conidias germinadas	Entre grupos	1077916666666.66	2	538958333333.33	67.292	0
	Dentro de los grupos	4805555555.56	6	8009259259.26		
	Total	112597222222.22	8			

Cuadro A4. Análisis de varianza de los preparados minerales al 40% sobre *C. gloeosporioides* aislado de mango

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Crecimiento (mm)	Entre grupos	25802.17	7.00	3686.07	226.69	0.001
	Dentro de los grupos	390.25	24.00	16.26		
	Total	26192.72	31.00			
Conidias totales	Entre grupos	1447000000000000.00	7.00	2067000000000000.00	201.52	0.001
	Dentro de los grupos	2462000000000000.00	24.00	1026000000000000.00		
	Total	1472000000000000.00	31.00			
Conidias germinadas	Entre grupos	19170000000.00	7.00	2738000000.00	7.66	0.001
	Dentro de los grupos	8576000000.00	24.00	3573000000.00		
	Total	27740000000.00	31.00			

Cuadro A5. Análisis de varianza de los preparados minerales al 30, 20 y 10% sobre *C. gloeosporioides* aislado de mango.

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Crecimiento (mm)	Entre grupos	28466.93	6.00	4744.49	379.56	0.001
	Dentro de los grupos	262.50	21.00	12.50		
	Total	28729.43	27.00			
Conidias totales	Entre grupos	72200000000000.00	6.00	12030000000000.00	32.07	0.001
	Dentro de los grupos	78810000000000.00	21.00	3753000000000.00		
	Total	80090000000000.00	27.00			
Conidias germinadas	Entre grupos	0.00	6.00	0.00	.	.
	Dentro de los grupos	0.00	21.00	0.00		
	Total	0.00	27.00			

Cuadro A6. Análisis de varianza de los preparados minerales al 40% sobre *Alternaria alternata*

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Crecimiento (mm)	Entre grupos	7531.38	7.00	1075.91	52.43	0.001
	Dentro de los grupos	492.50	24.00	20.52		
	Total	8023.88	31.00			
Conidias totales	Entre grupos	8282936062282.98	7.00	1183276580326.14	17.05	0.001
	Dentro de los grupos	1665866970486.11	24.00	69411123770.26		
	Total	9948803032769.09	31.00			
Conidias germinadas	Entre grupos	1421864013671.87	7.00	203123430524.55	21.04	0.001
	Dentro de los grupos	231708984375.00	24.00	9654541015.63		
	Total	1653572998046.87	31.00			

Cuadro A7. Análisis de varianza de los preparados minerales al 30,20 y 10% *Alternaria alternata* aislado de tomate.

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
	Entre grupos	4885.667	3	1628.556	8.475	0.007
Crecimiento (mm)	Dentro de los grupos	1537.333	8	192.167		
	Total	6423	11			
	Entre grupos	2.69547E+11	3	89849088542	3.714	0.061
Conidias totales	Dentro de los grupos	1.93551E+11	8	24193923611		
	Total	4.63099E+11	11			
	Entre grupos	14420529514	3	4806843171	2.115	0.177
Conidias germinadas	Dentro de los grupos	18181018519	8	2272627315		
	Total	32601548032	11			

Cuadro A8. Análisis de varianza de los preparados minerales al 40% sobre *Phytophthora* spp. aislado de cacao.

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Crecimiento (mm)	Entre grupos	14334.00	7.00	2047.71	2730.29	0.001
	Dentro de los grupos	18.00	24.00	0.75		
	Total	14352.00	31.00			
Zoosporas totales	Entre grupos	2067000000000.00	7.00	295200000000.00	41.13	0.001
	Dentro de los grupos	1723000000000.00	24.00	71790000000.00		
	Total	2239000000000.00	31.00			

Cuadro A9. Análisis de varianza los preparados minerales al 30, 20 y 10% sobre *Phytophthora* spp. aislado de cacao.

