UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

TESIS

AISLAMIENTO DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS DE FRUTOS DE MANGO CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA CONTRA FITOPATÓGENOS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIÓLOGO

PRESENTA:

EDITH GERARDO ESCOBEDO

DIRECTOR:

DR. HÉCTOR EDUARDO MARTÍNEZ FLORES

CO-DIRECTOR:

DR. JOSÉ JUAN VIRGEN ORTÍZ

Morelia, Michoacán. Noviembre 2023

DEDICATORIA

Primeramente, a **Dios** por haberme dado fuerza y guiarme en la dirección correcta, por siempre estar presente, por permitirme conocer y rodearme de excelentes personas, gracias.

A mi querida madre **Gregory Escobedo** por inculcarme los valores con los que me he forjado como persona que me han ayudado a crecer día con día, por aquellas palabras de aliento cada vez que las necesite.

A mis queridas hermanas **Blanca Gerardo** y **Elia Gerardo**, por todo el apoyo y cariño incondicional, por darme fortaleza, confianza y convicción para cumplir mis sueños, por ser un ejemplo en mi vida.

A mi tía **Francisca Gerardo** y a mi padre **Juan Gerardo** quienes me inspiraron y apoyaron a seguir mis sueños, quienes me enseñaron a no rendirme y siempre ir en busca de lo más grande.

Agradezco y dedico este trabajo a las personas más importantes en mi vida, quienes fueron y siguen siendo pilares fundamentales en mi vida y sustento esencial a lo largo de mi existir.

A todos y cada uno de mis amigos y seres queridos en la cercanía o a la distancia, gracias.

“Todos tus sueños se pueden convertir en realidad si tienes el coraje de perseguirlos”

Walt Disney

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo** por abrirme las puertas hacia el conocimiento, permitirme ser parte de la comunidad Nicolaita y por ayudarme a crecer y formarme como profesional de la ciencia.

Al **Centro de Innovación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán A.C (CIDAM),** por darme la oportunidad de realizar mi servicio social, así como la presente investigación de tesis, por brindarme los espacios y conocimientos necesarios para culminar mi investigación.

A mi director de tesis, **el Dr. José Juan Virgen Ortiz** por transmitir sus conocimientos, habilidades y virtudes. Por su apoyo y dedicación incondicional, ayudándome a lo largo de mi investigación para poder concluirla de la mejor manera y coadyuvando a lograr esta meta de relevancia en mi vida. Mi más sincero y profundo agradecimiento hacia usted, siempre será un orgullo haber formado parte del Laboratorio de Poscosecha y fitopatología del CIDAM.

Asimismo, quisiera expresar mi gratitud a todas las personas que contribuyeron con el desarrollo de mi investigación. Especialmente a mi co-asesor de tesis, **el Dr. Héctor Eduardo Martínez Flores** por su paciencia y apoyo durante la realización de este proyecto. A cada uno de mis **sinodales** por dedicar su tiempo a revisar mi trabajo los comentarios, sugerencias, propuestas de mejora. Esta tesis no sería lo que es sin sus observaciones.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN 15
JUSTIFICACIÓN 17
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 17
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN 18
HIPÓTESIS 18
OBJETIVO GENERAL 18
OBJETIVOS ESPECÍFICOS 18
2. ANTECEDENTES 18
2.1 Generalidades del mango 18
2.1.1 Importancia productiva en México 19
2.1.2 Taxonomía del mango 20
2.1.3 Valor nutricional de *Mangifera indica L.* cv ´Ataulfo´ 20
2.2 Cosecha del mango 21
2.2.1 Corte 21
2.3 Manejo poscosecha del mango 22
2.3.1 Almacenamiento 22
2.3.2 Transporte 23
3. FACTORES QUE AFECTAN LA VIDA POSCOSECHA 23
3.1 Descomposición microbiana 23
3.1.1Temperatura 23
3.1.2 Madurez del fruto 24
4. HONGOS FITOPATÓGENOS ASOCIADOS CON ENFERMEDADES EN FRUTÍCOLAS 24
4.1 *Colletotrichum gloeosporioides* 24
4.1.1 Manera de infección 25
4.1.2 Morfología 25
4.1.3 Ciclo de vida 27
4.1.4 Control de *C. gloeosporioides* 27
4.2 *Fusarium oxysporum* 27
4.2.1 Manera de infección 28
4.2.2 Morfología 29

4.2.3 Ciclo de vida 30
4.2.4 Control de *F. oxysporum* 30
4.3 *Botrytis cinerea* 30
4.3.1 Manera de infección 31
4.3.2 Morfología 32
4.3.3 Ciclo de vida 33
4.3.4 Control de *B. cinerea* 33
4.4 *Alternaria alternata* 33
4.4.1 Manera de infección 34
4.4.2 Morfología 35
4.4.3 Ciclo de vida 36
4.4.4 Control de *Alternaria alternata* 36
4.5 *Pestalotia sp* 37
4.5.1 Manera de infección 37
4.5.2 Morfología 38
4.5.3 Ciclo de vida 39
4.5.4 Control de *Pestalotia sp* 39
5. ESTRATEGIAS PARA EL CONTROL DE FITOPATÓGENOS 40
5.1 Métodos de control 40
5.1.2 Control cultural 40
5.1.3 Control físico 40
5.1.4 Control químico 41
5.1.5 Control biológico 41
5.2 Control biológico mediante mecanismos de antagonismo 41
5.2.1 Microorganismos antagonistas 41
5.2.2 Microorganismos antagonistas durante la poscosecha 42
5.2.3 Mecanismos de acción 42
5.2.4 Antibiosis 42
5.2.5 Lisis 43
5.2.6 Parasitismo 43
5.2.7 Competencia por nutrientes y espacio 43
5.2.8 Inducción de resistencia 43

5.3 Bacterias 44
5.3.1 Bacterias endófitas 44
5.3.2 Mecanismo de acción de bacterias contra fitopatógenos 44
5.3.3 Bacterias ácido lácticas 44
5.3.4 Clasificación de bacterias ácido lácticas 45
5.3.5 Taxonomía y características 46
6. MATERIALES Y MÉTODOS 46
6.1 Lugar de desarrollo 46
6.1.2 Material biológico 46
6.1.3 Materiales de laboratorio 46
7. DESARROLLO EXPERIMENTAL 47
7.1 Preparación de medios de cultivo 47
7.1.1 Caldo Man, Rogosa y Sharpe (MRS) 47
7.1.2 Agar MRS 47
7.1.3 Agar de dextrosa y papa (PDA) 48
7.1.4 Agar PDA al 7% 49
7.2 Aislamiento de bacterias ácido lácticas endófitas de frutos de mango 49
7.2.1 Desinfección superficial de los frutos 49
7.2.2 Crecimiento de las BAL 50
7.2.3 Selección y/o purificación de colonias BAL 51
7.2.4 Conservación de los aislados BAL 52
8. HONGOS FITOPATÓGENOS SOMETIDOS A EVALUACIÓN 52
8.1 Conservación de hongos fitopatógenos en glicerol 54
8.1.1 Selección de colonias purificadas de BAL con actividad antagónica contra los fitopatógenos 55
8.1.2 Prueba de inhibición de *C. gloeosporioides* por volátiles producidos por las cepas bacterianas 57
8.1.3 Evaluación *in vitro* de la actividad antagónica de BAL vs. los hongos fitopatógenos 58
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 59
9.1 Aislados de BAL endófitas de frutos de mango 59
9.1.1 Selección de colonias BAL con actividad antifúngica 60
9.1.2 Inhibición de *C. gloeosporioides* por volátiles de BAL 63

9.1.3 Actividad antifúngica de las BAL contra hongos fitopatógenos..... 64
CONCLUSIÓN 75
BIBLIOGRAFÍA 76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Síntomas y signos causados por *C. gloeosporioides* en *Mangifera indica* L. imagen tomada de Kamle and Kumar. (2016). 25

Figura 2. Conidios asexuales de *C. gloeosporioides* imagen tomada de Kamle and Kumar. (2016). 26

Figura 3. A) Morfología colonial de *C. gloeosporioides* en PDA imagen tomada de Kamle and Kumar. (2016). 26

Figura 4. Bulbo de narciso infectado por *F. oxysporum* a) y b) bulbo infectado c) bulbo podrido, tomado de Vasić et al. (2021). 28

Figura 5. a) morfología de macroconidios y micoconidios, b) clamidosporas, tomado de Vasić et al. (2021)..... 29

Figura 6. *F. oxysporum* en medio PDA c) vista superior d) vista inversa, tomado de Vasić et al. (2021). 29

Figura 7. Moho gris en uva causado por *B. cinerea* 31

tomado de Latorre et al. (2015). 31

Figura 8. B) conidióforos, C) conidios..... 32

tomado de Latorre et al. (2015). 32

Figura 9. *B. cinerea* en PDA..... 32

tomado de Latorre et al. (2015). 32

Figura 10. A) mancha negra en granada causada por *A. alternata.* 35

B) mancha negra en hoja de granada asociada a *A. alternata* 35

tomado de Ezra et al. (2010). 35

Figura 11. *A. alternata* en medio PDA aislado de la planta de té 35

tomado de Chen et al. (2018). 35

Figura 12. Estructuras microscópicas de conidios..... 36

tomado de Chen et al. (2018). 36

Figura 13. tomada de Maharachchikumbura et al. (2014). 38

Figura 14. *Pestalotia sp* C) Células conidios tomado de Maharachchikumbura et al. (2014). 38

Figura 15. *Pestalotia sp.* En medio PDA imagen tomada de Wall et al. (2015). .. 39

Figura 16. Caldo MRS. 47

Figura 17. Cajas Petri con agar MRS. 48

Figura 18. Agar de dextrosa y papa. 49

Figura 19. Aislado 3. Presencia de BAL en caldo MRS. 51

Figura 20. Bacterias ácido lácticas en agar-MRS. 52

Figura 21. *C. gloeosporioides* en PDA proveniente de aguacate. 53

Figura 22. *F. oxysporum* en PDA proveniente de jitomate. 53

Figura 23. *B. cinerea* en PDA proveniente de fresa. 53

Figura 24. *A. alternata* en PDA proveniente de agave……..……53

Figura 25. *Pestalotia sp.* en PDA proveniente de fresa. 54

Figura 26. Inoculación de *C. gloeosporioides* en medio semisólido PDA al 7% caja control y en presencia de BAL en medio agar MRS (día 0). 56

Figura 27. Imágenes representativas prueba de volátiles; confrontación *C. gloeosporioides* en presencia de BAL endófitas. 57

Figura 28. Evaluación del antagonismo de BAL *vs* el fitopatógeno *C. gloeosporioides.* Día cero de inoculación del hongo. 58

Figura 29. Agar MRS BAL aisladas de fruto de mango. 59

Figura 30. Prueba de inhibición del crecimiento de *C. gloeosporioides* por BAL purificadas, 3er día de la inoculación fúngica. A y B: cultivo control (sin presencia de BAL), C,D,E, y E cultivos de *C. gloeosporioides* en presencia de BAL. 60

Figura 31. Crecimiento de *C. gloeosporioides* en ausencia (control) y presencia de las BAL purificadas después de 6to día de inoculación. B: cultivo control (sin presencia de BAL), C, D, E, y F cultivo de *C. gloeosporioides* en presencia de BAL. 61

Figura 32. Prueba de inhibición del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* por compuestos volátiles. Desarrollo del hongo después de 3 días de su inoculación compartiendo su atmósfera con las BAL. 64

Figura 33. Crecimiento de *C. gloeosporioides* después de 3 días de inoculación en ausencia (control, placas en la columna izquierda de la imagen) y presencia de BAL (placas en el extremo derecho de la imagen). 65

Figura 34. Crecimiento de *C gloeosporioides* después del 9no día de incubación en ausencia (control) y presencia de BAL. 65

..... 67

Figura 35. Desarrollo de *F. oxysporum* en ausencia (control) y presencia de las BAL después de 3er día de inoculación. 67

Figura 36. Crecimiento de *F. oxysporum* en ausencia (control) y presencia de las BAL después de 9no día de inoculación. 67

Figura 37. Crecimiento de *B. cinérea* en ausencia de BAL (control) y en presencia de BAL en cultivo dual, después de 3 días de incubación. 69

Figura 38. Desarrollo de *B. cinérea* en ausencia de BAL (control) y en presencia de BAL en cultivo dual, después de 7 días de incubación**.** 69

Figura 39. Crecimiento de *A. alternata* en ausencia (control) y presencia de BAL en cultivo dual después de 3 días de incubación. 71

Figura 40. Crecimiento de *A. alternata* en ausencia (control) y presencia de BAL en cultivo dual después de 7 días de incubación. 71

Figura 41. Desarrollo del fitopatógeno *Pestalotia sp* en ausencia (control) y presencia de BAL en cultivo dual después de 3 días de incubación. 73

Figura 42. Desarrollo del fitopatógeno *Pestalotia sp* en ausencia (control) y presencia de BAL en cultivo dual después de 7 días de incubación. 73

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de mango tomada de (Arcila et al., 2022). 20

Tabla 2. Composición nutrimental de mango cv. 'Ataulfo' por cada 100 g de pulpa adaptada de (Wall et al., 2015) 21

Tabla 3. Crecimiento micelial promedio (mm) de *C. gloeosporioides* después de 3 y 6 días de inoculación en presencia de BAL. 61

Tabla 4. Desarrollo de *C. gloeosporioides* en ausencia y presencia de BAL. Porcentaje de crecimiento micelial relativo con el control y porcentaje de inhibición del crecimiento micelial. 62

LISTA DE SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

DESCRIPCIÓN	SIGLAS O ABREVIATURAS
Agar papa dextrosa	PDA
Bacterias ácido lácticas	BAL
Centro de Innovación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán	CIDAM
Inhibición del crecimiento radial (%)	PICR
Cultivar	Cv
Man, Rogosa y Sharpe agar	MRS agar
Man, Rogosa y Sharpe caldo	MRS caldo

DESCRIPCIÓN	UNIDADES
Centímetros	cm
Grados Celsius	° C
Gramo	g
Hora	h
Litro	l
Metros	m
Micrómetro	µm
Mililitro	mL
Milímetros	mm
Minuto	min
Porcentaje	%
Potencial de hidrógeno	pH
Segundo	s

RESUMEN

El mango es un fruto muy apreciado debido a sus atributos sensoriales, contenido de nutrientes y compuestos fitoquímicos benéficos para la salud. Este fruto es perecedero y con vida poscosecha reducida, siendo susceptible a infecciones fúngicas y deterioro. En la búsqueda de opciones para reducir el deterioro poscosecha causado por hongos, el uso de sistemas biológicos mediante microorganismos y sus metabolitos puede ser una alternativa viable y ambientalmente segura en comparación con los fungicidas sintéticos. El objetivo de este trabajo fue aislar bacterias ácido lácticas endófitas de frutos de mango, y evaluar su capacidad antagónica *in vitro* contra hongos fitopatógenos. Se utilizó medio de cultivo MRS como medio selectivo para aislar bacterias ácido lácticas (BAL) después de haber desinfectado la superficie de los frutos de mango 'Ataulfo'. La capacidad antagónica de determinó mediante cultivos duales MRS-PDA y se midió el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno en ausencia (control) y presencia de la BAL aisladas. Se lograron aislar 4 cepas de BAL con capacidad de inhibir el crecimiento micelial *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, con inhibiciones en el rango de 62 – 100%, en comparación con el cultivo control. La cepa que inhibió 100% el desarrollo de *C. gloeosporioides*, también presentó inhibición completa sobre el crecimiento micelial *in vitro* de los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum, Alternaria alternata, Pestalotia spp* y *Botrytis cinerea*. Las pruebas de inhibición fúngica por compuestos volátiles de las BAL resultaron negativas, lo que sugiere que los metabolitos no volátiles son los principales responsables del mecanismo de antibiosis de la BAL aislada en el presente trabajo. En conclusión, se aisló una cepa BAL con alta actividad antifúngica (100% inhibición del crecimiento micelial) con el potencial de emplearse como agente de biocontrol en el manejo de las enfermedades asociadas con los hongos fitopatógenos estudiados en esta investigación.

Palabras clave: mango, hongo, bacterias ácido lácticas, biocontrol, fitopatógenos.

ABSTRACT

Mango is a highly appreciated fruit due to its sensory attributes, nutrient content and phytochemical compounds beneficial for health. This fruit is perishable and has a reduced post-harvest life, being susceptible to fungal infections and deterioration. In the search for options to reduce postharvest spoilage caused by fungi, the use of biological systems using microorganisms and their metabolites can be a viable and environmentally safe alternative compared to synthetic fungicides. The objective of this work was to isolate endophytic lactic acid bacteria from mango fruits, and evaluate their antagonistic capacity in vitro against phytopathogenic fungi. MRS culture medium was used as a selective medium to isolate lactic acid bacteria (LAB) after having disinfected the surface of the 'Ataulfo' mango fruits. The antagonistic capacity was determined by MRS-PDA dual cultures and the mycelial growth of the phytopathogenic fungus was measured in the absence (control) and presence of the isolated LAB. Four LAB strains were isolated with the ability to inhibit the in vitro mycelial growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, with inhibitions in the range of 62 - 100%, compared to the control culture. The strain that inhibited 100% the development of C. gloeosporioides also presented complete inhibition on the in vitro mycelial growth of the phytopathogenic fungi *Fusarium oxysporum, Alternaria alternata, Pestalotia* spp and *Botrytis cinerea*. Fungal inhibition tests by volatile compounds of LAB were negative, suggesting that non-volatile metabolites are mainly responsible for the antibiosis mechanism of LAB isolated in the present work. In conclusion, a LAB strain with high antifungal activity (100% inhibition of mycelial growth) was isolated with the potential to be used as a biocontrol agent in the management of diseases associated with the phytopathogenic fungi studied in this research.

Keywords: mango, fungus, lactic acid bacteria, biocontrol, phytopathogens.

1. INTRODUCCIÓN

Las frutas y hortalizas durante su almacenamiento y traslado, sufren distintas infecciones causadas por diversas especies de hongos patógenos, consideradas hoy en día las principales causantes de podredumbre antes, durante y después de la cosecha, los cuales ocasionan pérdidas económicas significativas durante su comercialización (Rodriguez et al., 2015).

El control de estos fitopatógenos se basa en la aplicación de fungicidas sintéticos principalmente, sin embargo, su uso constante puede causar la resistencia a estos plaguicidas y aumentar la contaminación ambiental, por esta razón se han investigado y propuesto agentes de control biológico que sean amigables con el medio ambiente, empleando así bacterias, hongos y extractos de plantas para su control (Hao et al., 2021). Los cuales actúan desplazando los agentes infecciosos de forma natural y fortalecen a la especie vegetal hospedera (Amaíz et al., 2015).

El uso de bacterias ácido lácticas (BAL) en la medicina tradicional, la fermentación y conservación de los alimentos se ha documentado desde la antigüedad, manteniéndose en estudio hasta la actualidad. Las BAL tienen su habitad natural en hortalizas, por ende su potencial aplicación para la prevención del deterioro de plantas y vegetales es una opción para el área de biocontrol y bio- preservación (Sathe et al., 2007).

Las propiedades antimicrobianas de las BAL se pueden atribuir tanto a la competencia por los nutrientes como a la producción de diversos compuestos inhibidores, como ácidos orgánicos, bacteriocinas, antibióticos y otros productos como el etanol, peróxido de hidrogeno, dióxido de carbono, diacetilo y acetaldehído, entre otras (Dillon, 1998).

Algunos de estos mecanismos de acción han sido observados en cepas microbianas utilizadas como agentes de biocontrol, entre las cuales el género *Bacillus* ha sido ampliamente estudiado debido a su alta abundancia y diversidad

en los agrosistemas (suelo, agua y plantas), siendo significativamente mayor su población en comparación con otros géneros microbianos y además por sus diversas capacidades metabólicas, destacando su capacidad para producir antibióticos y otros metabolitos antimicrobianos y antifúngicos (Tejera et al., 2011).