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Crecimiento (mm)	Entre grupos	30306.92	12.00	2525.58	190.15	0.001
	Dentro de los grupos	518.00	39.00	13.28		
	Total	30824.92	51.00			
Zoosporas totales	Entre grupos	9560000000000.00	12.00	796700000000.00	834.74	0.001
	Dentro de los grupos	372200000000.00	39.00	9544000000.00		
	Total	9597000000000.00	51.00			

Cuadro A10. Análisis de varianza los preparados minerales al 5,3 y 1% sobre *Phytophthora* spp. aislado de cacao

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Crecimiento (mm)	Entre grupos	4288.50	3.00	1429.50	257.96	0.001
	Dentro de los grupos	66.50	12.00	5.54		
	Total	4355.00	15.00			
Zoosporas totales	Entre grupos	106881119791666.00	3.00	35627039930555.50	50.92	0.001
	Dentro de los grupos	8396223958333.33	12.00	699685329861.11		
	Total	115277343749999.00	15.00			



Cuadro A11. Análisis de varianza los extractos vegetales al 40% sobre *C. gloeosporioides* aislado de papaya

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Crecimiento (mm)	Entre grupos	6025.07	4.00	1506.27	19.60	0.001
	Dentro de los grupos	768.67	10.00	76.87		
	Total	6793.73	14.00			
Conidias totales	Entre grupos	1409000000000000.00	4.00	3523000000000000.00	33.16	0.001
	Dentro de los grupos	1063000000000000.00	10.00	1063000000000000.00		
	Total	1516000000000000.00	14.00			
Conidias germinadas	Entre grupos	3667000000000.00	4.00	916700000000.00	6.57	0.01
	Dentro de los grupos	1396000000000.00	10.00	139600000000.00		
	Total	5062000000000.00	14.00			

Cuadro A12. Análisis de varianza los extractos vegetales al 30,20 y 10% sobre *C. gloeosporioides* aislado de papaya

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Crecimiento (mm)	Entre grupos	4054.25	3	1351.417	523.13	0.001
	Dentro de los grupos	20.667	8	2.583		
	Total	4074.917	11			
Conidias totales	Entre grupos	1746421606987840.00	3.00	582140535662615.00	1.585	0.27
	Dentro de los grupos	2938876799768510.00	8.00	367359599971064.00		
	Total	4685298406756360.00	11.00			
Conidias germinadas	Entre grupos	1746421606987840.00	3.00	582140535662615.00	1.585	0.27
	Dentro de los grupos	2938876799768510.00	8.00	367359599971064.00		
	Total	4685298406756360.00	11.00			

Cuadro A13. Análisis de varianza los extractos vegetales al 40% sobre *C. gloeosporioides* aislado de mango

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
	Entre grupos	7401.07	4.00	1850.27	135.39	0.001
Crecimiento (mm)	Dentro de los grupos	136.67	10.00	13.67		
	Total	7537.73	14.00			
	Entre grupos	64730000000000.00	4.00	16180000000000.00	6.49	0.01
Conidias totales	Dentro de los grupos	24920000000000.00	10.00	2492000000000.00		
	Total	89640000000000.00	14.00			
	Entre grupos	525300000000.00	4.00	131300000000.00	8.13	0.001
Conidias germinadas	Dentro de los grupos	161600000000.00	10.00	16160000000.00		
	Total	686900000000.00	14.00			

Cuadro A14. Análisis de varianza los extractos vegetales al 30,20 y 10% sobre *C. gloeosporioides* aislado de mango

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
	Entre grupos	5942.286	6	990.381	25.302	0.001
Crecimiento (mm)	Dentro de los grupos	548	14	39.143		
	Total	6490.286	20			
	Entre grupos	1176515676703040.00	6.00	196085946117173.00	11.98	0.001
Conidias totales	Dentro de los grupos	229224668287037.00	14.00	16373190591931.20		
	Total	1405740344990070.00	20.00			
	Entre grupos	70625777116.40	6.00	11770962852.73	1.11	0.40
Conidias germinadas	Dentro de los grupos	148152662037.04	14.00	10582333002.65		
	Total	218778439153.44	20.00			

Cuadro A15. Análisis de varianza los extractos vegetales al 40% sobre *Alternaria alternata* aislado de tomate.