Estudios moleculares han revelado que un porcentaje significativo del genoma de cepas del género *Bacillus* como *Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus subtilis* están relacionados con la producción de metabolitos secundarios asociados al control de fitopatógenos, esto justifica el amplio uso de cepas de este género como agentes para el control de enfermedades que afectan los cultivos agrícolas (Villarreal et al., 2018).

El empleo de microorganismos antagonistas se ha sustentado en la combinación con otras alternativas o con los fungicidas sintéticos. En este sentido se han desarrollado diversos estudios para conocer la eficacia biológica de los antagonistas, y se han analizado levaduras antagonistas (*Trichosporon pullulans, Cryptococcus laurentii, Rhodotorula glutinis* y *Pichia membranefaciens),* encontrándose que fueron efectivas contra importantes patógenos poscosecha (*Alternaria alternata, Penicillium expansum, Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*) en cerezas (*Rubus idaeus L.*), donde manteniéndose en condiciones controladas se logró suprimir el crecimiento de *Trichosporon pullulans* y *Pichia membraanefaciens* (Hernández et al., 2007).

La ventaja de emplear productos biológicos radica en que estos usualmente no ejercen efectos nocivos al hombre y/o ambiente. Además, presentan una alternativa económica en el control y disminución de fitopatógenos (Amaíz et al., 2015).

Por lo anterior, en el presente trabajo se realizaron aislados de bacterias ácido lácticas endófitas de frutos de mango, cultivados en el Estado de Michoacán, con la finalidad de encontrar cepas antagonistas de hongos fitopatógenos responsables del deterioro poscosecha del fruto, y con capacidad como agentes de biocontrol.

JUSTIFICACIÓN

Se ha demostrado que las bacterias producen compuestos antagónicos para el control biológico de los diferentes patógenos, siendo una herramienta eco-amigable, eficaz y viable. La presente investigación se enfoca en el aislamiento de bacterias ácido lácticas endófitas de frutos de mango cv. 'Ataulfo', esperando encontrar cepas con potencial actividad antifúngica ante patógenos causantes de enfermedades poscosecha, por ejemplo; *C. gloeosporioides, Fusarium spp, Botrytis cinerea, Pestalotia spp y Alternaria alternata.*

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente se ha incrementado la demanda de alimentos frutícolas, por sus conocidas propiedades nutricionales y efectos benéficos en la salud humana. Sin embargo, se tiene el problema de las altas pérdidas poscosecha, en buena parte debido a enfermedades causadas por hongos fitopatógenos. Para disminuir el deterioro poscosecha de los frutícolas, se utilizan fungicidas sintéticos con los efectos secundarios nocivos que se conocen, incluyendo toxicidad al consumidor y daños al ecosistema. En la búsqueda de alternativas para reducir pérdidas poscosecha causadas por hongos, el uso de sistemas biológicos mediante microorganismos y sus metabolitos, ha demostrado ser una opción viable y ambientalmente segura en comparación con los fungicidas sintéticos. Por lo que es necesario la búsqueda de microorganismos, nativos de nuestra región, con alta capacidad de biocontrol y/o antifúngica contra los principales hongos causantes del deterioro en hortofrutícolas.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existen bacterias ácido lácticas endófitas de frutos de mango con capacidad antagónica contra los principales hongos fitopatógenos del mismo fruto?

HIPÓTESIS

En los frutos de mango existen bacterias ácido lácticas con actividad antifúngica, contra algunos fitopatógenos causales de enfermedades poscosecha de frutícolas.

OBJETIVO GENERAL

Aislar bacterias ácido lácticas endófitas de frutos de mango y evaluar su capacidad antagónica *in vitro* contra hongos fitopatógenos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Aislar y purificar bacterias ácido lácticas de frutos de mango 'Ataulfo' adquiridos en el Estado de Michoacán.

Determinar la capacidad antagónica *in vitro* de las BAL aisladas contra los hongos fitopatógenos: *Colletotrichum gloeosporioides, Fusarium oxysporum, Alternaria alternata, Pestalotia spp y Botrytis cinerea.*

2. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades del mango

El mango (*Mangifera indica* L.) es una especie endémica de Asia, fue introducida al continente americano por los españoles durante el S. XVII. A pesar de no ser un cultivo nativo del continente americano a lo largo de los años su producción y consumo ha llegado a ocupar un lugar importante (Wall et al., 2015).

Esta frutícola es conocida mundialmente por su exquisito sabor, recibiendo así, el renombre del "Rey de las frutas". Se caracteriza por su agradable aroma, intensa pigmentación en su piel, excelente sabor y altos valores nutricionales (Kamle & Kumar, 2016). Es una especie que crece en climas tropicales y subtropicales. *Mangifera* es uno de los 76 géneros en la familia *Anacadiaceae* y se clasifica en 69 especies divididas en dos subgéneros *Mangifera* y *Limus* (Bally & Dillon, 2018).

Sus árboles dicotiledóneos tienen una longevidad de 100 años aproximadamente, pueden alcanzar dimensiones de hasta 30 m de altura (Bally & Dillon, 2018). La raíz principal alcanza una profundidad de 6 a 8 m, mientras que las superficiales suelen extenderse dentro de un radio de hasta 10 m, esta anatomía le permite al árbol resistir a sequías. La estructura del tallo depende de la forma de reproducción del árbol, ya sea por semilla o por injerto y el tipo de poda que se le aplique. Cuando el árbol es reproducido por semilla la copa suele ser abundante y la altura puede llegar a ser de 40 m, a diferencia de los árboles injertados y podados pues, su ramificación es menor, de forma asimétrica y con copa esférica (Rodriguez et al., 2002). En cuanto a las hojas presentan una pigmentación verde intenso por el haz y verde amarillento por el envés, también pueden mostrarse con un color violeta o rojizo cuando son jóvenes. El largo va desde los 8 y 45 cm mientras que, el ancho de 2 a 12 cm, sin embargo, tanto la forma como las medidas longitudinales pueden variar según la especie. En general las hojas se presentan alternadas y simples en disposición, frecuentemente oblicuas, de ápices redondeados y con peciolos redondos, lisos y ligeramente engrosados en su base (Arcila et al., 2022). Las flores nacen al final de los ramilletes, son ampliamente cónicas y pueden llegar a medir hasta 60 cm de largo en algunos cultivares. El mango tiene dos tipos de flores: las hermafroditas, pequeñas de 5 a 10 mm, con cuatro o cinco sépalos ovalados y de cuatro a cinco pétalos; y, las flores masculinas, siendo similares a las flores hermafroditas, pero sin pistilo. El fruto del mango puede variar en cuanto forma, sabor, color y textura de la carne esto según la especie del árbol, los frutos poseen en su interior una semilla ovoide, rodeada por un endocarpio fibroso, la fruta puede llegar a pesar menos de 50 g hasta 2 kg; mientras el fruto crece tiene una pigmentación verdosa en su piel, al madurar cambia de verde intenso a verde más claro hasta llegar al color amarillo, en medida que va madurando el fruto (Bally, 2006).

2.1.1 Importancia productiva en México

El mango se destaca por su gran sabor y alto valor nutricional, además de generar ganancias a los lugareños, así como al país debido a la exportación, este manjar es comercializado en el país durante los meses de febrero hasta agosto. México al

contar con las condiciones ambientales para producir esta fruta se coloca en el puesto número 6 en la producción mundial. Al menos 23 estados de la república cosechan distinta variedad de mango, teniendo mayor productividad los estados de Sinaloa, Guerrero, Nayarit y Chiapas (SADER, 2021).

2.1.2 Taxonomía del mango

Tabla 1. Taxonomía del mango tomada de (Arcila et al., 2022).

Reino	*Plantae*
Clase	*Dicotyledonea*
Subclase	*Rosidae*
Suborden	*Anacardiineae*
Genero	*Mangifera*
Familia	*Anacardiaceae*
Especie	*Indica*

2.1.3 Valor nutricional de *Mangifera indica L.* cv ´Ataulfo´

Desde el punto de vista del valor nutricional, el mango es rico en vitamina A, C, E, ácido fólico, hierro, calcio y zinc, su contenido en azúcares alcanza el 20% (PROFECO, 2021). El mango es una excelente fuente de compuestos bioactivos incluyendo flavonoides y carotenoides como beta-caroteno, alfa-caroteno y beta criptoxantina, todos estos compuestos conocidos por sus propiedades antioxidantes y protectoras de la salud del consumidor. Se puede consumir en distintas maneras, es decir, en su estado natural (fruta fresca), jugos, helados, dulces, mermeladas, conservas y de manera industrializada en forma de pulpa (SAGARPA, 2017).

Tabla 2. Composición nutrimental de mango cv. 'Ataulfo' por cada 100 g de pulpa adaptada de (Wall et al., 2015).

Composición nutrimental de mango cv. 'Ataulfo' Por cada 100 g de pulpa	
Ácido ascórbico	36.4 mg
Agua	83.5 g
Azúcares	13.7 g
Vitamina B6	0.12 mg
Vitamina E	0.9 mg
Energía (kcal)	60 kcal
Fibra	1.6 g
Folatos	43 µg
Grasas	0.4 g
Niacina	0.67 mg
Proteínas	0.8 g
Riboflavina	0.04 mg
Tiamina	0.03 mg

2.2 Cosecha del mango

2.2.1 Corte

Para obtener frutas de calidad la recolección y/o cosecha es muy importante, de igual manera es fundamental contar con personal capacitado encargado de la cosecha, con la finalidad de realizar las actividades de manera eficiente. El estado de madurez del fruto es indispensable para lograr frutos de alta calidad. Una apropiada selección de madurez de mango se basa en una variedad de parámetros, incluyendo: forma del fruto, pigmentación de la cáscara, firmeza de la pulpa y desarrollo de color de la pulpa (Brecht et al., 2020).

En el caso de los mangos cosechados antes de su madurez óptima probablemente madura, sin embargo, no logran el nivel de calidad en lo que respecta a su sabor y aroma (Gamboa & Mora, 2010).

2.3 Manejo poscosecha del mango

El manejo poscosecha requiere que la fruta sea cortada en estadios tempranos de maduración, para lograr su mayor vida de anaquel y, garantizar el perfil nutrimental y fitoquímico, emplear los siguientes métodos para su conservación (Wall et al., 2015):

-Aplicación de subproductos (extractos) del mismo mango: se emplea el tejido de frutas rico en compuestos bioactivos como compuestos fenólicos, carotenoides y vitaminas propiamente del fruto, como fuente de aditivos antimicrobianos y antioxidantes. La literatura menciona que se ha utilizado ácido cítrico, ácido siccínico, ácido málico, ácido acético y ácido tartárico en la industria alimentaria como agente conservante debido a su eficacia microbiana además de ser subproductos naturales de frutos (Ayala et al., 2010).

-Tratamiento hidrotérmico: se lleva a cabo sumergiendo los frutos en agua caliente a una temperatura de 46.1° C, posteriormente pasan por una tina de enfriado para finalmente ser seleccionados, empacados y almacenados (Infante et al., 2011).

-Refrigeración: los frutos ocupan ser almacenados por refrigeración a una temperatura que oscile entre los 10 y 13° C (Infante et al., 2011).

2.3.1 Almacenamiento

Mantener la fruta en el rango de temperatura de 20° C a 23° C proporciona un mejor aspecto, sabor y control durante la maduración del mango. Por otra parte al mantener el fruto a una temperatura de 15.5° C a 18° C durante la maduración proporciona una pigmentación a la piel más atractivo, no obstante el sabor se

mantiene ácido, por ello se debe mantener durante 2 o 3 días más a una temperatura de 21° C a 24° C (Zakir et al., 2018).

2.3.2 Transporte

Los vehículos encargados de transportar los frutos deben estar cubiertos con mallas evitando la exposición directa al sol, ya que esta exposición incrementaría considerablemente la tasa de respiración y perdida de agua de los frutos de mango, lo que afecta la vida de anaquel de los frutos. Por esta razón, se recomienda que el transporte se realice a horas tempranas o por la noche; para evitar así temperaturas muy altas con la finalidad de preservar aún más la vida poscosecha (Brecht et al., 2020).

3. FACTORES QUE AFECTAN LA VIDA POSCOSECHA

3.1 Descomposición microbiana

Entre las principales problemáticas podemos destacar la perdida poscosecha que llega a alcanzar grandes proporciones causadas por la descomposición microbiana de origen bacteriano o fúngico. Como ya se ha mencionado la enfermedad más destructiva para el fruto del mango es la antracnosis, causada por *C. gloeosporioides,* sin embargo, existen otros hongos que causan severos daños en la superficie del fruto, este deterioro provocado por ataques fungosos pueden prevenirse o controlarse mediante la utilización de fungicidas, ya sea durante la precosecha o poscosecha (Galvis & Herrera, 1996).

3.1.1 Temperatura

La temperatura alta o baja suele dañar de distintas maneras la fruta. Las temperaturas frías suelen presentar síntomas como maduración heterogénea, generando inhibición en la coloración de la pulpa y su sabor, color grisáceo de la piel, aumento de la susceptibilidad a las pudriciones y, en casos muy severos, pardeamiento de la piel. Así mismo el daño por temperaturas altas ocurre cuando se excede el tiempo de exposición a las temperaturas recomendadas para el control de pudriciones o insectos (McCollum et al., 1993).

3.1.2 Madurez del fruto

El factor más importante que determina la calidad final del fruto es su madurez al tiempo de la cosecha, está también determinará el tiempo de almacenamiento. No obstante, las frutas inmaduras presentan mayor susceptibilidad a daños mecánicos o marchitamiento, por ende, su calidad se ve afectada severamente al momento de comercializarse. De este modo las frutas demasiado maduras tienden a volverse harinosas, blandas y con sabor insípido. Las frutas donde su recolección de temporada es demasiado temprano o tardía están más sujetas a los trastornos fisiológicos y su vida de almacenamiento se vuelve más corta que las cosechadas en la madurez adecuada (Brecht et al., 2020).

4. HONGOS FITOPATÓGENOS ASOCIADOS CON ENFERMEDADES EN FRUTÍCOLAS

4.1 *Colletotrichum gloeosporioides*

Es causante de pérdidas poscosecha a nivel mundial (Giblin et al., 2010), infecta a más de 1000 especies de cultivos tropicales y subtropicales (Feng et al., 2019). Solo en México se han reportado 46 especies, 28 de ellas identificadas a nivel morfológico y 18 a nivel molecular. *Colletotrichum truncatum y C. gloeosporioides* son las 2 especies principales en México afectando cultivos de chile, mango, limón papaya, etc., (Rojo et al., 2017).

Este fitopatógeno causa la enfermedad conocida como antracnosis. Las lesiones de antracnosis se pueden propagar antes, durante y después de la maduración del fruto, reduciendo así la calidad de anaquel (Giblin et al., 2010), también pude afectar el follaje, ramas y flores del árbol hospedero (Bally & Dillon, 2018).

La antracnosis producida por *C. gloeosporioides* se desarrolla en ecosistemas con alta humedad, lluvias frecuentes y temperaturas que oscilen dentro de 24 a 32° C (Kamle & Kumar, 2016).

4.1.1 Manera de infección

La infección surge cuando un conidio se adhiere en la superficie de la frutícola en su habitad natural para después penetrar en la capa exterior y germinar, en esta etapa el patógeno deja de crecer y permanece en reposo hasta que llega la maduración del fruto (Giblin et al., 2010).

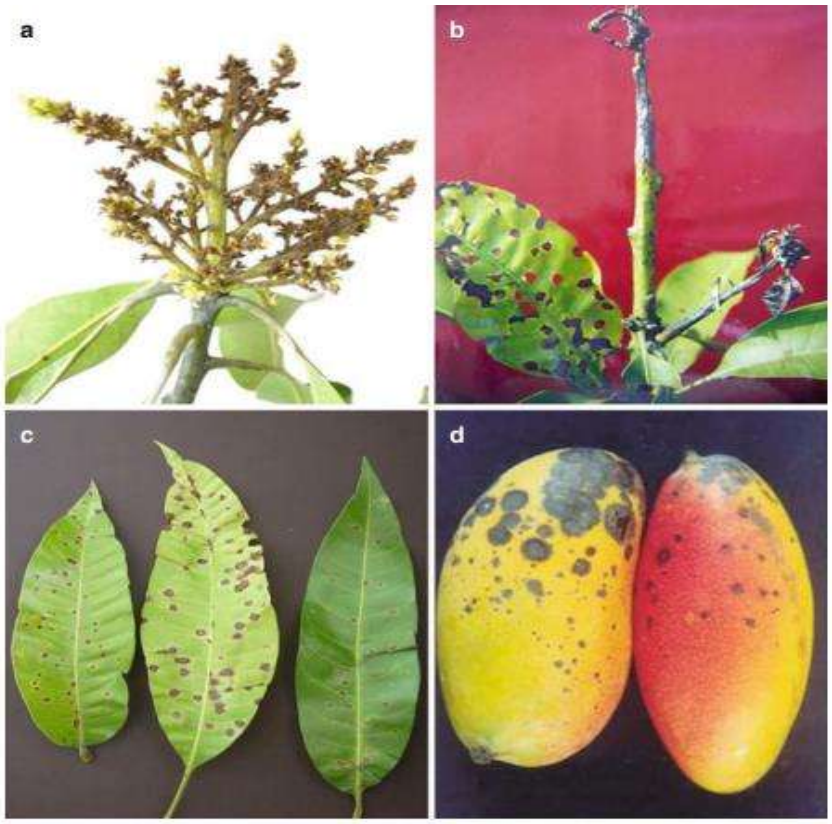

Figura 1. Síntomas y signos causados por *C. gloeosporioides* en *Mangifera indica* L. imagen tomada de Kamle and Kumar. (2016).

4.1.2 Morfología

C. gloeosporioides presenta conidios de forma ovoide con dimensiones de 13.56 – 14.24 X 4 – 4.02 µm.; micelios en forma radial, con borde entero u ondulado, por lo general la coloración es blanquecina con masas conidiales de color anaranjado en el centro de la colonia. También se caracteriza por la presencia de acérvulos en forma de disco que contienen setas, los conidios son elongados y origina conidios incoloros (Rojo et al., 2017).

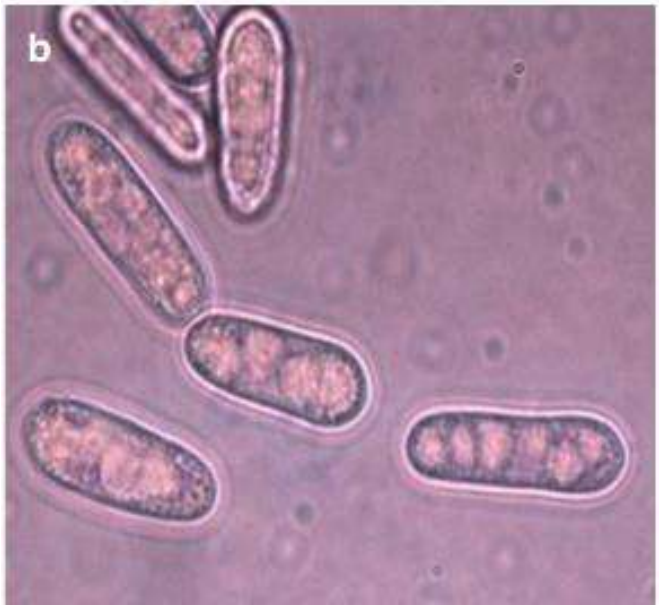

Figura 2. Conidios asexuales de *C. gloeosporioides* imagen tomada de Kamle and Kumar. (2016).

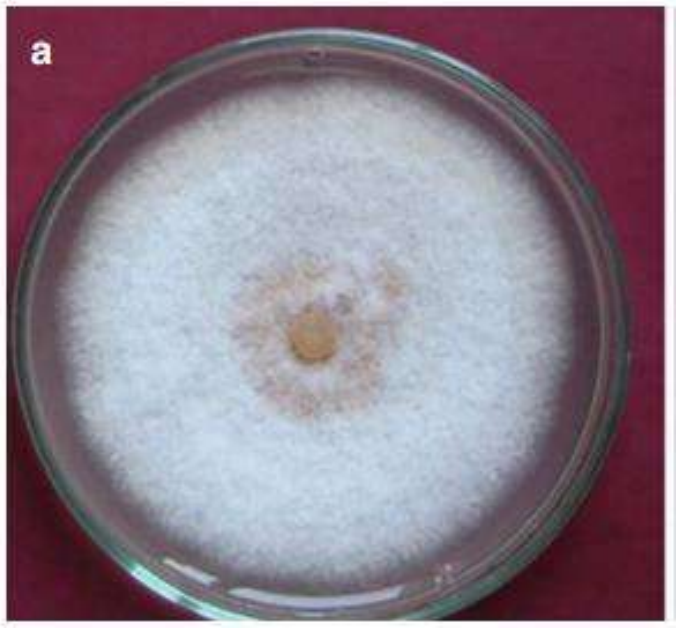

Figura 3. A) Morfología colonial de *C. gloeosporioides* en PDA imagen tomada de Kamle and Kumar. (2016).

4.1.3 Ciclo de vida

C. gloeosporioides crece a una temperatura de 24 a 32° C. Esta especie es extremadamente sensible a la humedad relativa. El ciclo de vida de *Colletotrichum* incluye una fase asexual y una sexual, esta última es la encargada de proporcionar la variabilidad genética y el estado asexual es el responsable de la dispersión del hongo (Kamle & Kumar, 2016). El género *Colletotrichum* abarca numerosas especies por ejemplo: *Colletotrichum magnum, Colletotrichum capsici, Colletotrichum gloeosporioides* por mencionar algunas, se han encontrado en cosecha de papaya, dichas especies parecen tener similitudes entre un 99 y 100% (Molina et al., 2017).

4.1.4 Control de *C. gloeosporioides*

El control de la enfermedad de la antracnosis generalmente se logra mediante la aplicación de fungicidas, como benomyl, carbendazim, mancozeb y prochloraz. Se ha empleado un uso mixto y rotativo de fungicidas con diferentes mecanismos de acción para retrasar el desarrollo de resistencia y adquirir una eficacia de control deseada contra las enfermedades de la antracnosis de las plantas. Sin embargo, estudios han demostrado que *C. gloeosporioides* desarrolla niveles medios a altos de resistencia contra benzinidazoles, ditiocarbamato y azoles (Feng et al., 2019).

4.2 *Fusarium oxysporum*

El género *Fusarium* es uno de los hongos más estudiados por su virulencia en plantas, así mismo, por ser productor de toxinas y más recientemente, como patógeno humano (Summerell et al., 2011).

Se trata de un género de hongos filamentosos, ampliamente distribuidos en el suelo, aire y plantas. Las especies de este género causan diversas enfermedades en las plantas hospedantes, como marchitez, pudrición y muerte regresiva (Guo et al., 2021).

Fusarium causa severos daños en los cultivos a nivel mundial, en el caso del mango causa la enfermedad de malformación, la cual es atribuida a varias especies incluyendo *F. mexicanum*, la cual fue descrita causando malformación en huertas de mango de la región centro occidente de México (Betancourt et al., 2012).

F. oxysporum es conocido también por producir micotoxinas cancerígenas en los alimentos y productos agrícolas, fumonisina es la toxina contaminante natural más abundante en los cereales (Srinivas et al., 2019).

4.2.1 Manera de infección

La infección inicia cuando se encuentra contaminada la semilla o el suelo, este patógeno sobrevive en el suelo durante varias décadas en estructuras de reposo llamadas clamidosporas, las cuales germinan en condiciones favorables para formar micelios, que a su vez producen microconidios, estas al estar en condiciones húmedas en el suelo ingresan a la planta a través de la raíz, heridas, lesiones o pinchazos causados por nematodos, dentro de la planta el micelio comienza a desarrollarse en la corteza de la raíz, llega a los xilemas a través de los hoyos y produce microconidios extendiéndose a la corona y el tallo a través del flujo de savia, también invade los vasos del xilema a través de los hoyo. El micelio y los conidios finalmente causan la obstrucción de los vasos del xilema, evitando la translocación de nutrientes y el movimiento ascendente del agua, como resultado, cierre de los estomas, marchitamiento de la planta y finalmente la muerte (Pandey et al., 2022).

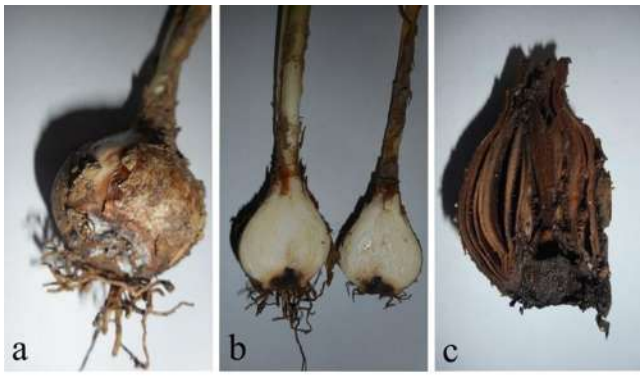

Figura 4. Bulbo de narciso infectado por *F. oxysporum* a) y b) bulbo infectado c) bulbo podrido, tomado de Vasić et al. (2021).

4.2.2 Morfología

Vasić et al. (2021) describe en su investigación aislados de color rosa claro a violeta oscuro, colonias con micelio con textura fibrosa o algodonosa. En dicho análisis reportó tres tipos de esporas: macroconidios con dimensiones de 35.01 x 4.64 – 18.97 x 3.61 µm, microconidios unicelulares ovaladas de 9.44 x 3.95 – 5.71 x 4.45 µm y clamidosporas 2.80 – 12.10 µm.

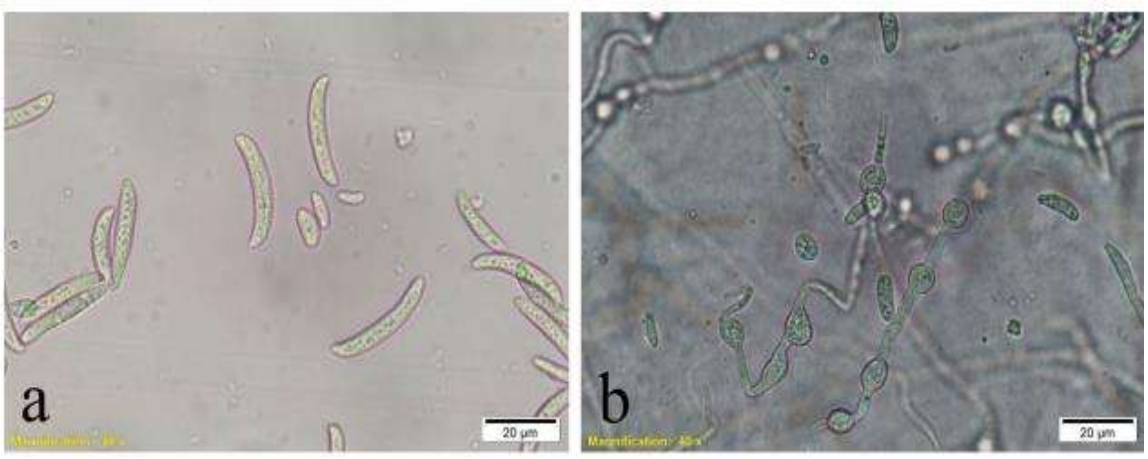

Figura 5. a) morfología de macroconidios y micoconidios, b) clamidosporas, tomado de Vasić et al. (2021).

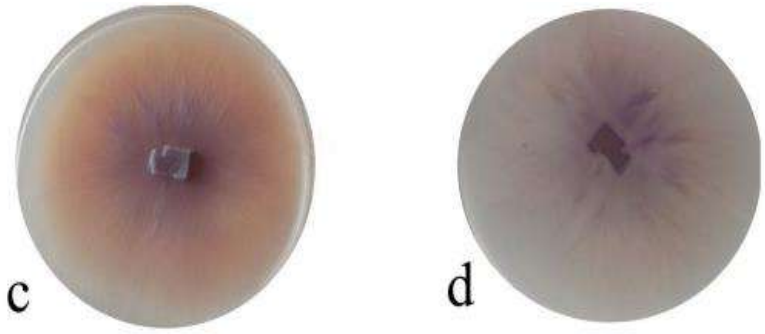

Figura 6. *F. oxysporum* en medio PDA c) vista superior d) vista inversa, tomado de Vasić et al. (2021).

4.2.3 Ciclo de vida

F. oxysporum se desarrolla en ambientes cálidos normalmente en temperaturas que oscilen entre los 30° C. La infección puede suceder también durante el almacenamiento, por ello es importante mantener la zona de almacenaje con temperaturas bajas de entre 3 y 17° C (Vasić et al., 2021).

4.2.4 Control de *F. oxysporum*

Hasta la fecha, no se ha identificado ni empleado con éxito ningún método de control, esto se complica aún más por su naturaleza que se transmite en el suelo y su capacidad para producir clamidosporas persistentes que contaminan el suelo durante décadas (Maryani et al., 2019). Sin embargo, se realizan aplicaciones con fungicidas sintéticos, siendo los más eficaces el benlate (benomilo) y carbendazim (bencimidazol).

Aún se desconocen los mecanismos moleculares implicados en la patogenia y los posibles factores de patogenicidad / virulencia. Para el desarrollo de estrategias efectivas de manejo de enfermedades, se requiere un conocimiento profundo de la biología molecular del patógeno, su patogenicidad y su interacción con la planta huésped (Pandey et al., 2022)**.**

4.3 *Botrytis cinerea*

Se clasifica como un hongo anamórfico perteneciente a la familia *Sclerotiniaceae,* (Notte et al., 2021). Se distingue por su amplia distribución geográfica y amplia gama de hospederos. En la industria hortícola tiene un gran impacto económico por ser uno de los hongos causante de enfermedades como el moho gris, el tizón de las hojas, flores y la pudrición del tallo (Hao et al., 2021).

A diferencia de otros géneros, *Botrytis* tiene un amplio espectro de huéspedes, enferma a más de 1,400 especies de plantas Dicotiledóneas, por ende las pérdidas suelen ser devastadoras y ocurren en vegetales como lechuga, tomate, frijol y en frutos pequeños como mora, uva, fresa, por mencionar algunas (Roca et al., 2021). A diferencia de otros patógenos, *B. cinerea* puede desarrollarse durante el

almacenamiento en frío en frutas como el kiwi, manzana y peras dando lugar a la pudrición poscosecha (Samaras et al., 2021).

4.3.1 Manera de infección

Su interacción con las plantas comienza al unirse un conidio con la superficie hospedera para continuar con la germinación del conidio hasta formar células tubulares o hifas (Aguayo et al., 2011). La germinación de los conidios depende de factores como la disponibilidad de nutrientes, humedad alta, la presencia de gases como etileno, los cuales inducen la germinación. *B. cinerea* puede penetrar los tejidos a través de heridas y estomas o directamente a tejidos sanos, atacando órganos como flores, frutos, tallos y hojas, hasta inducir la muerte celular experimentando así, un crecimiento vigoroso, propagando la enfermedad, la esporulación fúngica y la producción de nuevos conidios (Roca et al., 2021).

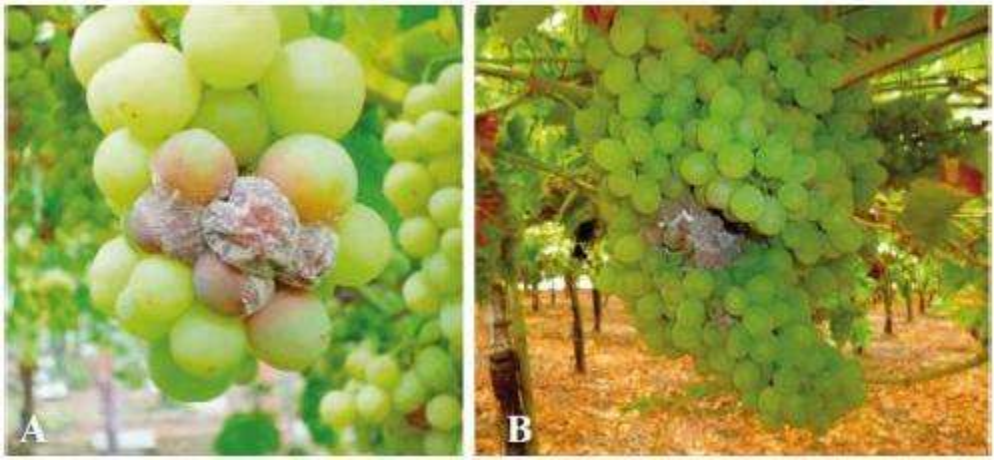

Figura 7. Moho gris en uva causado por *B. cinerea*
tomado de Latorre et al. (2015).

4.3.2 Morfología

En PDA se desarrollan colonias de color blanco grisáceo, presenta crecimiento micelial filamentoso, hialino, ramificado y/o septado con pared celular prominente, también se puede encontrar la presencia de conidios multinucleares de 3 – 6 núcleos, los cuales son unicelulares, hialinos, lisos, ovoides de una longitud que va 10 – 12 x 8 – 10 µm (Latorre et al., 2015).

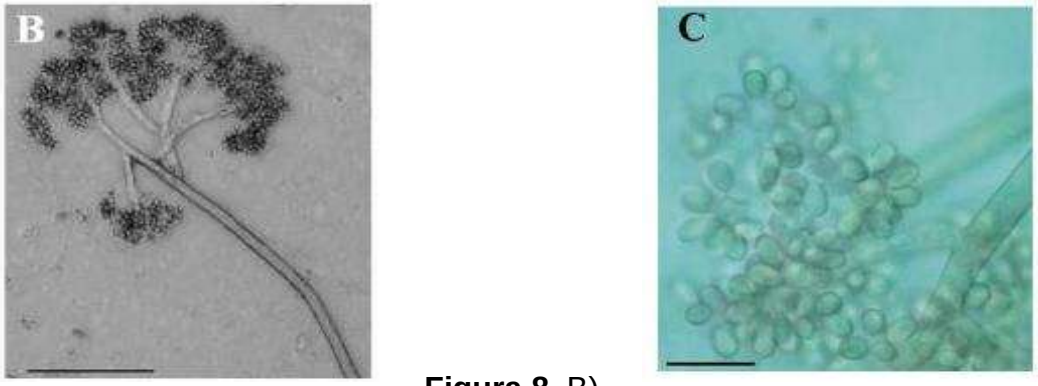

Figura 8. B) conidióforos, C) conidios tomado de Latorre et al. (2015).

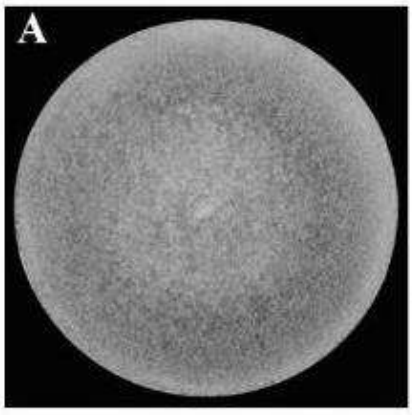

Figura 9. *B. cinerea* en PDA tomado de Latorre et al. (2015).

4.3.3 Ciclo de vida

B. cinerea puede sobrevivir a partir de los restos del hospedero nutriéndose del mismo, sin embargo, su propagación incrementa en lugares con alta humedad, en un rango de temperatura entre 0 – 25° C (Escarraga, 2021).

4.3.4 Control de *B. cinerea*

El control del moho gris depende de una estrategia de gestión integrada, donde se incluye la eliminación de las partes enfermas, el riego y la fertilización adecuada, así como la regulación de la humedad y aplicación de fungicidas. Se han registrado alrededor de 474 fungicidas comercializados para el control del moho gris en China. La mayoría de estos fungicidas registrados son carbamatos de metilbencimidazol, dicarboximidas, anilinopirimidinas, fenilpirroles, inhibidores externos de quinona e inhibidores de la enzima succinato deshidrogenasa. Sin embargo, debido a su diversidad de hospederos, corto ciclo de vida, reproducción prolífica y alta variabilidad genética, *B. cinerea* ha sido declarado como un patógeno vegetal de alto riesgo en el desarrollo de resistencia a los fungicidas en varios países (Shao et al., 2020).

4.4 *Alternaria alternata*

Alternaria spp, constituye un género importante de hongos fitopatógenos que causan cuatro enfermedades distintas en cítricos; mancha marrón de la mandarina, mancha foliar del limón rugoso, la mancha foliar de la lima mexicana y la pudrición por *Alternaria (*Camiletti et al., 2022*).*

A. Alternata es la especie más reportada dentro del género *Alternaria,* ya que tiene la capacidad de infectar a varios cultivos, causando la infección “mancha foliar”, entre otras enfermedades en más de 380 especies de hospederos (Chen et al., 2018).

Se trata de un hongo filamentoso causante de la mancha y el tizón de la hoja. Debido a las micotoxinas que produce, llega a causar daños severos a cultivos como: repollo, coliflor, brócoli, frijol, algodón, cítricos y el tomate (Wang et al., 2021).

4.4.1 Manera de infección

Mancha marrón: inicia afectando la parte aérea de las plantas hospederas, los síntomas se manifiestan como pequeñas lesiones circulares color marrón, a medida que avanza la enfermedad, aumenta la dimensión de la mancha, virando a una tonalidad marrón oscuro hasta llegar al gris oscuro. Conforme progresa la enfermedad, las hojas se marchitan y caen; cabe mencionar que existe una mayor susceptibilidad en las hojas con mayor vida que las más jóvenes. Este hongo llega a afectar tallos, hojas, semillas y frutos, en estos últimos puede prolongarse hasta la vida en anaquel (Nagrale et al., 2016).

Pudrición: ocurre principalmente como pudrición del extremo del tallo durante el almacenamiento, el hongo coloniza la columela central de la fruta provocando una descomposición interna, se muestran síntomas externos como manchas negras en el extremo estilar de los frutos. Sin embargo, las infecciones se establecen principalmente en el campo a través de heridas o grietas causadas por quemaduras solares. También puede desarrollarse a partir de infecciones latentes en botones que comienzan a crecer activamente cuando la fruta madura. Los altos niveles de infección en el huerto pueden provocar un cambio de color prematuro y una caída excesiva de la fruta antes de la cosecha (Camiletti et al., 2022).



Figura 10. A) mancha negra en granada causada por *A. alternata.* B) mancha negra en hoja de granada asociada a *A. alternata* tomado de Ezra et al. (2010).

4.4.2 Morfología

Chen et al. (2018) indica la formación de colonias circulares con pigmentación verde olivo oscuro, con un tamaño 6.8 – 35.1 µm de longitud y 3.1 – 12.9 µm de ancho, así como la presencia de micelio aéreo blanco grisáceo, conidios con una coloración que va desde el marrón claro a marrón oscuro.

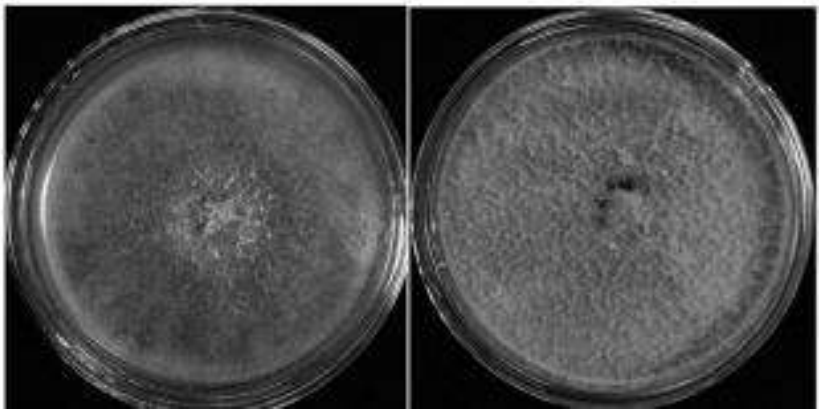

Figura 11. *A. alternata* en medio PDA aislado de la planta de té tomado de Chen et al. (2018).