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Crecimiento (mm)	Entre grupos	5027.60	4.00	1256.90	23.66	0.001
	Dentro de los grupos	531.33	10.00	53.13		
	Total	5558.93	14.00			
Conidias totales	Entre grupos	613400000000.00	4.00	153400000000.00	7.00	0.01
	Dentro de los grupos	219000000000.00	10.00	21900000000.00		
	Total	832400000000.00	14.00			
Conidias germinadas	Entre grupos	156400000000.00	4.00	39090000000.00	2.98	0.07
	Dentro de los grupos	131300000000.00	10.00	13130000000.00		
	Total	287600000000.00	14.00			

Cuadro A16. Análisis de varianza los extractos vegetales al 30,20 y 10% *Alternaria alternata* aislado de tomate.

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Crecimiento (mm)	Entre grupos	7500	3	2500		0.001
	Dentro de los grupos	0	8	0		
	Total	7500	11			
Conidias totales	Entre grupos	31684202473958.30	3.00	10561400824652.70	643.49	0.001
	Dentro de los grupos	131302083333.33	8.00	16412760416.67		
	Total	31815504557291.60	11.00			
Conidias germinadas	Entre grupos	5231572265625.00	3.00	1743857421875.00	171.21	0.001
	Dentro de los grupos	81484375000.00	8.00	10185546875.00		
	Total	5313056640625.00	11.00			

Cuadro A17. Análisis de varianza los extractos vegetales al 40% sobre *Phytophthora* spp. aislado de cacao.

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Crecimiento (mm)	Entre grupos	6,661.07	4.00	1,665.27	1,921.46	0.001
	Dentro de los grupos	8.67	10.00	0.87		
	Total	6,669.73	14.00			
Zoosporas totales	Entre grupos	37,500,000,000,000.00	4.00	9,376,000,000,000.00	45.75	0.001
	Dentro de los grupos	2,049,000,000,000.00	10.00	204,900,000,000.00		
	Total	39,550,000,000,000.00	14.00			

Cuadro A18. Análisis de varianza los extractos vegetales al 30,20 y 10% sobre *Phytophthora* spp. aislado de cacao.

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Crecimiento (mm)	Entre grupos	10193.143	6	1698.857	5946	0.001
	Dentro de los grupos	4	14	0.286		
	Total	10197.143	20			
Zoosporas totales	Entre grupos	33055659722222.20	6.00	5509276620370.37	84.275	0.001
	Dentro de los grupos	915219907407.41	14.00	65372850529.10		
	Total	33970879629629.60	20.00			

Cuadro A19. Análisis de varianza mejor medio de cultivo de las variables número de Conidias (totales y germinadas) m L<sup>-1</sup> de *C. gloeosporioides* aislado de papaya.

		Suma cuadrados	de	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Conidias totales 0 h	Entre grupos	15791.811		3	5263.937	35.533	0.001
	Dentro de los grupos	1777.701		12	148.142		
	Total	17569.512		15			
Conidias germinadas 0 h	Entre grupos	5.743		3	1.914	5.074	0.017
	Dentro de los grupos	4.528		12	0.377		
	Total	10.271		15			
Conidias totales 24 h	Entre grupos	9714.062		3	3238.021	34.16	0.001
	Dentro de los grupos	1137.486		12	94.791		
	Total	10851.549		15			
Conidias germinadas 24 h	Entre grupos	279.644		3	93.215	30.769	0.001
	Dentro de los grupos	36.354		12	3.03		
	Total	315.998		15			
Conidias totales 48 h	Entre grupos	19727.403		3	6575.801	24.033	0.001
	Dentro de los grupos	3283.319		12	273.61		
	Total	23010.722		15			
Conidias germinadas 48 h	Entre grupos	68.089		3	22.696	15.656	0.001
	Dentro de los grupos	17.396		12	1.45		
	Total	85.484		15			
Conidias totales 72 h	Entre grupos	10803.236		3	3601.079	24.959	0.001
	Dentro de los grupos	1731.375		12	144.281		
	Total	12534.611		15			
Conidias germinadas 72 h	Entre grupos	593.229		3	197.743	11.046	0.001
	Dentro de los grupos	214.819		12	17.902		
	Total	808.049		15			
Conidias totales 96 h	Entre grupos	6327.056		3	2109.019	14.486	0.001
	Dentro de los grupos	1747.139		12	145.595		
	Total	8074.194		15			
Conidias germinadas 96 h	Entre grupos	503.486		3	167.829	67.791	0.001
	Dentro de los grupos	29.708		12	2.476		
	Total	533.194		15			