Figura 12. Estructuras microscópicas de conidios
tomado de Chen et al. (2018).

4.4.3 Ciclo de vida

Se desarrollan en condiciones altas de humedad, puede sobrevivir libre en la atmosfera y en superficies como el agua, suelo, restos de plantas y campos agrícolas (Nagrale et al., 2016).

4.4.4 Control de *Alternaria alternata*

Hasta el momento, los tratamientos con fungicidas comúnmente utilizados para controlar otras enfermedades poscosecha pueden proporcionar control parcial de la pudrición por *Alternaria spp.* La mancha marrón por *Alternaria alternata*, se ha controlado con éxito en Florida con varios fungicidas como: inhibidores externos de quinonas, inhibidores de la desmetilación, y los inhibidores de la succinato deshidrogenasa. Sin embargo, está documentado que *Alternaria spp* puede desarrollar resistencia a estos principios activos (Camiletti et al., 2022).

4.5 *Pestalotia sp*

Michelia encontró esta enfermedad en 1884 y Berry- Hill la reporto en 1934 atacando frutos de guayaba en México (Farfán et al., 2006). Basado en las formas conidiales, (Steyaert, 1949) dividió *Pestalotia sp* como un género monotípico, en tres géneros, identificándolos con los nombres de *Pestalotia, Pestalotiopsis, Truncatella,* estos últimos dos no tratados en el texto. Aunque diversos autores a lo largo de la historia no aceptaron dicha división, actualmente se sigue trabajando en la reasignación de 600 especies en el género que necesitan ser reasignadas a *Monochaetia, Pestalotia o Truncatella* (Maharachchikumbura et al., 2014).

Pestalotia sp se asocia con problemas fitosanitarios relevantes, su aparición ha sido relacionada con densidades de siembra, factores climáticos favorables y su capacidad virulenta (Farfán et al., 2006).

Pestalotia sp causa manchas foliares en frutas como la fresa, esta enfermedad es responsable de la perdida de importantes cultivos. Se ha reportado su existencia en diferentes partes del mundo principalmente China, México, Brasil, India (Rajnish & Gautam, 2022).

4.5.1 Manera de infección

Pestalotia sp es un patógeno que se propaga a través de heridas en hojas, producidas por fuertes heladas o daños mecánicos. Este hongo puede mantenerse en tejidos muertos, los cultivos pueden verse dañados por este patógeno en cualquier momento, sin embargo, es más dañino en plantaciones que superan los cinco años de vida. (Escalante et al., 2010).

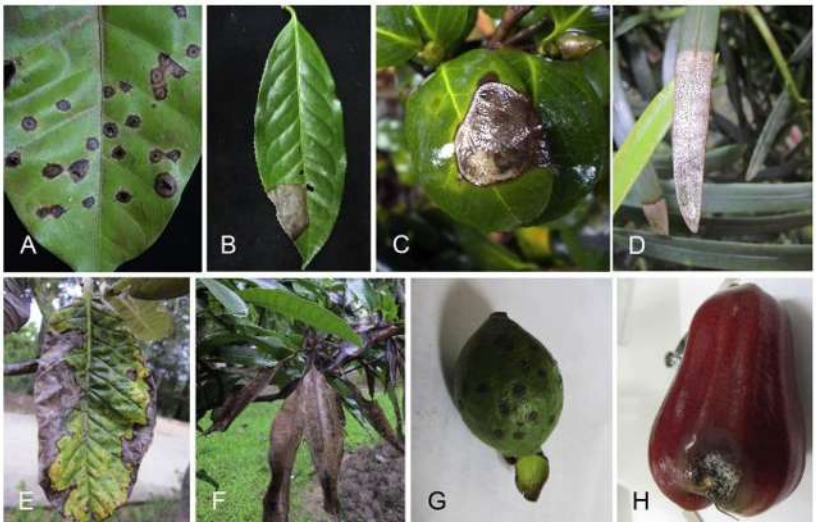

Figura 13. tomada de Maharachchikumbura et al. (2014).

4.5.2 Morfología

Se caracteriza por conidios de 6 células con 4 células medianas de color marrón, células terminales hialinas distoseptadas y apéndices simples o ramificados que surgen del ápice de la célula apical (Maharachchikumbura et al., 2014).

En cultivos, las colonias son color blanco con textura algodonosa al principio, después presentan puntos negros de esporodoquios. Sin embargo, en cultivos los conidios no siempre presentan el mismo número de septos (García et al., 2012).

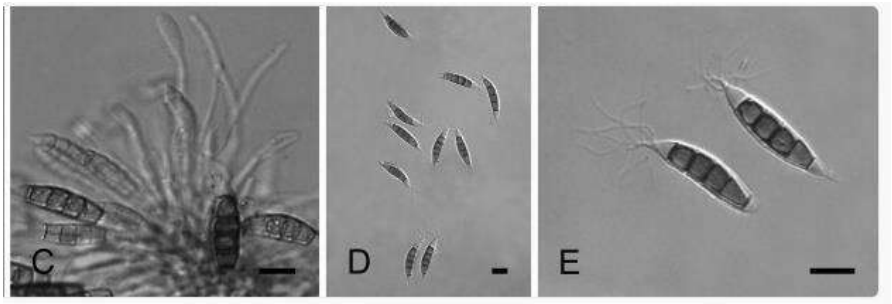

Figura 14. *Pestalotia sp* C) Células conidios tomado de Maharachchikumbura et al. (2014).

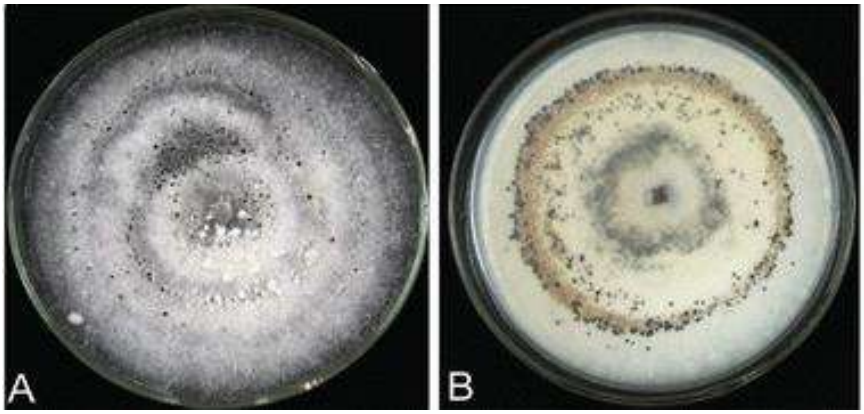

Figura 15. *Pestalotia sp.* En medio PDA imagen tomada de Wall et al. (2015).

4.5.3 Ciclo de vida

Se desarrolla a temperaturas menores a 25° C, climas húmedos con alta intensidad de lluvia relativa mayor al 80% (Godoy, 2018). Este fitopatógeno durante la sequía tienen un periodo de inactividad, pero continúan su desarrollo como saprofitos sobre los restos vegetales (Escalante et al., 2010).

4.5.4 Control de *Pestalotia sp*

Godoy et al. (2018) encontró resultados positivos en la inhibición del género *Pestalotia sp* empleando tratamiento con *Trichoderma sp, Bacillus subtillis.* Rodríguez (1975) manifiesta que *Pestalotia sp* reduce considerablemente la incidencia de la enfermedad empleando hidróxido cúprico (como se citó en Farfán et al., 2006). Por su parte (Rajnish & Gautam, 2022) reportó resultados favorables en pruebas *in vitro* empleando fungicidas como: Bavistin, Diathane M-45, Biltox, Mean concluyendo que la inhibición en estos fue del 100%.

5. ESTRATEGIAS PARA EL CONTROL DE FITOPATÓGENOS

5.1 Métodos de control

Los patógenos fúngicos juegan un papel importante en la calidad, rentabilidad y cantidad de producción, por esta razón es necesario planificar estrategias de control.

El método de control se describe como todo sistema natural o artificial que da como resultado la prevención, represión, contención, destrucción o eliminación de una plaga que pueda generar daños a frutos y plantas, dichos métodos se pueden clasificar según su naturaleza de la siguiente manera: métodos culturales, físicos, químicos y biológicos (Cisneros, 1995).

5.1.2 Control cultural

Esta técnica data de la antigüedad, consta de realizar actividades y prácticas ordinarias que son empleadas con el objetivo de controlar plagas, creando condiciones poco favorables para que el fitopatógeno no tenga contacto alguno con algún posible hospedero. Dichas actividades incluyen la selección de tiempo de siembra y cosecha, la preparación de suelo que abarca la labranza, riego y fertilizante, entre muchas más. También se puede encontrar la rotación de cultivo, cultivos intercalados, cultivos trampa y cultivos complementarios. Al implementar esta metodología los resultados son favorables para la integridad, estabilidad y sostenibilidad de los cultivos (Alyokhin et al., 2022).

5.1.3 Control físico

Por su parte el control físico se basa en la aplicación de agentes físicos, por ejemplo: la temperatura, humedad, insolación, fotoperiodismo y radiaciones electromagnéticas, en intensidades que resulten letales para la plaga. Los patógenos se desarrollan bajo ciertos parámetros y tomando en cuenta la especie, así mismo, los límites de intensidad cambian según el microorganismo existente y su estado de desarrollo. Sin embargo, el manejo efectivo de los factores físicos, como la temperatura, humedad y radiaciones electromagnéticas, sólo es posible implementarlas en ambientes cerrados, bajo esas condiciones se puede combatir

plagas de frutas, hortalizas cosechadas y plagas de productos almacenados (Cisneros, 1995).

5.1.4 Control químico

El control químico es la represión y/o prevención del desarrollo de plagas mediante el uso de sustancias químicas. Dichos compuestos se basan en la protección del cultivo, se pueden encontrar en el mercado una gran variedad de compuestos químicos, por ejemplo: pesticidas, plaguicidas, insecticidas, herbicidas, fungicidas, entre otros. No obstante, los insecticidas son sustancias toxicas y volátiles que se introducen al ecosistema agrícola, llegando a afectar a todo tipo de microorganismos, en particular, a los animales. El daño varía según las características del insecticida utilizado, dosis y forma de aplicación (Cisneros, 1995).

5.1.5 Control biológico

Consiste en la aplicación de microorganismos naturales que tengan vida libre, microorganismos activos en raíces, suelos y ambientes foliares. Este método resulta eficiente y ecológico para eliminar patógenos en la agricultura. Sin embargo, no todos los microorganismos son aptos para este tipo de práctica. Se deben utilizar organismos capaces de una reproducción rápida y fácil, de la misma manera, su crecimiento debe ser rápido, deben tener fácil adaptabilidad y alta supervivencia, por último y la más importante, poseer capacidad de combatir a los diferentes agentes patógenos. De los más utilizados en este tipo de práctica destacan: virus, hongos y bacterias, de estas últimas existen dos tipos, en el primer caso están las bacterias con capacidad de reducir la gravedad de las enfermedades y por ultimo las bacterias antagónicas contra patógenos (Viera et al., 2020).

5.2 Control biológico mediante mecanismos de antagonismo

5.2.1 Microorganismos antagonistas

Las bacterias, levaduras y hongos tienen una capacidad antagonista de ejercer un efecto de control biológico sobre un mundo diverso de patógenos. Durante años se han utilizado estos microorganismos para controlar diversas enfermedades en frutos y vegetales. Sin embargo, no todos los microorganismos son aptos ya que se deben

considerar algunas características como: estabilidad genética, efectividad a bajas concentraciones, no exigente en requerimiento nutricional, facilidad de reproducción, capaz de sobrevivir a los cambios climáticos, efectividad para un amplio rango de fitopatógenos en distintos frutos y hortalizas, de igual manera, que dicho microorganismo sea capaz de sobrevivir en formulaciones durante periodos largos, que su aplicación sea fácil y no produzca metabolitos secundarios dañinos para la salud, también debe ser resistente a fungicidas y compatible diversos métodos de prevención (Hernández et al., 2007).

5.2.2 Microorganismos antagonistas durante la poscosecha

Existen dos formas para controlar las enfermedades poscosecha a través de microorganismos antagonistas, la primera consiste en la estimulación y manejo de los microorganismos antagonistas presentes sobre la superficie del fruto y la segunda es mediante la introducción artificial de antagonistas contra fitopatógenos. Siendo esta última la más utilizada durante el almacenamiento de los productos (Hernández et al., 2007).

5.2.3 Mecanismos de acción

Se han descrito varios mecanismos de acción para controlar el desarrollo de patógenos, estos involucran la antibiosis, producción de enzimas líticas, parasitismo, competencia por los nutrientes y espacio e inducción de resistencia. Es difícil determinar los mecanismos de acción que intervienen en la interacción antagonista y patógeno, cabe mencionar que los antagonistas por lo general tienen varios modos de acción y la multiplicidad de estos es una característica importante para su selección para el control biológico, al poseer varios modos de acción reduce el riego de que los patógenos desarrollen resistencia (Fernández, 2001).

5.2.4 Antibiosis

Está relacionada con la producción y liberación de varios compuestos para retardar o inhibir el crecimiento del microrganismo, en este caso la acción de una sustancia producida por un organismo inhibe el crecimiento o reduce la actividad metabólica de otro organismo (Gottlieb & Shaw, 1970).

5.2.5 Lisis

Consiste en la degradación enzimática total o parcial de un organismo, los microorganismos biocontroladores tienen la capacidad de sintetizar enzimas líticas como quitinasa, β-1,3- glucanasa, peroxidasas, proteasas y lipasas. La quitinasa β-1,3 glucanasa degradan la pared celular de los hongos causando lisis celular en dichos organismos, a su vez libera oligómeros de quitina y glucano los cuales funcionan como elicitores de las plantas (Pedraza et al., 2020).

5.2.6 Parasitismo

Es un tipo de asociación biológica entre organismos de diferentes especies, se da por la acción de un microorganismo parasito donde obtiene beneficios de dicha relación y vive a expensas del otro, (huésped) causándole daño (Olalla Herbosa & Tercero Gutiérrez, 2011). En este mecanismo están implicadas enzimas extracelulares: quitinasa, celulosa, β-1,3-glucanasa, y proteasa estas rompen las estructuras de los hongos parasitados (Fernández, 2001).

5.2.7 Competencia por nutrientes y espacio

Es un mecanismo desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento, siempre y cuando la utilización de este reduzca la cantidad disponible para los demás. Para que se pueda ejercer una competencia debe presentar escasez o limitación de dicho elemento, si hay exceso no será posible la competencia (Fernández, 2001).

5.2.8 Inducción de resistencia

Esta técnica consiste en la activación de un sistema de defensa bioquímico que incluye fenilalanina amonio-liasa, peroxidasa, polifenoloxidasa, quitinasa y β-1,3-glucanasa para la resistencia a enfermedades en plantas (Soto et al., 2018). Las plantas son estimuladas de manera biológica o química para resistir a futuros ataques por plagas, se lleva a cabo mediante la activación de mecanismos de defensa, no solo de manera local si no en diversas áreas de la planta distantes al sitio donde ha sido estimulada, las plantas activan una respuesta inmunitaria multifacética que las protege del ataque de microrganismos patógenos (Pedraza et al., 2020).

5.3 Bacterias

5.3.1 Bacterias endófitas

Las poblaciones bacterianas son típicas para diferentes órganos vegetales como hojas, raíces y semillas, puede ser que se encuentren en la superficie o dentro del tejido vegetal. Microorganismos que colonizan el tejido vegetal sin causar síntomas de enfermedad se definen como endófitos. Las rizobacterias son las más estudiadas asociadas a plantas, estas bacterias a menudo tienen efectos positivos en el crecimiento de las plantas y podrían inhibir la colonización por microorganismos patógenos, por ellos dichas bacterias se aplican en las semillas artificialmente (Cankar et al., 2005).

5.3.2 Mecanismo de acción de bacterias contra fitopatógenos

Las BAL juegan un papel importante en la conservación de los alimentos, ya que son productoras de ácido láctico y acético, así como otras sustancias inhibidoras tales como diacetilo, peróxido de hidrógeno, reuterina (β-hidroxipropionaldehído) y bacteriocinas siendo estas polipéptidos o proteínas (Stiles, 1996). Las bacterias también compiten por espacio y nutrientes, así como en la alteración fisiológica de la planta hospedera (Cotes, 2018).

Bacteriocinas como la nisina ayudan a la biopreservación de alimentos, ya que las bacterias al producir metabolitos conservan los alimentos gracias a la producción de metabolitos (Stiles, 1996).

5.3.3 Bacterias ácido lácticas

Las BAL pertenecen al *Phylum firmicutes* que comprende alrededor de 20 géneros: *Lactococcus, Lactobacillus, Streptococcus, Leuconostoc, Aerococcus, Carnobacterium, Enterococcus, Oenococcus, Tetragenooccus, Vagococcus* y *Weisella* son los principales miembros de las BAL, siendo *Lactobacillus* el más grande de estos géneros (Parra, 2010).

Estos microorganismos se hacen presentes en la alimentación del ser humano. Desde hace mucho tiempo, las bacterias prebióticas se han reconocido como

microorganismos benéficos, ya que ayudan a mitigar el desarrollo de microorganismos patógenos (Velázquez et al., 2018).

Al estar distribuidas ampliamente en diferentes ecosistemas y por los beneficios que aportan son utilizadas en la industria alimentaria para la producción comercial de alimentos fermentados, bebidas alcohólicas, para la utilización en vegetales y otros usos. Su importancia no solo proviene por su habilidad para acidificar los alimentos e impedir el desarrollo de esporas, sino también por su aportación en sabor, textura y olor a los alimentos (Parra, 2010).

Las BAL son ácidos tolerantes, consiguiendo crecer algunas en valores de pH bajos como 3.2, otras en valores tan altos como 9.6, y la mayoría crece en pH entre 4 y 4.5. Estas características le permiten sobrevivir naturalmente en medios donde otras bacterias no lograrían la supervivencia (Morocho & Leiva, 2019). A pesar de su metabolismo anaerobio, actúan como anaerobias tolerantes y en los medios de cultivo solidos pueden formar colonias en presencia de aire (Parra, 2010). Además, las BAL pueden controlar la proliferación de hongos debido a la adsorción de micotoxinas, al secretar compuestos antimicrobianos garantizan la vida útil de las hortalizas y mejoran la seguridad alimentaria. Las BAL reducen significativamente la degradación e inhiben la producción de micotoxinas fúngicas (Bangar et al., 2021).

5.3.4 Clasificación de bacterias ácido lácticas

La clasificación de las BAL en diferentes géneros se basa en gran medida en la morfología, modo de fermentación de la glucosa, crecimiento a diferentes temperaturas, configuración del ácido láctico producido, capacidad de crecer a altas concentraciones de sal y tolerancia ácida o alcalina. Asimismo, la composición de ácidos grasos y los constituyentes de su pared celular (Axelsson, 2004).

Según la fermentación de la lactosa, se clasifican en homofermentativas (produce solo ácido láctico) y heterofermentativas (produce ácido láctico y otras sustancias) y según la temperatura de crecimiento en mesófilos y termófilos (Parra, 2010).

5.3.5 Taxonomía y características

Son cocos y bacilos de una longitud variable 0.5 µm – 0.8 µm de grosor. Se trata de un grupo de bacterias fisiológicamente uniforme, de pared Gram positiva, catalasa negativa, anaerobias facultativas y no formadoras de esporas. A pesar de tener metabolismo anaerobio, son anaerobios tolerantes y en los medios de cultivo sóido forman colonias en presencia de aire. Existe una temperatura óptima a la cual la velocidad de crecimiento es más alta y depende de las características del microorganismo utilizado, así como las condiciones ambientales (Parra, 2010).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Lugar de desarrollo

El presente estudio fue de tipo experimental, se llevó a cabo en el laboratorio 07 de Fitopatología en las instalaciones del Centro de Innovación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán, A.C. (CIDAM) en la ciudad de Morelia, Michoacán, durante el periodo julio 2021- marzo 2022.

6.1.2 Material biológico

Las BAL endófitas se aislaron a partir de frutos de mango 'Ataulfo' (*Mangifera indica* L.) en su madurez comercial, adquiridos en Morelia, Michoacán., México.

6.1.3 Materiales de laboratorio

- Incubadora (VWR 1.4 Symphony)
- Autoclave (SM-301 YAMATO)
- Balanza analítica (PR124 OHAUS)
- Campana de flujo laminar (A2 Labconco)
- Matraz Erlenmeyer
- Toallas de papel
- Asas microbiológicas
- Parafilm®
- Placas Petri
- Tween 80

7. DESARROLLO EXPERIMENTAL

7.1 Preparación de medios de cultivo

7.1.1 Caldo Man, Rogosa y Sharpe (MRS)

51.0 g de MRS broth se disolvieron en 1 L de agua destilada y se adicionó 1 mL de Tween 80. Después de haberse disuelto el medio, se llevó a esterilización en autoclave a una temperatura de 121° C durante 15 min.



Figura 16. Caldo MRS.

7.1.2 Agar MRS

Se disolvieron 61.15 g de Agar MRS en 1 L de agua destilada añadiendo 1 mL de Tween 80. Posteriormente, se llevó a ebullición con agitación constante durante 1 min hasta tener una disolución completa, se esterilizo en autoclave a 121° C durante 15 min, al finalizar se dejó atemperar a 45° C dentro de la campana de flujo laminar se realizó el vaciado en cajas Petri, para su posterior uso.

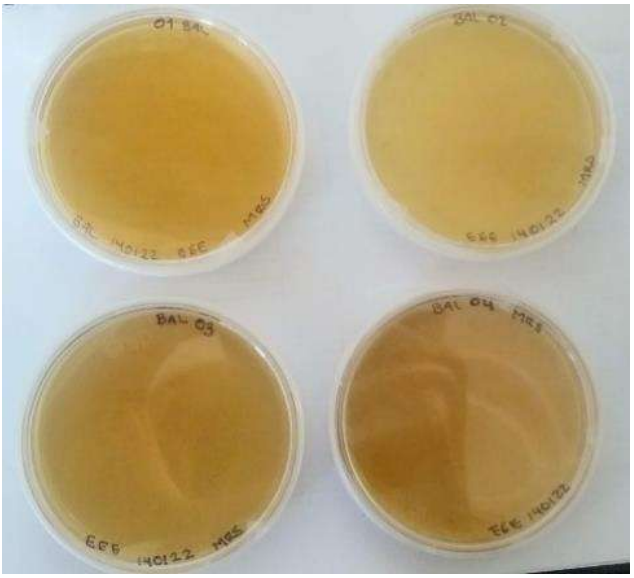

Figura 17. Cajas Petri con agar MRS.

7.1.3 Agar de dextrosa y papa (PDA)

Para su preparación se emplearon 39 g de PDA, los cuales se disolvieron en 1 L de agua destilada. Se llevó a ebullición por 1 min con agitación constante. Se esterilizó en autoclave con las condiciones de 121° C durante 15 min esto, se dejó atemperar a 45° C para poder realizar el vaciado en caja Petri con ayuda de campana de flujo laminar previamente desinfectada.

.



Figura 18. Agar de dextrosa y papa.

7.1.4 Agar PDA al 7%

Se añadieron 19.2 g de PDA en 1 L de agua destilada más 20 g de glucosa. Se mantuvo en ebullición con agitación constante durante 1 min. Se esterilizó en autoclave a 121° C por 15 min, se dejó atemperar a 45° C para su posterior uso.

7.2 Aislamiento de bacterias ácido lácticas endófitas de frutos de mango

7.2.1 Desinfección superficial de los frutos

Se realizó un proceso de desinfección superficial o lavado individual de cada muestra de mango 'Ataulfo', como refiere García et al. (2008) con algunas modificaciones, introduciendo el fruto en etanol al 70% por 30 s, pasado ese tiempo se sumergió en una solución de hipoclorito de sodio al 2% (2 min), seguido de un enjuague con agua destilada estéril y un secado con papel estéril. Más adelante con ayuda del equipo ULTRA – TURRAX modelo T 50 basic se homogeneizó cada pieza por separado utilizando únicamente la pulpa y piel del mango hasta conseguir una

consistencia de puré, el cual se depositó en bolsas de plástico debidamente identificado como:

- Aislado 1 fruto amarillo
- Aislado 2 fruto verde amarillo
- Aislado 3 fruto verde

7.2.2 Crecimiento de las BAL

Se desinfectó la campana de bioseguridad con etanol al 70% para evitar la proliferación de microorganismos, para realizar el vaciado e inoculación del puré fue indispensable el uso de mecheros, para asegurar que el área estuviera totalmente libre de contaminación.

Posteriormente, se utilizaron 3 matraces Erlenmeyer adicionados con 100 mL de caldo MRS en su interior, estéril y debidamente identificados con la numeración 1, 2 y 3, mismos donde se les adicionó 10 g de puré del aislado 1, aislado 2 y aislado 3, respectivamente. Cabe mencionar que el caldo MRS se mantuvo a una temperatura de 37° C durante el proceso de inoculación, esto con la finalidad de adecuar el medio para el desarrollo de BAL. De igual manera los matraces inoculados se mantuvieron en incubadora a 37° C por 48 h, con agitación lenta y bajo observación para registrar la presencia de precipitación en las muestras, como se ilustra en la figura 19, ya que este aspecto denotaría la presencia de crecimiento de BAL.

De los aislados de puré utilizados en el experimental únicamente mostró presencia de BAL el aislado 3 (fruto verde), como se observa en la figura 19, misma con la que se continuó el trabajo.

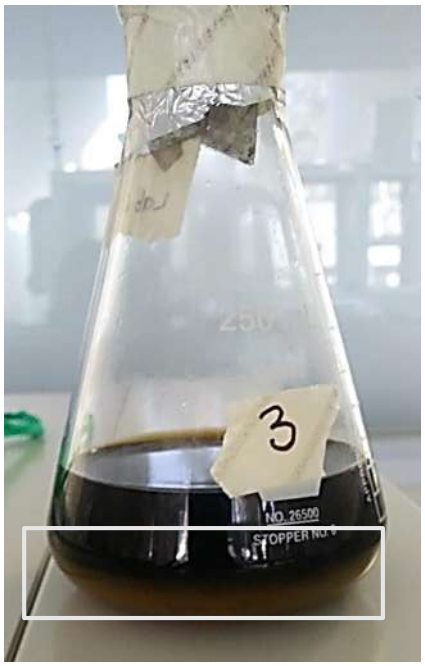

Figura 19. Aislado 3. Presencia de BAL en caldo MRS.

7.2.3 Selección y/o purificación de colonias BAL

A partir del precipitado que presentó el aislado 3, se tomaron alícuotas de 100 µL que se inocularon en cajas Petri enriquecidas con agar MRS. Se incubaron a una temperatura de 37° C durante 48 h.

Trascurridas las 48 h de inoculación, se observó la presencia de colonias de distintos tamaños como se muestra en la figura 20.

Las bacterias aisladas fueron purificadas mediante resiembras sucesivas por el método de estría sencilla a condiciones de 37° C por 48 h. Para realizar la purificación se tomó en cuenta el tamaño de las colonias agrupándolas en chicas, medianas y grandes.

7.2.4 Conservación de los aislados BAL

Las cepas aisladas fueron conservadas en caldo MRS, suplementado con glicerol en viales para crio – preservación y se conservaron a una temperatura de -20° C. Antes de cada ensayo las cepas fueron incubadas en su medio óptimo a 37° C por 48 h, para reactivarlas.



Figura 20. Bacterias ácido lácticas en agar-MRS.

8. HONGOS FITOPATÓGENOS SOMETIDOS A EVALUACIÓN

Los hongos utilizados en este estudio fueron *C. gloeosporioides, F. oxysporum, A. alternata, B. cinerea* y *Pestalotia sp*. Estos hongos fueron proporcionados por el laboratorio de Fitopatología del Centro de Innovación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán, A.C. (CIDAM). Cada hongo se cultivó periódicamente en cajas Petri en medio PDA.

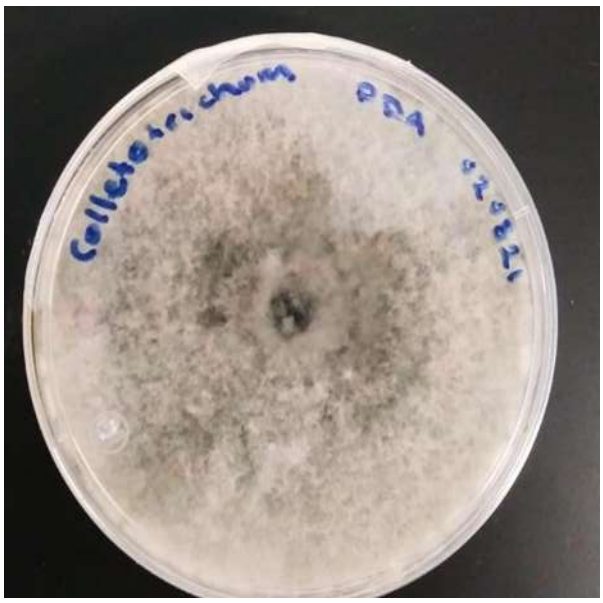

Figura 21. *C. gloeosporioides* en PDA proveniente de aguacate.



Figura 22. *F. oxysporum* en PDA proveniente de jitomate.

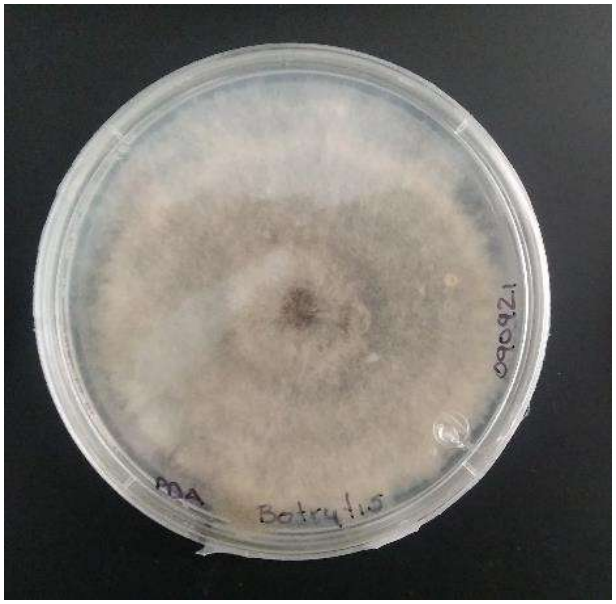

Figura 23. *B. cinerea* en PDA proveniente de fresa.

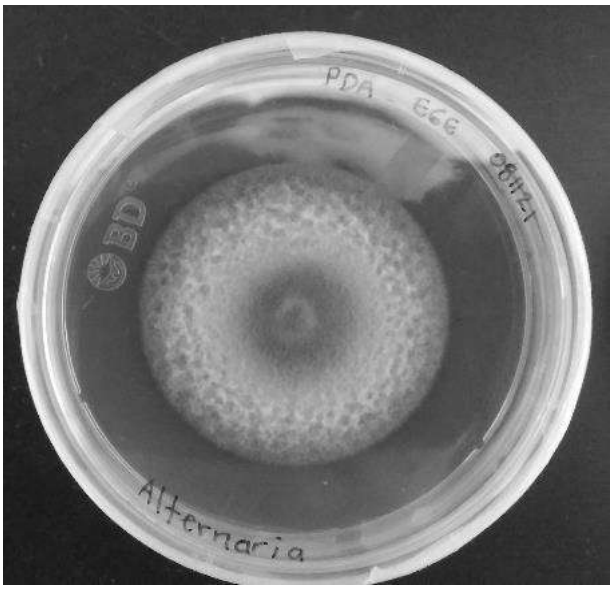

Figura 24. *A. alternata* en PDA proveniente de agave.



Figura 25. *Pestalotia sp.* en PDA proveniente de fresa.

8.1 Conservación de hongos fitopatógenos en glicerol

Se inocularon los patógenos en medio de cultivo PDA, se colocaron en el cepario a una temperatura de 25° C, durante 5 días, asegurando que la muestra permaneciera en estado puro y libre de contaminación.

Se utilizaron 5 viales para crio – preservación con dimensiones de 1.8 mL, se adicionó 1.3 mL de glicerol y se introdujo en cada vial 5 bocaditos de 0.5 cm de micelio de los hongos en estudio, se identificó cada criovial y se conservaron a una temperatura de -20° C.

Previamente fue necesario esterilizar en autoclave los crio–viales adicionados con glicerol, para evitar contaminantes externos.

8.1.1 Selección de colonias purificadas de BAL con actividad antagónica contra los fitopatógenos

Con la finalidad de evaluar la capacidad antagónica de las bacterias ácido lácticas purificadas contra los hongos fitopatógenos, se utilizó el ensayo de superposición de cultivo dual según Magnusson et al. (2003) con algunas modificaciones. Se inocularon 100 µL de una suspensión fresca de cada cepa de BAL en placas con agar MRS y se dejaron crecer a 37° C durante 48 h. Pasado el tiempo de incubación se les añadió 7 mL de medio PDA semisólido al 7%, teniendo cuidado que la temperatura no superara los 37° C para no dañar las colonias de BAL. Una vez que el medio tuvo una apariencia solida se inoculó cada caja con discos de 0.5 cm de diámetro de micelio del fitopatógeno de prueba, procurando que el disco quedara en el centro de la caja como se muestra en la figura 26. Como control se utilizaron placas de medio agar MRS sin inocular alguna cepa bacteriana y agregando el medio semisólido PDA, para enseguida inocular con el hongo fitopatógeno, las cepas se registraron como cepa C, D, E, y F, siendo 'D y F' mayor número de colonias pero circunferencia pequeña a diferencia de colonas ´C y F´ con menor cantidad de colonias pero circunferencia más grande., las cajas se colocaron en el cepario a 25° C y se monitoreo el crecimiento micelial de los hongos durante 9 días, midiendo y anotando el crecimiento de los mismos.

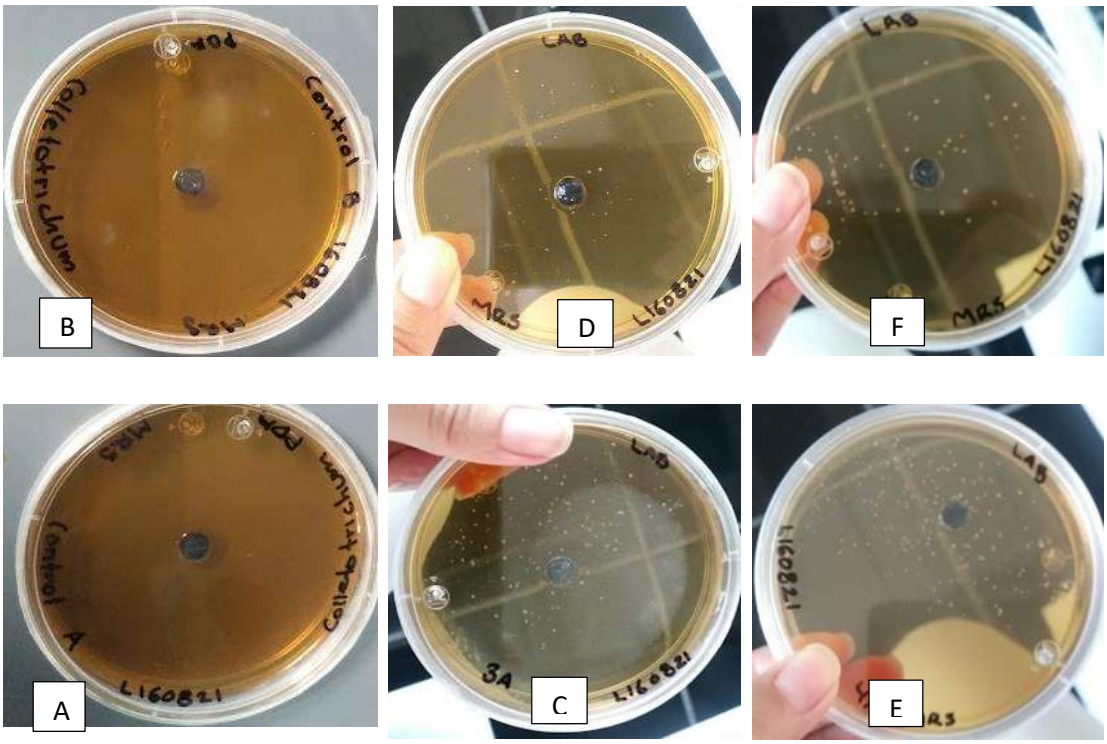

Figura 26. Inoculación de *C. gloeosporioides* en medio semisólido PDA al 7% caja control y en presencia de BAL en medio agar MRS (día 0).

La selección de las bacterias purificadas con capacidad antagónica se realizó frente a *C. gloeosporioides*. Posteriormente, las cepas identificadas como antagónicas contra *C. gloeosporioides* se evaluaron contra los demás hongos considerados en el presente trabajo.

El porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) se calculó según la formula señalada por Mendoza et al. (2020).

$$PICR = (R1-R2) / R1 \times 100$$

Donde:

R1= Crecimiento radial del patógeno en la placa control

R2= Crecimiento radial del patógeno con las BAL

Por lo que, fue necesario llevar registro del crecimiento micelial cada 3er día, concluyendo en el 7mo o 9no día de crecimiento micelial según el desarrollo del fitopatógeno en cultivo dual y en su estado natural.

8.1.2 Prueba de inhibición de *C. gloeosporioides* por volátiles producidos por las cepas bacterianas

Con la finalidad de identificar el probable mecanismo de la actividad antifúngica, se realizó una prueba de inhibición fúngica por compuestos volátiles. Para esta prueba se utilizó *C. gloeosporioides* como fitopatógeno de estudio. De manera independiente se inocularon las cepas BAL purificadas en medios de agar MRS y se dejaron crecer durante 48 h. Después de este tiempo, se inoculó el *C. gloeosporioides* en medio agar PDA y se confrontaron ambas placas (agar MRS con BAL y agar PDA con *C. gloeosporioides*), sellándolas con Parafilm figura 27 y se mantuvieron en incubación a temperatura ambiente durante 7 días, para observar el desarrollo micelial del hongo.