Cuadro A20. Anova mejor medio de cultivo en *Alternaria alternata* aislado de tomate durante cinco horas de conteo.

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Conidias totales 0 h	Entre grupos	87890000.00	3	29,300,000.00	3.344	0.056
	Dentro de los grupos	105100000.00	12	8760127.315		
	Total	193000000.00	15			
Conidias germinadas 0 h	Entre grupos	292968.75	3	97656.25	0.049	0.985
	Dentro de los grupos	23830000.00	12	1985677.083		
	Total	24120000.00	15			
Conidias totales 24 h	Entre grupos	64530000.00	3	21,510,000.00	10.639	0.001
	Dentro de los grupos	24260000.00	12	2,021,846.07		
	Total	88790000.00	15			
Conidias germinadas 24 h	Entre grupos	9244791.67	3	3081597.222	17.04	0.001
	Dentro de los grupos	2170138.89	12	180844.907		
	Total	11410000.00	15			
Conidias totales 48 h	Entre grupos	197,400,000.00	3.00	65,780,000.00	21.966	0.001
	Dentro de los grupos	35,940,000.00	12.00	2,994,791.67		
	Total	233,300,000.00	15.00			
Conidias germinadas 48 h	Entre grupos	20,920,000.00	3.00	6,973,379.63	4.21	0.03
	Dentro de los grupos	19,880,000.00	12.00	1,656,539.35		
	Total	40,800,000.00	15.00			
Conidias totales 72 h	Entre grupos	654,400,000.00	3.00	218,100,000.00	22.715	0.001
	Dentro de los grupos	115,200,000.00	12.00	9,602,864.58		
	Total	769,600,000.00	15.00			
Conidias germinadas 72 h	Entre grupos	241,700,000.00	3.00	80,570,000.00	14.036	0.001
	Dentro de los grupos	68,880,000.00	12.00	5,740,017.36		
	Total	310,600,000.00	15.00			
Conidias totales 96 h	Entre grupos	116,800,000.00	3.00	38,920,000.00	13.62	0.001
	Dentro de los grupos	34,290,000.00	12.00	2,857,349.54		
	Total	151,000,000.00	15.00			
Conidias germinadas 96 h	Entre grupos	17,050,000.00	3.00	5,682,146.99	2.926	0.077
	Dentro de los grupos	23,310,000.00	12.00	1,942,274.31		
	Total	40,350,000.00	15.00			

Cuadro A21. Anova efecto del preparado y extracto sobre de *C. gloeosporioides* aislado de papaya durante cinco horas de conteo.