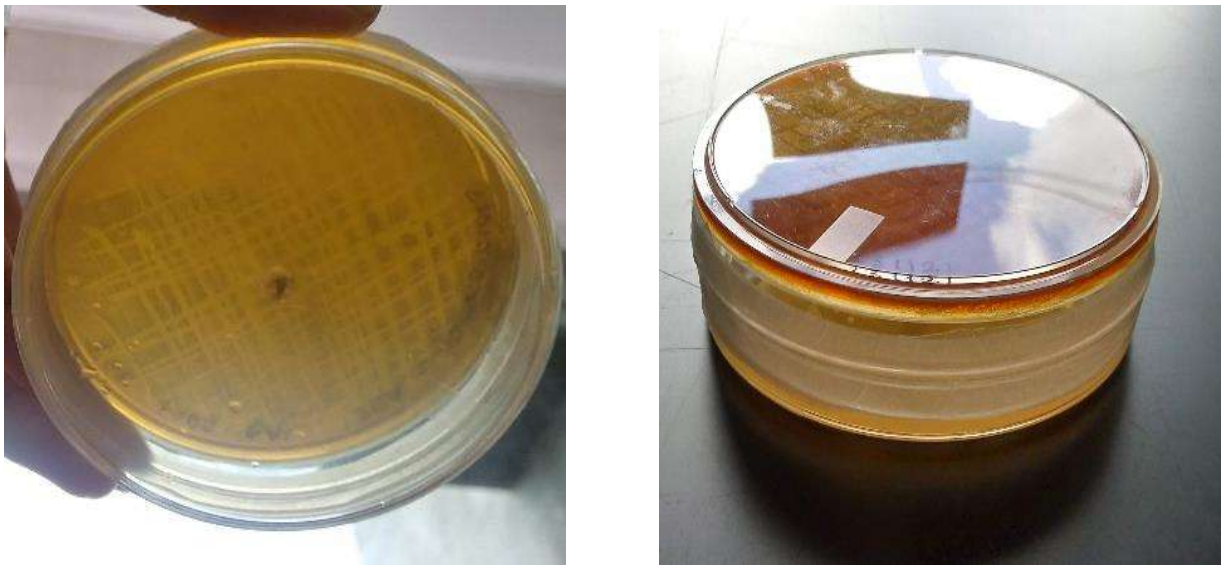

Figura 27. Imágenes representativas prueba de volátiles; confrontación *C. gloeosporioides* en presencia de BAL endófitas.

8.1.3 Evaluación *in vitro* de la actividad antagónica de BAL vs. los hongos fitopatógenos

La capacidad inhibitoria de las BAL se determinó sobre cada uno de los patógenos por separado por el método de difusión en agar, a partir de la inoculación de 100 µL de sedimento de BAL en medio de cultivo agar MRS, los ensayos se realizaron por duplicado para disminuir margen de error.

Una vez desarrolladas y crecidas las bacterias endófitas se añadió una capa semisólida de agar PDA 7% (7 mL aproximadamente) para posteriormente realizar la inoculación del fitopatógeno. En la figura 28 se muestra, a manera de ejemplo, este ensayo sobre el *C. gloeosporioides*. Este ensayo también se realizó contra *F. oxysporum, B. cinérea, A. alternata* y *Pestalotia sp*.

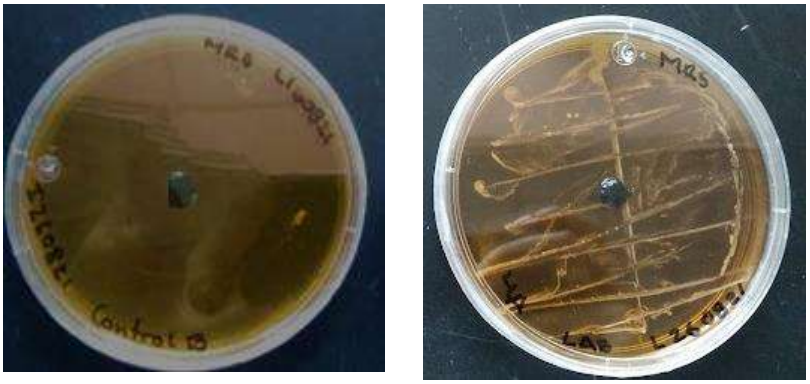

Figura 28. Evaluación del antagonismo de BAL *vs* el fitopatógeno *C. gloeosporioides.* Día cero de inoculación del hongo.

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1 Aislados de BAL endófitas de frutos de mango

Con la finalidad de encontrar y aislar BAL endófitas de frutos de mango, se utilizaron frutos en tres estados de maduración poscosecha, incluyendo frutos con la cáscara completamente verde, amarilla y verde-amarilla (aproximadamente 50% de pigmentación amarilla en la cáscara). De estos, solamente se tuvo desarrollo de BAL, en medio líquido selectivo MRS, a partir de los frutos con cáscara verde-amarilla. Las bacterias aisladas en medio MRS líquido formaron colonias, en agar MRS (selectivo para BAL), con propiedades fenotípicas asociadas a la morfología de sus colonias características de las BAL, incluyendo colonias con tamaño de 1 a 2 mm, de forma redonda, color blanco cremoso, puntiformes con bordes enteros, consistencia cremosa y húmeda, y superficie convexa, lo que corresponde con características previamente reportadas en la literatura de Jackson et al. (2002).



Figura 29. Agar MRS BAL aisladas de fruto de mango.

9.1.1 Selección de colonias BAL con actividad antifúngica

A partir del aislado de BAL, se purificaron las colonias mediante cuatro ciclos de reinoculación en medio agar MRS. Enseguida, se evalúo la capacidad antagónica o antifúngica de las colonias purificadas contra *C. gloeosporioides*. En la figura 30 se muestra una imagen con el desarrollo micelial de *C. gloeosporioides* después de 3 días de su inoculación; las dos cajas del extremo izquierdo corresponden al control (sin presencia de LAB), mientras que las otras cajas corresponden al desarrollo del hongo en presencia de cepas purificadas de BAL. De manera similar, en la figura 31 se presenta el crecimiento micelial del mismo fitopatógeno después de 6 días de su inoculación; como se puede apreciar figura 31, el cultivo control se desarrolló en todo el espacio de la placa, mientras que en los cultivos con presencia de BAL hubo inhibición del crecimiento micelial con diferentes grados tabla 3.

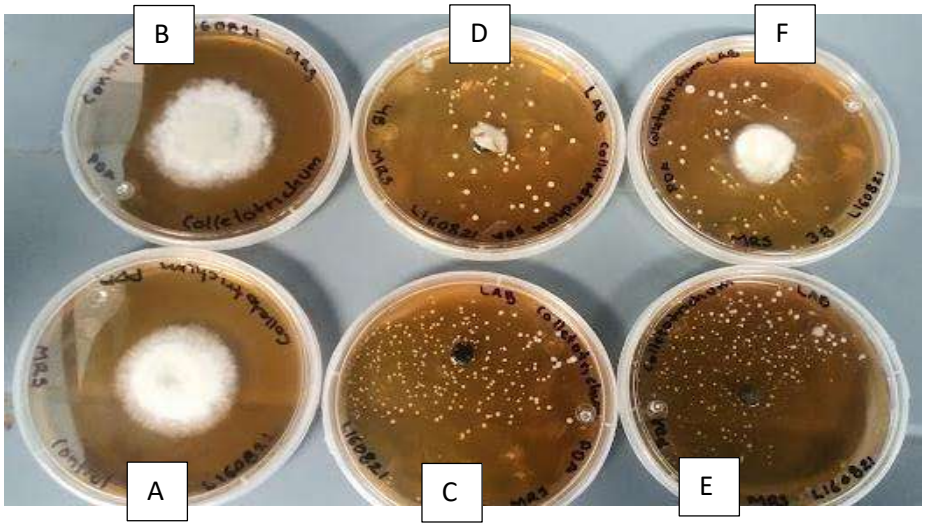

Figura 30. Prueba de inhibición del crecimiento de *C. gloeosporioides* por BAL purificadas, 3er día de la inoculación fúngica. A y B: cultivo control (sin presencia de BAL), C,D,E, y E cultivos de *C. gloeosporioides* en presencia de BAL.

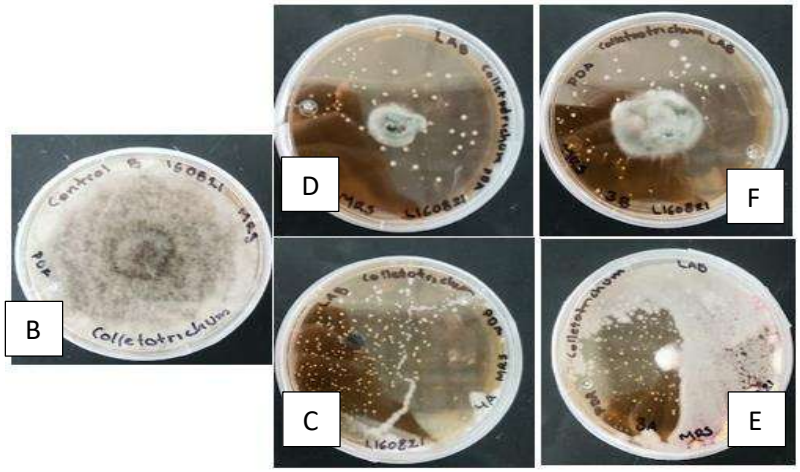

Figura 31. Crecimiento de *C. gloeosporioides* en ausencia (control) y presencia de las BAL purificadas después de 6to día de inoculación. B: cultivo control (sin presencia de BAL), C, D, E, y F cultivo de *C. gloeosporioides* en presencia de BAL.

Tabla 3. Crecimiento micelial promedio (mm) de *C. gloeosporioides* después de 3 y 6 días de inoculación en presencia de BAL.

Cepa BAL	Crecimiento micelial (mm, día 3)	Crecimiento micelial (mm, día 6)
Control (sin BAL)	42±4.0	90±9.0
C	0	0
E	0	10±0.9
D	10±0.9	23±1.8
F	22±2.4	34±2.8

Tabla 4. Desarrollo de *C. gloeosporioides* en ausencia y presencia de BAL. Porcentaje de crecimiento micelial relativo con el control y porcentaje de inhibición del crecimiento micelial.

Cepa BAL	%Crecimiento	%Inhibición
Control	100	0
C	0	100
E	25.56	74.44
D	11.12	88.88
F	37.78	62.22

En la tabla 4 se muestra un resumen de los resultados del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* por el antagonismo de las 4 cepas purificadas de BAL. Como se puede apreciar en el presente trabajo, las 4 cepas aisladas de BAL generaron una acción antifúngica sobre este hongo. La cepa C presentó 100% de inhibición, mientras que las cepas E, D y F presentaron valores de 74.4%, 88.8% y 62.2%, respectivamente, de inhibición micelial. Otros investigadores han encontrado cepas bacterianas con actividad antifúngica contra este fitopatógeno. Por ejemplo, Ruiz et al. (2014) en su investigación sobre la inhibición en el crecimiento de hongos fitopatógenos de frutos poscosecha, destaca las cepas *B. subtilis* con actividad *in vitro* contra *C. gloeosporioides,* mostrando como resultado una capacidad de inhibición de crecimiento y halos de inhibición en confrontación directa. Así mismo, la investigación de Rajaofera et al. (2019) describe a *Bacillus atrophaeus* útil para producir efectos inhibidores contra *C. gloeosporioides* y otros fitopatógenos, ya que produce bacteriocinas, compuestos bioactivos y proteínas biosurfactantes, además de ser una especie antagónica microbiana para lograr un rendimiento de control biológico.

9.1.2 Inhibición de *C. gloeosporioides* por volátiles de BAL

Estudios anteriores demuestran que algunas BAL son capaces de liberar compuestos orgánicos volátiles que inhiben el crecimiento de hongos patógenos por lo que resultan eficaces en el uso como agentes de control biológico.

Vu et al. (2023) argumenta que *Bacillus velezensis* posee actividad microbiana contra hongos, bacterias patógenas y nematodos, gracias a sus compuestos volátiles es capaz de mitigar la antracnosis causada por *C. gloeosporioides,* haciendo un efecto similar al que genera el fungicida sintético procloraz.

Sinuco et al. (2020) destaca en su investigación que *Paenibacillus sp* es capaz de liberar compuestos orgánicos volátiles, manteniendo una tasa de inhibición mayor al 50% en el crecimiento micelial contra *C. gloeosporioides.* Autores como Rajaofera et al. (2019) refiere que *B. atrophaeus* produce compuestos volátiles clave para la inhibición de hongos patógenos. Dentro de los compuestos volátiles destaca principalmente como principales degradadores de *C. gloeosporioides* el ácido hexadecanoico, ácido cloroacético y ésteres de tetradecilo.

En la figura 32 se muestra el desarrollo de *C. gloeosporioides* después de 3 días de su inoculación en la prueba de inhibición por compuestos volátiles. En esta prueba, el fitopatógeno presentó un crecimiento micelial similar al control (ausencia de BAL), lo que sugiere que las BAL aisladas en el presente estudio no producen compuestos volátiles con capacidad antifúngica contra *C. gloeosporioides*. Por lo que, probablemente la alta actividad antifúngica de las BAL aisladas contra *C. gloeosporioides* se deba a sustancias inhibidoras tales como: diacetilo, reuterina, bacteriocinas (polipéptidos o proteínas), enzimas hidrolíticas y ácidos orgánicos como se ha descrito en la literatura de Stiles et al. (1996).



Figura 32. Prueba de inhibición del crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* por compuestos volátiles. Desarrollo del hongo después de 3 días de su inoculación compartiendo su atmósfera con las BAL.

9.1.3 Actividad antifúngica de las BAL contra hongos fitopatógenos

La cepa BAL purificada que presentó alta actividad antifúngica contra *C. gloeosporioides*, se evaluó para determinar su antagonismo contra los hongos fitopatógenos *F. oxysporum, A. alternata, Pestalotia spp* y *B. cinerea*, todos ellos con alta importancia en el deterioro de hortofrutícolas frescos.

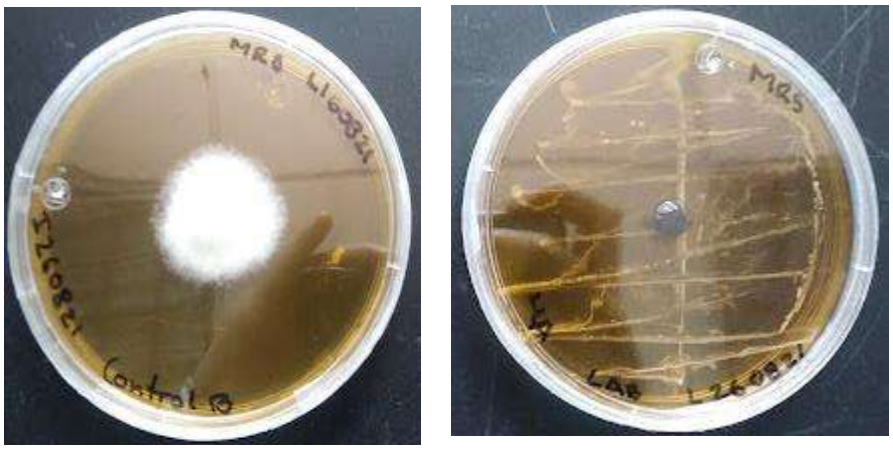

Figura 33. Crecimiento de *C. gloeosporioides* después de 3 días de inoculación en ausencia (control, placas en la columna izquierda de la imagen) y presencia de BAL (placas en el extremo derecho de la imagen).



Figura 34. Crecimiento de *C gloeosporioides* después del 9no día de incubación en ausencia (control) y presencia de BAL.

En las figuras 33 y 34 se observa el crecimiento micelial en presencia de las BAL después de 3 y 9 días de incubación. Como se puede apreciar en la figura 34, la caja control presentó un crecimiento micelial sobre el 100% de la placa, mientras que en las placas con presencia de las BAL hubo 100% de inhibición en su

crecimiento micelial, confirmando las pruebas iniciales donde se seleccionó la cepa purificada con la más alta actividad antifúngica contra *C. gloeosporioides*.

Es importante resaltar que la muestra control inoculada con *C. gloeosporioides* no presentó alteraciones y/o cambios en su morfología durante su crecimiento, aspecto que se podía presentar debido a que el medio utilizado fue de superposición en cultivo dual.

Fenta and Kibret (2021) reportaron aislados de *Lactobacillus acidophilus* eficaces contra *C. gloeosporioides*, refiriendo que estas bacterias poseen una actividad inhibitoria mayor al 40%, la investigación que realizaron estos autores reveló que los *L. acidophilus* producía compuestos antifúngicos y enzimas líticas como mecanismo antagónico.

Barrios et al. (2019) publicaron el aislamiento de *Lactobacillus paracasei, Lactobacillus pentosus* y *Lactobacillus plantarum* a partir de tepache, demostrando la actividad antifúngica de cada una de las bacterias como agentes de biocontrol en frutos para mitigar al fitopatógeno *C. gloeosporioides.*



Figura 35. Desarrollo de *F. oxysporum* en ausencia (control) y presencia de las BAL después de 3er día de inoculación.

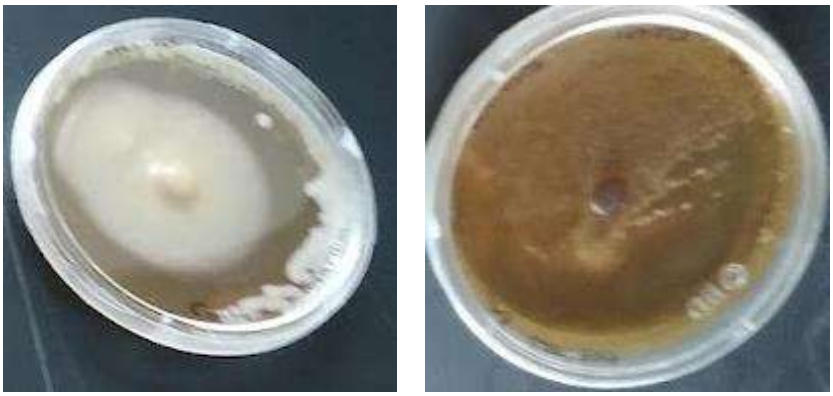

Figura 36. Crecimiento de *F. oxysporum* en ausencia (control) y presencia de las BAL después de 9no día de inoculación.

En las figuras 35 y 36 se presenta el crecimiento de *F. oxysporum* en ausencia y presencia de la BAL después de 3 y 9 días, respectivamente de incubación del fitopatógeno.

Se observó que la cepa de BAL aislada, es altamente eficaz en inhibir el crecimiento micelial *in vitro* de *F.* oxysporum, ocasionando una inhibición en su desarrollo del 100 % en comparación con el cultivo control.

La caja control presentó crecimiento constante, sin embargo, la morfología se vio afectada en lo que respecta a la pigmentación, durante el tiempo de incubación en

estudio no viró a su color característico rosa – violeta. Se sospecha que al estar desarrollado en un medio dual con PDA al 7% pudo generar deficiencia de nutrientes, ya que las cajas no presentaron contaminación de microorganismos que pudiesen afectar el óptimo desarrollo del fitopatógeno.

Mateo et al. (2023) destaca la actividad antagónica de once cepas de BAL de origen vegetal; a través de su investigación, estos autores mostraron la capacidad inhibitoria *in vitro* frente a 9 especies diferentes de *Fusarium sp,* incluido *F. oxysporum*, aislados de granos de cereal. Las once cepas de BAL que sometió a estudio fueron; *Pediococcus pentosaceus, Leuconostoc mesenteroides sp, mesenteroides, Leuconostoc mesenteroides sp, dextranicum, Lacticaseibacillus paracasei sp, Latilactobacillus sakei sp carnoso, Companilactobacillus farciminis* y *Levilactobacillus brevis,* de las cuales todas las BAL presentaron inhibición total frente a los patógenos de *Fusarium sp* sometidos a estudio. Hace mención que los halos de inhibición transversales y longitudinales del crecimiento fúngico fueron las mismas a los 5 días y 12 días de incubación. Sin embargo, describe a *F. oxysporum* como un patógeno altamente susceptible a estas cepas BAL, ya que durante el estudio no hubo crecimiento alguno.

Muhialdin et al. (2020) expresa que las BAL son capaces de eliminar o reducir las micotoxinas en medios contaminados mediante la degradación química o enzimática, conversiones metabólicas o procesos de adsorción a través de este proceso se unen las micotoxinas a los componentes de la pared celular, evitando así la absorción en alimento.

Diferentes estudios demuestran la alta patogenicidad que representan la especie *Fusarium sp* al producir toxinas con toxicidad aguda y/o crónica como los tricotecenos, fumonisinas y zearalenona (Mousavi et al., 2020), (Lee & Ryu, 2017), (Luo et al., 2021).

F. oxysporum es uno de los hongos más estudiado debido a la virulencia que genera en plantas además de ser un importante patógeno humano, este fitopatógenos crea toxinas cancerígenas en alimentos y distintos productos agrícolas (Summerell et al., 2011), (Srinivas et al., 2019). Por ello es importante implementar microorganismos

biocontroladores que sean amigables con el ambiente e incapaces de alterar la composición celular de la planta o frutícola, evitando así efectos adversos para la salud humana y vida animal.

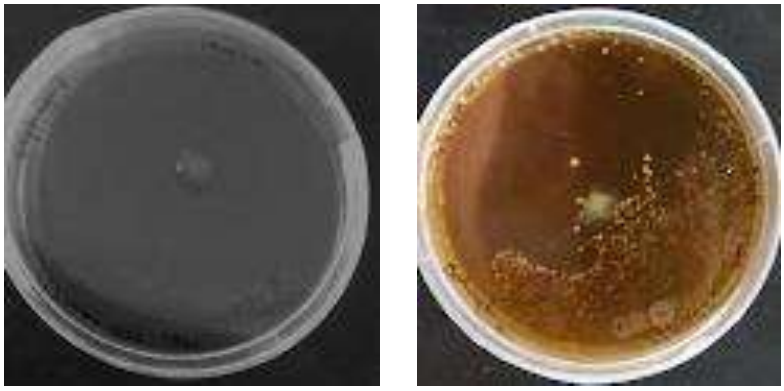

Figura 37. Crecimiento de *B. cinérea* en ausencia de BAL (control) y en presencia de BAL en cultivo dual, después de 3 días de incubación.

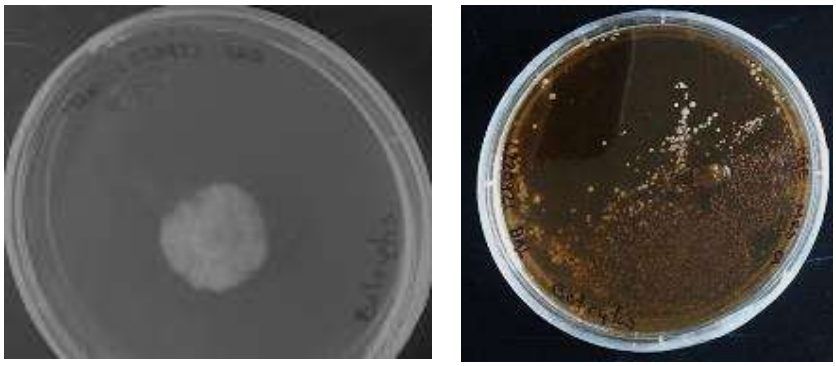

Figura 38. Desarrollo de *B. cinérea* en ausencia de BAL (control) y en presencia de BAL en cultivo dual, después de 7 días de incubación**.**

En las figuras 37 y 38 se puede apreciar el crecimiento de *B. cinerea* después de 3 y 7 días, respectivamente, de haber sido inoculado. El cultivo presentó crecimiento constante, en cuanto a la morfología del fitopatógeno no se vio afectada, se observa presencia de micelio color blanco grisáceo característico de *B. cinerea.*

De acuerdo con Chen et al. (2020), *Lactobacillus plantarum* es una cepa de BAL endófita que posee alto potencial inhibitorio. Estos autores realizaron estudios *in vitro* e *in vivo* con *B. cinerea,* dando como resultado en el análisis *in vitro* valores de 55.27% y 79.80% en la reducción del crecimiento micelial, mientras que el análisis *in vivo* arrojó valores de 48.23% y 75.00% de inhibición en comparación con el cultivo control. Por consiguiente, *L. plantarum* es una cepa de BAL endófitas aisladas de fresa que posee alto potencial inhibitorio, de manera que podría inhibir eficazmente la infección poscosecha causada por este patógeno. En otra investigación, se encontró que *Bacillus methylotrophicus* presentó eficacia en la capacidad de inhibir la infección por *B. cinerea* en plantas de fresa*,* además las plantas adoptaron una reacción de defensa rápida que inhibió la incidencia del moho gris (Vicente et al., 2019).

Jiang et al. (2018) indica que *Bacillus velezensis* actúa con alta actividad antagónica, además esta bacteria es capaz de suprimir crecimiento y la formación de esporas de *B. cinerea* al secretar metabolitos secundarios.

En la literatura no existe mucha evidencia sobre variedad de BAL eficaces contra *B. cinerea.* Hasta el momento este fitopatógeno es mitigado en la mayoría de ocasiones a través de hongos endófitos como lo es *Trichoderma sp*. Trabajos como el de Carvajal et al. (2023) demuestran el efecto supresor contra *B. cinerea* en un 94 y 97 % en pruebas *in vitro.* También se emplean rizobacterias como *Pseudomonas sp* que demuestra efecto antagónico *in vitro* sobre el crecimiento y desarrollo de *B. cinerea* (Ait et al., 2002).



Figura 39. Crecimiento de *A. alternata* en ausencia (control) y presencia de BAL en cultivo dual después de 3 días de incubación.

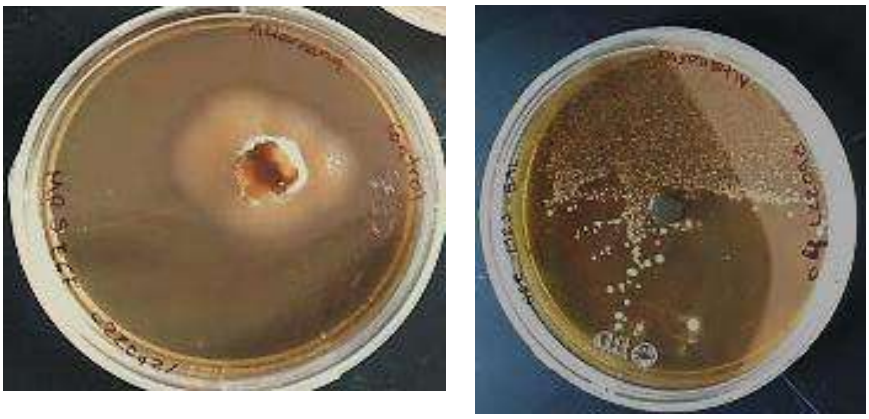

Figura 40. Crecimiento de *A. alternata* en ausencia (control) y presencia de BAL en cultivo dual después de 7 días de incubación.

Durante el desarrollo de *A. alternata* los cultivos control presentaron crecimiento al 3er y 7mo día, mientras que los cultivos duales inoculados con la cepa de BAL no presentaron crecimiento durante el mismo periodo de incubación, como se observa en las figuras 39 y 40 del presente trabajo. En cuanto al desarrollo del hongo *A. alternata* en su estado natural dual, se observa que el crecimiento al 3er día

presenta pigmentación y micelio. En los días posteriores el crecimiento del hongo comenzó a ser interno, penetro el medio semisólido, razón por la que se sospecha no se percibió micelio en el exterior y tampoco pigmentación. Los cultivos no presentaron contaminación, por lo que se determinó que la cepa de BAL en estudio presentó alto antagonismo contra *A. alternata,* ocasionando 100% de inhibición en el crecimiento del fitopatógeno, en comparación con el cultivo control.

Ramírez et al. (2020) estudiaron la efectividad de *Bacillus paralicheniformis* como agente de biocontrol *in vivo* e *in vitro* para controlar el tizón temprano en tomate, enfermedad provocada por *A. alternata*. La evaluación *in vitro* la realizo mediante ensayo de confrontación dual. Los resultados arrojaron 53.8 % de efectividad *in vitro*. Estos investigadores concluyeron que *B. paralicheniformis* brinda protección a las plantas frente a *A. alternata* por medio de la inducción de la resistencia sistémica de la planta.

Gorai et al. (2021) aislaron el patógeno causal del tizón temprano en hojas de patata, identificado como *A. alternata*. Estos autores realizaron estudios de confrontación entre *A. alternata* y una cepa bacteriana endófita, *Bacillus velezensis,* aislada de *Vigna mungo L.,* encontrando que *B. velezensis* es efectivo para inhibir el crecimiento patógeno de manera *in vitro* en placas superpuestas de cultivo dual. También describen que las enzimas β-glucanasa y proteasa de las cepas de *Bacillus* pueden degradar la pared celular fúngica. Además, de secretar metabolitos antifúngicos.

Tozlu et al. (2018) determino la actividad antifúngica *in vitro* de 13 aislados bacterianos para probarlos como posibles agentes de biocontrol frente a *A. alternata,* patógeno aislado de fresa y pepino*.* En su análisis emplearon cepas de *B. subtilis, Bacillus megaterium, Bacillus pumilus, Paenibacillus polyntyxa, Pantoea agglomerans, Pseudomonas flumrscens, Bacillus thuringiensis y Bacillus sphaericus.* Como resultados obtuvieron que *B. pumilus B. subtilis y B. megaterium* fueron los más efectivos contra *A. alternata* teniendo valores de inhibición de (87.63 – 65.89%), (77.61 – 63.11%) y (72.93 – 68.87%), respectivamente.

Acurio et al. (2020) probaron el antagonismo de *B. megaterium* para prevenir la infección de *Alternaria japonica* en cultivos de brócoli, el análisis *in vivo* reveló datos de inhibición del 15.56% en las hojas de brócoli, mientras que el análisis poscosecha se mantuvo en 38% de inhibición. Por su parte, Ma et al. (2016) y Acurio Vásconez et al. (2020) reportaron que la inhibición de patógenos por *B. megaterium* se debe a la producción de más de 40 metabolitos de tipo antifúngico, incluidos bacilomicina D, fengicina A y B; estos d metabolitos impiden la germinación de esporas y el desarrollo de micelio fúngico.



Figura 41. Desarrollo del fitopatógeno *Pestalotia sp* en ausencia (control) y presencia de BAL en cultivo dual después de 3 días de incubación.



Figura 42. Desarrollo del fitopatógeno *Pestalotia sp* en ausencia (control) y presencia de BAL en cultivo dual después de 7 días de incubación.

Pestalotia sp fue el último fitopatógeno que se sometió a estudio, los resultados de inhibición del crecimiento micelial de este hongo en presencia de la cepa BAL se comporta similar con respecto de los otros fitopatógenos estudiados en este trabajo. Durante los 7 días de incubación, los cultivos no presentaron contaminación por lo que la inhibición del fitopatógeno se puede atribuir a la presencia de la cepa BAL. El cultivo control mantuvo un desarrollo continuo, presentó micelio, coloración blanquecina que le caracteriza a dicho fitopatógeno como se observa en las figuras 41 y 42 del presente estudio.

Cabe señalar que en la literatura no se encontraron estudios que demuestren el antagonismo de cepas BAL como control biológico de *Pestalotia sp*.

Sin embargo, el control de este patógeno en hortalizas y poscosecha se ha realizado a través del control químico, en lo que respecta al control biológico se implementa la capacidad antagónica de hongos endófitos o en su defecto una combinación de microrganismos como lo señala Ibarra et al. (2022) en su investigación emplearon la combinación de las siguientes cepas; *Trichoderma sp., B. subtilis, Pseudomonas sp., Rizobium sp.,* para controlar pestalotiopsis, enfermedad causada por el fitopatógeno *Pestalotia sp.,* el análisis lo realizaron *in vivo* encontrando valores de incidencia de 20 a 50% en las hojas del cultivo de la fruta milagrosa.

Kawicha et al. (2020) reportaron que *Streptomyces sp.,* posee capacidad antagónica en el control de patógenos como *Pestalotia sp., fusarium sp.* y *C. gloeosporioides,* al producir sinderóforo y amilasa, lo cual previene y contrarresta la infección en plantas hospederas. S*treptomices sp.,* inhibió el crecimiento de micelio fúngico y suprimió la germinación de conidios, además de promover el crecimiento de las plantas.

CONCLUSIÓN

En el presente trabajo se aislaron y purificaron bacterias endófitas de frutos de mango ‘Ataulfo’, con capacidad de inhibir el crecimiento micelial *in vitro* de los hongos fitopatógenos *F. oxysporum, C. gloeosporioides, B. cinerea, A. alternata* y *Pestalotia sp*. Las bacterias aisladas tienen el potencial de emplearse como agentes de biocontrol en el manejo de las enfermedades asociadas con los hongos fitopatógenos estudiados, derivado de su alta actividad antagonista (100% de inhibición).

Perspectivas futuras

Actualmente se están identificando molecularmente las cepas aisladas en este estudio. Finalmente falta dilucidar el mecanismo de inhibición del crecimiento de estos fitopatógenos por acción de las bacterias aisladas. También se debe de estudiar el desarrollo de formulaciones, su estabilidad y eficacia de estos aislados en sistemas *in vivo*.

BIBLIOGRAFÍA

Acurio, R. D., Tenorio, E. M., Collaguazo, L. A., Chiluisa, V. P., & Vaca, I. d. l. Á. (2020). Evaluation of *Bacillus megaterium* strain AB4 as a potencial biocontrol agente of *Alternaria japonica,* a mycopathogen of *Brassica oleracea* var. italica. *Biotechnology*, *26*, e00454. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00454

Aguayo, C., Riquelme, J., Valenzuela, P. D. T., Hahn, M., & Silva, E. (2011). Bchex virulence gene of *Botrytis cinerea*: characterization and functional analysis. *Journal of General Plant Pathology*, *77*(4), 230-238. https://doi.org/10.1007/s10327-011-0311-4

Ait, E., Gognies, S., Nowak, J., Audran, J. C., & Belarbi, A. (2002). Inhibitory effect of endophyte bacteria on *Botrytis cinerea* and its influence to promote the grapevine growth. *Biological Control*, *24*(2), 135-142. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00034-8

Amaíz, L., Vargas, R., Medina, L., Izzeddin, N., & Valbuena, O. (2015). Evaluación del efecto antagonista de un consorcio bacteriano sobre *Rhizoctonia solani* Kühn en cultivos de arroz. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, *6*(1), 2. https://doi.org/10.7603/s40682-015-0002-5

Arcila, Á. M., Castillo, G. P., Pérez, L., Abaunza, C. A., Yacomelo, M. J., & León, R. I. (2022). *Modelo productivo de mango de azúcar (Mangifera indica L.) para el departamento del Magdalena.* Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. https://doi.org/10.21930/agrosavia.model.7405170

Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. *Food Science and Technology New York Marcel Dekker*, *139*, 1-66.

Ayala, J. F., Rosas, C., Vega, V., & González, G. A. (2010). Antioxidant enrichment and antimicrobial protection of fresh-cut fruits using their own byproducts: looking for integral exploitation. *Journal of Food Science*, *75*(8), 175-181. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01792.x

Bally, I. S. E. (2006). *Mangifera indica* (mango). *Species profiles for pacific island agroforestry*, *3.1*, 1-25. http://thaihandmadegifts.com/WoodArticles/Mangifera-mango.pdf

Bally, I. S. E., & Dillon, N. L. (2018). Mango (*Mangifera indica L.*) Breeding. *Advances in Plant Breeding Strategies: Fruits, 3*, 811-896. https://doi.org/10.1007/978-3-319-91944-7_20

Bangar, S. P., Sharma, N., Kumar, M., Ozogul, F., Purewal, S. S., & Trif, M. (2021). Recent developments in applications of lactic acid bacteria against mycotoxin production and fungal contamination. *Food Bioscience*, *44*, 101444. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101444

Barrios, C., Rosas, R., Salvador, M., Gálvez, D., & Vázquez, A. (2019). Antifungal lactic acid bacteria isolated from fermented beverages with activity against *Colletotrichum gloeosporioides. Food Bioscience*, *29*, 47-54. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.03.008

Betancourt, I., Velázquez, J. J., Montero, J. C., Fernández, S. P., & Lozoya, H. (2012). *Fusarium mexicanum* agente causal de la malformación del mango en Jalisco, México. *Revista mexicana de fitopatología*, *30*(2), 115-127.

Brecht, J. K., Sargent, S. A., Kader, A. A., Mitcham, E. J., Maul, F., Brecht, P. E., & Menocal, O. (2020). Manual de prácticas para el mejor manejo postcosecha del mango. *IFAS Extension*, *2020*(5). https://doi.org/10.32473/edis-hs1190-2020

Camiletti, B. X., Lichtemberg, P. S. F., Paredes, J. A., Carraro, T. A., Velascos, J., & Michailides, T. J. (2022). Characterization, pathogenicity, and fungicide sensitivity of *Alternaria* isolates associated with preharvest fruit drop in California citrus. *Fungal Biology*, *126*(4), 277-289. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.funbio.2022.02.003

Cankar, K., Kraigher, H., Ravnikar, M., & Rupnik, M. (2005). Bacterial endophytes from seeds of Norway spruce (*Picea abies L.* Karst). *FEMS Microbiology Letters*, *244*(2), 341-345. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.02.008

Carvajal, M., Olivares, M., Lobaina, E., Vergara, A., Velásquez, A., Jeldres, P., Meza, D., Dorta, F., Jorquera, F., & Seeger, M. (2023). Addition of *Trichoderma* consortia to Chilean endemic flora compost teas strongly enhances *in vitro* and *in vivo* biocontrol of phytopathogenic fungi. *Journal of Applied Microbiology*, *134*(3). https://doi.org/10.1093/jambio/lxad011

Chen, C., Cao, Z., Li, J., Tao, C., Feng, Y., & Han, Y. (2020). A novel endophytic strain of *Lactobacillus plantarum* CM-3 with antagonistic activity against *Botrytis cinerea* on strawberry fruit. *Biological Control*, *148*, 104306. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104306

Chen, Y. J., Meng, Q., Zeng, L., & Tong, H. R. (2018). Phylogenetic and morphological characteristics of *Alternaria alternata* causing leaf spot disease on *Camellia sinensis* in China. *Australasian Plant Pathology*, *47*(3), 335-342. https://doi.org/10.1007/s13313-018-0561-0

Cisneros, F. (1995). *Control de plagas agrícolas*. Cisneros Vera, Fausto. http://www.avocadosource.com/books/cisnerosfausto1995/cpa_toc.htm

Cotes, A. M. (2018). *Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria.

De García, M. C. C., Restrepo, S. R., Franco, A. E., Toquica, M. C., & Estupiñan, N. V. (2012). *Biología de hongos*. Universidad de los Andes, Colombia. http://www.jstor.org/stable/10.7440/j.ctt1b18tw3

Dillon, V. M. (1998). Lactic acid bacteria: Microbiology and functional aspects, *International Journal of Food Science & Technology*, *33*(2), 195-196.

Escalante, M., Damas, D., Márquez, D., Gelvez, W., Chacón, H., Díaz, A., & Moreno, B. (2010). Diagnóstico y evaluación de pestalotiopsis, e insectos inductores, en plantaciones de palma aceitera al sur del lago de Maracaibo, Venezuela. *Bioagro*, *22*(3), 211-216. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612010000300006&nrm=iso

Escarraga, J. O. (2021). *Caracterización de la enfermedad "Moho Gris" (Botrytis Cinerea) y la resistencia a los fungicidas más utilizados en el sector dresero de Colombia.* [Tesis de grado, Universidad de Cundinamarca]. https://repositorio.ucundinamarca.edu.co/handle/20.500.12558/3800

Ezra, D., Gat, T., Skovorodnikova, Y., Vardi, Y., & Kosto, I. (2010). First report of *Alternaria* black spot of pomegranate caused by *Alternaria alternata* in

Israel. *Australasian Plant Disease Notes*, *5*, 1-2. https://doi.org/10.1071/DN10001

Farfán, P. D., Insuasty, O., & Casierra, F. (2006). Distribución espacio temporal y daño ocasionado por *Pestalotia spp.* en frutos de guayaba. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, *7*(2), 89-98.