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
	Entre grupos	118803125000.00	2.00	59401562500.00	96.61	0.001
Conidias totales 0 h	Dentro de los grupos	3689236111.11	6.00	614872685.19		
	Total	122492361111.11	8.00			
	Entre grupos	12500000.00	2.00	6250000.00	2.92	0.13
Conidias germinadas 0 h	Dentro de los grupos	12847222.22	6.00	2141203.70		
	Total	25347222.22	8.00			
	Entre grupos	18080729899691.30	2.00	9040364949845.68	85.67	0.001
Conidias totales 24 h	Dentro de los grupos	633183564814.81	6.00	105530594135.80		
	Total	18713913464506.10	8.00			
	Entre grupos	30771450617.28	2.00	15385725308.64	4.20	0.07
Conidias germinadas 24 h	Dentro de los grupos	21987962962.96	6.00	3664660493.83		
	Total	52759413580.25	8.00			
	Entre grupos	13892129629.63	2.00	6946064814.82	2.45	0.17
Conidias totales 48 h	Dentro de los grupos	17041898148.15	6.00	2840316358.03		
	Total	30934027777.78	8.00			
	Entre grupos	278742283.95	2.00	139371141.98	13.07	0.01
Conidias germinadas 48 h	Dentro de los grupos	64004629.63	6.00	10667438.27		
	Total	342746913.58	8.00			
	Entre grupos	2873881172.84	2.00	1436940586.42	0.40	0.69
Conidias totales 72 h	Dentro de los grupos	21545717592.59	6.00	3590952932.10		
	Total	24419598765.43	8.00			
	Entre grupos	801851851.85	2.00	400925925.93	16.43	0.001
Conidias germinadas 72 h	Dentro de los grupos	146412037.04	6.00	24402006.17		
	Total	948263888.89	8.00			
	Entre grupos	8153658371913.58	2.00	4076829185956.79	23.56	0.001
Conidias totales 96 h	Dentro de los grupos	1038258101851.85	6.00	173043016975.31		
	Total	9191916473765.43	8.00			
	Entre grupos	14684375000.00	2.00	7342187500.00	10.80	0.01
Conidias germinadas 96 h	Dentro de los grupos	4077430555.56	6.00	679571759.26		
	Total	18761805555.56	8.00			

Cuadro A22. Anova efecto del preparado y extracto sobre de *C. gloeosporioides* aislado de mango durante cinco horas de conteo.

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Conidias totales 0 h	Entre grupos	1863695988	2	931847993.8	25.519	0.001
	Dentro de los grupos	219097222.2	6	36516203.7		
	Total	2082793210	8			
conidias germinadas 0 h	Entre grupos	38580.247	2	19290.123	1	0.422
	Dentro de los grupos	115740.741	6	19290.123		
	Total	154320.988	8			
Conidias totales 24 h	Entre grupos	1428510802	2	714255401.2	27.84	0.001
	Dentro de los grupos	153935185.2	6	25655864.2		
	Total	1582445988	8			
conidias germinadas 24 h	Entre grupos	112500000	2	56250000	138.857	0.001
	Dentro de los grupos	2430555.556	6	405092.593		
	Total	114930555.6	8			
Conidias totales 48 h	Entre grupos	18336226852	2	9168113426	47.338	0.001
	Dentro de los grupos	1162037037	6	193672839.5		
	Total	19498263889	8			
conidias germinadas 48 h	Entre grupos	154166666.7	2	77083333.33	45.931	0.001
	Dentro de los grupos	10069444.44	6	1678240.741		
	Total	164236111.1	8			
Conidias totales 72 h	Entre grupos	57912191358	2	28956095679	9.788	0.013
	Dentro de los grupos	17749189815	6	2958198302		
	Total	75661381173	8			
conidias germinadas 72 h	Entre grupos	458371913.6	2	229185956.8	42.892	0.001
	Dentro de los grupos	32060185.19	6	5343364.198		
	Total	490432098.8	8			
Conidias totales 96 h	Entre grupos	5427870000000	2	2713930000000	4.398	0.067
	Dentro de los grupos	3702300000000	6	617051000000		
	Total	9130170000000	8			
conidias germinadas 96 h	Entre grupos	9225462963	2	4612731481	2.224	0.189
	Dentro de los grupos	12,442,592,592.59	6.00	2,073,765,432.10		
	Total	21,668,055,555.56	8.00			



Cuadro A23. Anova efecto del preparado y extracto sobre *Alternaria alternata* aislado de tomate durante cinco horas de conteo.

		Suma	de	Cuadrado medio	F	Sig.
		cuadrados	df			
Conidias 0 h	Entre grupos	484992284	2	242496142	12.533	0.007
	Dentro de los grupos	116087963	6	19347993.8		
	Total	601080247	8			
Conidias germinadas 0 h	Entre grupos	27816358	2	13908179	144.2	0.001
	Dentro de los grupos	578703.704	6	96450.617		
	Total	28395061.7	8			
Conidias 24 h	Entre grupos	1132291667	2	566145833	85.07	0.001
	Dentro de los grupos	39930555.6	6	6655092.59		
	Total	1172222222	8			
Conidias germinadas 24 h	Entre grupos	18672839.5	2	9336419.75	17.286	0.003
	Dentro de los grupos	3240740.74	6	540123.457		
	Total	21913580.2	8			
Conidias 48 h	Entre grupos	740625000	2	370312500	63.99	0.001
	Dentro de los grupos	34722222.2	6	5787037.04		
	Total	775347222	8			
Conidias germinadas 48 h	Entre grupos	11574074.1	2	5787037.04	8.571	0.017
	Dentro de los grupos	4050925.93	6	675154.321		
	Total	15625000	8			
Conidias 72 h	Entre grupos	2797376543	2	1398688272	308.545	0.001
	Dentro de los grupos	27199074.1	6	4533179.01		
	Total	2824575617	8			
Conidias germinadas 72 h	Entre grupos	222839506	2	111419753	36.79	0.001
	Dentro de los grupos	18171296.3	6	3028549.38		
	Total	241010802	8			
Conidias 96 h	Entre grupos	4250115741	2	2125057870	13.724	0.006
	Dentro de los grupos	929050926	6	154841821		
	Total	5179166667	8			
Conidias germinadas 96 h	Entre grupos	367476852	2	183738426	2.426	0.169
	Dentro de los grupos	454398148	6	75733024.7		
	Total	821875000	8			

Cuadro A24. Anova efecto del preparado y extracto sobre *Phytophthora* spp., aislado de cacao durante cinco horas de conteo.

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Zoosporas 0 hora	Entre grupos	268235185185.185	2	134117592592.593	28.518	.001
	Dentro de los grupos	28217592592.593	6	4702932098.765		
	Total	296452777777.778	8			
Zoosporas 24 horas	Entre grupos	187963580246.914	2	93981790123.457	39.664	0.001
	Dentro de los grupos	14216666666.667	6	2369444444.444		
	Total	202180246913.580	8			
Zoosporas 48 horas	Entre grupos	239560339506.173	2	119780169753.086	139.312	0.001
	Dentro de los grupos	5158796296.296	6	859799382.716		
	Total	244719135802.469	8			
Zoosporas 72 horas	Entre grupos	205127006172.840	2	102563503086.420	789.794	0.001
	Dentro de los grupos	779166666.667	6	129861111.111		
	Total	205906172839.506	8			
Zoosporas 96 horas	Entre grupos	393809876543.210	2	196904938271.605	462.047	0.001
	Dentro de los grupos	2556944444.444	6	426157407.407		
	Total	396366820987.654	8			