Feng, G., Zhang, X. S., Zhang, Z. K., Ye, H. C., Liu, Y. Q., Yang, G. Z., Chen, C., Chen, M., Yan, C., Wang, L. Y., Zhang, J. X., & Zhang, J. (2019). Fungicidal activities of camptothecin semisynthetic derivatives against *Colletotrichum gloeosporioides in vitro* and in mango fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *147*, 139-147. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.09.019

Fenta, L., & Kibret, M. (2021). Biocontrol potential of *Lactobacillus spp*. against post-harvest mango *(Mangifera indica L.)* anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Research on Crops*, *22*(4), 858-867. https://doi.org/10.31830/2348-7542.2021.141

Fernández, V. O. (2001). Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo Integrado de plagas (Costa Rica),* (62), 96-100. https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/6578

Alyokhin,A., Rondon, S. I. & Gao Y. (2022). Cultural control and other non-chemical methods. In Gabrýs, B. & Kordan,B. (Ed), *Insect Pests of Potato. Global perspectives on biology and management* (pp.297-314). Academic press.https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821237-0.00006-8

Galvis, J. A., & Herrera, A. (1996). *El mango Mangífera índica: manejo postcosecha*. Servicio Nacional de Aprendizaje. hpttps://repositorio.sena.edu.co/bitstream/handle/11404/5509/mango_mangiferia_manejo_postcosecha.PDF?sequence=1

Gamboa, J., & Mora, J. (2010). *Guía para el cultivo del mango (Mangifera indica L.) en Costa Rica*. Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria de Costa Rica.

García, A. F., Moctezuma, J. G. Á., & Ambris, A. C. (2008). Germinación *in vitro* de semillas de *Nolina parviflora (HBK) Hemsl*. *Foresta Veracruzana*, *10*(2), 27-33. https://www.redalyc.org/pdf/497/49711436004.pdf

Giblin, F. R., Coates, L. M., & Irwin, J. A. G. (2010). Pathogenic diversity of avocado and mango isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose and pepper spot in Australia. *Australasian Plant Pathology*, *39*, 50-62. https://doi.org/10.1071/AP09055

Godoy, M. F. (2018). *Resistencia sistémica inducida para el control de Pestalotia sp. y Colletotrichum sp. en fresa (Fragaria x ananassa Duch.) por medio de tres agentes de control biológico* [Tesis de grado, Escuela Agrícola Panamericana]. htpps://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/7e7974c1-a55f-46d3-b4f7-21119417b831/content

Gorai, P. S., Ghosh, R., Konra, S., & Mandal, N. C. (2021). Biological control of early blight disease of potato caused by *Alternaria alternata* EBP3 by an endophytic bacterial strain *Bacillus velezensis* SEB1. *Biological Control*, *156*, 104551. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104551

Gottlieb, D., & Shaw, P. D. (1970). Mechanism of action of antifungal antibiotics. *Annual review of phytopathology*, *8*(1), 371-402. https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.py.08.090170.002103

Guo, Z., Yu, Z., Li, Q., Tang, L., Guo, T., Huang, S., Mo, J., Hsiang, T., & Luo, S. (2021). *Fusarium* species associated with leaf spots of mango in China. *Microbial Pathogenesis*, *150*, 104736. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104736

Hao, F., Wu, M., & Li, G. (2021). Characterization of a novel genomovirus in the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. *Virology*, *553*, 111-116. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.virol.2020.11.007

Hernández, A. N., Bautista, S., Velázquez, M. G., & Hernández, A. (2007). Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades postcosecha en frutos. *Revista mexicana de fitopatología*, *25*(1), 66-74. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092007000100009

Ibarra, D. C., Tapia, D. R., Vaca, E. P., Guamán, R. N., Ulloa, S. M., & Villavicencio, Á. F. (2022). Evaluación de diferentes tipos de controles de roya (*Hemileia vastatrix* Berk. & Broome) y pestalotiopsis (*Pestalotia sp.)*, en el cultivo de la fruta milagrosa (*Synsepalum dulcificum* ADC). *Siembra*, *9*(2), e4007. http://scielo.senescyt.gob.ec/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2477-88502022000200014&nrm=iso

Infante, F., Quilantán, J., Rocha, F., Esquina, H., Castillo, A., Ibarra, G. & Palacio, V. (2011). Mango Ataulfo: Orgullo chiapaneco. *Comisión nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad. Biodiversitas*, (96), 91-95. https://www.researchgate.net/profile/Francisco-Infante-2/publication/275942534_Mango_Ataulfo_Orgullo_Chiapaneco/links/5549c3660cf205bce7ac3e8f/Mango-Ataulfo-Orgullo-Chiapaneco.pdf

Jiang, C. H., Liao, M. J., Wang, H. K., Zheng, M. Z., Xu, J. J., & Guo, J. H. (2018). *Bacillus velezensis*, a potential and efficient biocontrol agent in control of pepper gray mold caused by *Botrytis cinerea*. *Biological Control*, *126*, 147-157. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.07.017

Kamle, M., & Kumar, P. (2016). *Colletotrichum gloeosporioides:* Pathogen of anthracnose disease in mango *(Mangifera indica L.)*. *Current Trends in Plant Disease Diagnostics and Management Practices*, 207-219. https://doi.org/10.1007/978-3-319-27312-9_9

Kawicha, P., Laopha, A., Chamnansing, W., Sopawed, W., Wongcharone, A., & Sangdee, A. (2020). Biocontrol and plant growth-promoting properties of Streptomyces isolated from vermicompost soil. *Indian Phytopathology*, *73*, 655-666. https://doi.org/10.1007/s42360-020-00267-2

Latorre, B. A., Elfar, K., & Ferrada, E. E. (2015). Gray mold caused by *Botrytis cinerea* limits grape production in Chile. *Ciencia e investigación agraria*, *42*(3), 305-330. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202015000300001

Lee, H. J., & Ryu, D. (2017). Worldwide occurrence of mycotoxins in cereals and cereal-derived food products: Public health perspectives of their co-

occurrence. *Journal of agricultural and food chemistry*, *65*(33), 7034-7051. https://doi.org/https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04847

Luo, S., Du, H., Kebede, H., Liu, Y., & Xing, F. (2021). Contamination status of major mycotoxins in agricultural product and food stuff in Europe. *Food Control*, *127*, 108120. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108120

Ma, Y., Kong, Q., Qin, C., Chen, Y., Chen, Y., Lv, R., & Zhou, G. (2016). Identification of lipopeptides in *Bacillus megaterium* by two-step ultrafiltration and LC–ESI–MS/MS. *AMB Express*, *6*(79). https://doi.org/10.1186/s13568-016-0252-6

Magnusson, J., Ström, K., Roos, S., Sjögren, J., & Schnürer, J. (2003). Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, *219*(1), 129-135. https://doi.org/10.1016/s0378-1097(02)01207-7

Maharachchikumbura, S. S., Hyde, K. D., Groenewald, J. Z., Xu, J., & Crous, P. W. (2014). Pestalotiopsis revisited. *Studies in Mycology*, *79*(1), 121-186. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.005

Maryani, N., Lombard, L., Poerba, Y. S., Subandiyah, S., Crous, P. W., & Kema, G. H. J. (2019). Phylogeny and genetic diversity of the banana *Fusarium* wilt pathogen *Fusarium oxysporum f. sp.* cubense in the Indonesian centre of origin. *Studies in Mycology*, *92*(1), 155-194. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.06.003

Mateo, E. M., Tarazona, A., Aznar, R., & Mateo, F. (2023). Exploring the impact of lactic acid bacteria on the biocontrol of toxigenic *Fusarium spp*. and their main mycotoxins. *International Journal of Food Microbiology*, *387*, 110054. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.110054

McCollum, T. G., D'Aquino, S., & McDonald, R. E. (1993). Heat treatment inhibits mango Chilling Injury. *HortScience*, *28*(3), 197-198. https://doi.org/10.21273/hortsci.28.3.197

Mendoza, Y. M., Rios, C., Cambero, J., Pérez, D. A., Rodríguez, R., & Estrada, M. O. (2020). Actinomicetos antagonistas a *Colletotrichum sp.* Penz. en el cultivo de mango en Nayarit, México. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, *7*(2). https://doi.org/10.19136/era.a7n2.2420

Molina, A., Gómez, L., & Umaña, G. (2017). Identificación de especies del género *Colletotrichum* asociadas a la antracnosis en papaya (*Carica papaya L.*) en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, *41*(1), 69-80. http://dx.doi.org/10.15517/rac.v41i1.29752

Mousavi, A., Farhadi, A., Nematollahi, A., Vasseghian, Y., & Fakhri, Y. (2020). A systematic review and meta-analysis to investigate the concentration and prevalence of trichothecenes in the cereal-based food. *Trends in Food Science & Technology*, *102*, 193-202. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.026

Muhialdin, B. J., Saari, N., & Meor, A. S. (2020). Review on the biological detoxification of mycotoxins using lactic acid bacteria to enhance the sustainability of foods supply. *Molecules*, *25*(11). https://doi.org/10.3390/molecules25112655

Nagrale, D. T., Sharma, L., Kumar, S., & Gawande, S. P. (2016). Recent diagnostics and detection tools: Implications for plant pathogenic *Alternaria* and their disease management. *Current Trends in Plant Disease Diagnostics and Management Practices*, 111-163. https://doi.org/10.1007/978-3-319-27312-9_5

Notte, A. M., Plaza, V., Marambio, B., Olivares, L., Poblete, M., Silva, E., & Castillo, L. (2021). Molecular identification and characterization of *Botrytis cinerea* associated to the endemic flora of semi-desert climate in Chile. *Current Research in Microbial Sciences*, *2*, 100049. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100049

Olalla, R., & Tercero, M. J. (2011). Parasitosis comunes internas y externas. Consejos desde la oficina de farmacia. *Offarm*, *30*(4), 33-39. https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-parasitosis-comunes-internas-externas-consejos-X0212047X11247484

Pandey, V., Lakshmi, M. S., & Podile, A. R. (2022). Comparative proteomic analysis identifies potential pathogenicity/virulence factors in *Fusarium oxysporum f.sp.* ricini inciting vascular wilt disease in castor. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, *122*, 101925. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2022.101925

Parra, H. R. A. (2010). Review. Bacterias acido lácticas: papel funcional en los alimentos. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, *8*(1), 93-105. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612010000100012&nrm=iso

Pedraza, L. A., López, C. E., & Uribe, D. (2020). Mecanismos de acción de *Bacillus spp.* (*bacillaceae*) contra microorganismos fitopátogenos durante su interacción con plantas. *Acta biológica colombiana*, *25*, 112-125. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2020000100112&nrm=iso

PROFECO. (2021). Procuraduría Federal del consumidor *mango, que rico mango, mango que bueno es*. (Biblioteca de Publicaciones Oficiales del Gobierno de México.)

Rajaofera, M. J. N., Wang, Y., Dahar, G. Y., Jin, P., Fan, L., Xu, L., Liu, W., & Miao, W. (2019). Volatile organic compounds of *Bacillus atrophaeus* HAB-5 inhibit the growth of *Colletotrichum gloeosporioides. Pesticide Biochemistry and Physiology*, *156*, 170-176. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.02.019

Rajnish, K., & Gautam, H. (2022). Prevalence and management of *pestalotia* leaf spot (Pestalotia sp.) of Strawberry. *International Journal of Economic Plants*, *9*(3), 250-254. https://doi.org/https://doi.org/10.23910/2/2022.0473a

Ramírez, H. F., Guadarrama, P. C., Sánchez, V., Cuervo, J. A., Ramírez, T., Dunlap, C. A., & Valadez, R. (2020). Biocontrol of *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum* by *Trichoderma asperelloides* and *Bacillus paralicheniformis* in tomato plants. *Antonie van Leeuwenhoek*, *113*(9), 1247-1261. https://doi.org/10.1007/s10482-020-01433-2

Roca, R., Flores, J. D., & Rivas, R. (2021). Mechanisms of action of microbial biocontrol agents against *Botrytis cinerea*. *Journal of Fungi*, *7*(12). https://doi.org/10.3390/jof7121045

Rodriguez, A., Troncoso, R., Sánchez, A., González, D., Ruiz, E., Zamora, R., Ceceña, C., Grimaldo, O., & Aviles, M. (2015). Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) en *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*. *Revista Argentina de Microbiología*, *47*(1), 72-77. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ram.2014.12.005

Rodriguez, M., Guerrero, M., & Sandoval, R. (2002). *Cultivo de mango. Guía Técnica.* Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria Forestal. http://docplayer.es/337802-Guia-tecnica-cultivode-mango.html

Rojo, I., Álvarez, B., García, R. S., León, J., Sañudo, A., & Allende, R. (2017). Situación actual de *Colletotrichums spp.* en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Revista mexicana de fitopatología*, *35*(3), 549-570. https://doi.org/https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1703-9

Ruiz, E., Mejía, M. Á., Cristóbal, J., Valencia, A., & Reyes, A. (2014). Actividad antagónica de filtrados de *Bacillus subtilis* contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.). *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, *5*(7), 1325-1332. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342014000700015&script=sci_abstract&tlng=es

SADER. (2021). Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. *El mango, producto estrella en México*. (Biblioteca de Publicaciones Oficiales del Gobierno de México.)

SAGARPA. (2017). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. *Planeación Agrícola Nacional 2017-2030: Mango mexicano. Gobierno de México.* https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257078/Potencial-Mango.pdf

Samaras, A., Karaoglanidis, G. S., & Tzelepis, G. (2021). Insights into the multitrophic interactions between the biocontrol agent *Bacillus subtilis* MBI 600, the pathogen *Botrytis cinerea* and their plant host. *Microbiological Research*, *248*, 126752. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126752

Sathe, S. J., Nawani, N. N., Dhakephalkar, P. K., & Kapadnis, B. P. (2007). Antifungal lactic acid bacteria with potential to prolong shelf-life of fresh vegetables. *Journal of Applied Microbiology*, *103*(6), 2622-2628. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03525.x

Shao, W., Zhao, Y., & Ma, Z. (2020). Advances in understanding fungicide resistance in *Botrytis cinerea* in China. *Phytopathology*, *111*(3), 455-463. https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-20-0313-IA

Sinuco, D. C., Coconubo, L. C., & Castellanos, L. (2020). Fungicidal activity of volatile organic compounds from *Paenibacillus* bacteria against *Colletotrichum gloeosporioides*. *Revista Colombiana de Química*, *49*(1), 20-25. https://doi.org/https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v1n49.81996

Soto, F., Tramón, P., C., Aqueveque, M., P., & de Bruijn, J. (2018). Microorganismos antagonistas que inhiben el desarrollo de patógenos en post-cosecha de limones (*Citrus limon L.*). *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, *34*(2), 173-184.

http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-38902018000200173&nrm=iso
Srinivas, C., Nirmala, D., Narasimha, K., Dhananjaya, C,. Lakshmeesha, T. R., Pratap, B., Kumar, N., Niranjana, S. R., Hashem, A., Alqarawi, A. A., Tabassum, B., Fathi, E., Chandra S., & Srivastava, R. K. (2019). *Fusarium oxysporum f. sp*. lycopersici causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity– A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *26*(7), 1315-1324. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.002
Steyaert, R. L. (1949). Contribution à l'étude monographique de *Pestalotia* de Not. et Monochaetia Sacc. (*Truncatella* gen. nov. et *Pestalotiopsis* gen. nov.). *Bulletin du Jardin botanique de l'État a Bruxelles*, *19*(3), 285-347. https://doi.org/10.2307/3666710
Stiles, M. E. (1996). Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, *70*, 331-345. https://doi.org/10.1007/BF00395940
Summerell, B. A., Leslie, J. F., Liew, E. C. Y., Laurence, M. H., Bullock, S., Petrovic, T., Bentley, A. R., Howard, C. G., Peterson, S. A., Walsh, J. L., & Burgess, L. W. (2011). *Fusarium* species associated with plants in Australia. *Fungal Diversity*, *46*, 1-27. https://doi.org/10.1007/s13225-010-0075-8
Tanya, M., & Leiva, M. (2019). Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas. *Centro Agrícola*, *46*(2), 93-103. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852019000200093
Tejera, B., Rojas, M. M., & Heydrich, M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista Centro Nacional de Investigaciones Cientificas. Ciencias Biológicas*, *42*(3), 131-138. http://www.redalyc.org/pdf/1812/181222321004.pdf
Tozlu, E., Tekiner, N., Kotan, R., & Örtücü, S. (2018). Investigation on the biological control of *Alternaria alternata. Indian Journal of Agricultural Sciences*, *88*(8).
Vasić, T., Jevremović, D., Krnjaja, V., Živković, S., & Trkulja, V. (2021). Morphological and molecular identification of *Fusarium oxysporum f. sp.* narcissi on poet's daffodil (*Narcissus poeticus L.*) in Serbia. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *128*, 1357-1361. https://doi.org/10.1007/s41348-021-00476-5
Velázquez, A., Covatzin, D., Toledo, M. D., & Vela, G. (2018). Bebida fermentada elaborada con bacterias ácido lácticas aisladas del pozol tradicional chiapaneco. *Revista Ciencia UAT*, *13*(1), 165-178. https://doi.org/https://doi.org/10.29059/cienciauat.v13i1.871
Vicente, A., Salgado, R., Valencia, E., Ramírez, A., Hernández, A., García, P., & Macías, L. (2019). *Bacillus methylotrophicus* M4-96 stimulates the growth of strawberry (*Fragaria × ananassa* 'Aromas') plants *in vitro* and slows *Botrytis cinerea* infection by two different methods of interaction. *Journal of Plant Growth Regulation*, *38*(3), 765-777. https://doi.org/10.1007/s00344-018-9888-6
Viera, W. F., Tello, C. M., Martínez, A. A., Navia, D. F., Medina, L. A., Delgado, A. G., Perdomo, C. E., Pincay, A. K., Báez, F. J., Vásquez, W. A., & Jackson,

T. (2020). Control biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, *8*(2), 128-149. https://doi.org/https://doi.org/10.36610/j.jsab.2020.080200128

Villarreal, M. F., Villa, E. D., Cira, L. A., Estrada, M. I., Parra, F. I., & Santos, S. D. l. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista mexicana de fitopatología*, *36*(1), 95-130. https://doi.org/https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5

Vu, T. X., Tran, T. B., Tran, M. B., Do, T. T. K., Do, L. M., Dinh, M. T., Thai, H. D., Pham, D. N., & Tran, V. T. (2023). Efficient control of the fungal pathogens *Colletotrichum gloeosporioides* and *Penicillium digitatum* infecting citrus fruits by native soilborne *Bacillus velezensis* strains. *Heliyon*, *9*(2), e13663. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13663

Wall, A., Olivas, F. J., Velderrain, G. R., González, A., Rosa, L. A. d. l., López, J. A., & Álvarez, E. (2015). El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud. *Nutrición Hospitalaria*, *31*(1), 67-75. https://doi.org/https://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7701

Wang, B., Lou, T., Wei, L., Chen, W., Huang, L., Ding, L., Zhao, W., Zhang, P., Sun, P., Chen, C., & Wang, K. (2021). Biochemical and molecular characterization of *Alternaria alternata* isolates highly resistant to procymidone from broccoli and cabbage. *Phytopathology Research*, *3*(1), 15. https://doi.org/10.1186/s42483-021-00092-z

Zakir, H. M., Fardush, J., Hossain, M. S., Islam, M. Z., Shariar, S. M. S., Rokshana, K., & Hossian, M. (2018). Effects of storage temperatures on different biochemical characteristics of 1-methylcyclopropene treated mango (*Mangifera Indica L.*) variety khirshapat. *American Journal of Food Science and Technology*, *6*(2), 76-82. https://doi.org/10.12691/ajfst-6-2-3