Cuadro A25. Anova en poscosecha de *C. gloeosporioides* aislado en mango

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
crecimiento al día 1	Entre grupos	0.00	6.00	0.00	.	.
	Dentro de los grupos	0.00	42.00	0.00		
	Total	0.00	48.00			
crecimiento al día 2	Entre grupos	0.28	6.00	0.05	2.08	0.08
	Dentro de los grupos	0.93	42.00	0.02		
	Total	1.20	48.00			
crecimiento al día 3	Entre grupos	1.35	6.00	0.22	2.28	0.05
	Dentro de los grupos	4.14	42.00	0.10		
	Total	5.49	48.00			
crecimiento al día 4	Entre grupos	1.84	6.00	0.31	2.90	0.02
	Dentro de los grupos	4.43	42.00	0.11		
	Total	6.27	48.00			
crecimiento al día 5	Entre grupos	9.92	6.00	1.65	8.03	0.00
	Dentro de los grupos	8.64	42.00	0.21		
	Total	18.56	48.00			
crecimiento al día 6	Entre grupos	20.77	6.00	3.46	12.11	0.00
	Dentro de los grupos	12.00	42.00	0.29		
	Total	32.77	48.00			
crecimiento al día 7	Entre grupos	30.46	6.00	5.08	6.97	0.00
	Dentro de los grupos	30.57	42.00	0.73		
	Total	61.03	48.00			
crecimiento al día 8	Entre grupos	40.82	6.00	6.80	3.20	0.01
	Dentro de los grupos	89.21	42.00	2.12		
	Total	130.03	48.00			
crecimiento al día 9	Entre grupos	119.42	6.00	19.90	2.61	0.03
	Dentro de los grupos	320.86	42.00	7.64		
	Total	440.28	48.00			
crecimiento al día 10	Entre grupos	225.57	6.00	37.60	2.79	0.02
	Dentro de los grupos	565.93	42.00	13.47		
	Total	791.50	48.00			
crecimiento al día 11	Entre grupos	354.92	6.00	59.15	3.40	0.01
	Dentro de los grupos	730.71	42.00	17.40		
	Total	1085.63	48.00			
crecimiento al día 12	Entre grupos	508.39	6.00	84.73	3.20	0.01
	Dentro de los grupos	1111.50	42.00	26.46		
	Total	1619.89	48.00			
crecimiento al día 13	Entre grupos	989.12	6.00	164.85	5.08	0.001
	Dentro de los grupos	1363.86	42.00	32.47		
	Total	2352.98	48.00			
crecimiento al día 14	Entre grupos	1297.56	6.00	216.26	6.45	0.001
	Dentro de los grupos	1407.43	42.00	33.51		
	Total	2704.99	48.00			
Conidias totales	Entre grupos	232700000000.00	6.00	38780000000.00	21.67	0.001
	Dentro de los grupos	751600000000.00	42.00	17900000000.00		
	Total	3078000000000.00	48.00			
conidias germinadas	Entre grupos	833900000.00	6.00	139000000.00	3.68	0.01
	Dentro de los grupos	1585000000.00	42.00	37730000.00		
	Total	2419000000.00	48.00			
DAÑO INTERNO	Entre grupos	22.25	6.00	3.71	12.67	0.001
	Dentro de los grupos	12.29	42.00	0.29		
	Total	34.53	48.00			
SEVERIDAD	Entre grupos	22.98	6.00	3.83	10.24	0.001
	Dentro de los grupos	15.71	42.00	0.37		
	Total	38.69	48.00			

Cuadro A26. Anova en poscosecha de *C. gloeosporioides* aislado de papaya

		Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
crecimiento a los 3 días	Entre grupos	21,510.46	6.00	3,585.08	5.97	0.001
	Dentro de los grupos	29,424.38	49.00	600.50		
	Total	50,934.84	55.00			
crecimiento a los 6 días	Entre grupos	304,481.43	6.00	50,746.91	14.60	0.001
	Dentro de los grupos	170,379.13	49.00	3,477.13		
	Total	474,860.55	55.00			
Severidad a 3 días	Entre grupos	11.43	6.00	1.91	4.55	0.001
	Dentro de los grupos	20.50	49.00	0.42		
	Total	31.93	55.00			
Severidad a 6 días	Entre grupos	49.86	6.00	8.31	10.31	0.001
	Dentro de los grupos	39.50	49.00	0.81		
	Total	89.36	55.00			
Daño interno a 6 días	Entre grupos	34.68	6.00	5.78	13.33	0.001
	Dentro de los grupos	21.25	49.00	0.43		
	Total	55.93	55.00			
Conidias totales	Entre grupos	8,662,895,247,059,910.00	6.00	1,443,815,874,509,980.00	5.33	0.001
	Dentro de los grupos	13,283,405,281,884,400.00	49.00	271,089,903,711,927.00		
	Total	21,946,300,528,944,300.00	55.00			
Conidias germinadas	Entre grupos	35,128,521,907,207.60	6.00	5,854,753,651,201.26	18.39	0.001
	Dentro de los grupos	15,598,002,854,335.40	49.00	318,326,588,863.99		
	Total	50,726,524,761,543.00	55.00			