



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS TABASCO**

**POSGRADO DE CIENCIAS AGRÍCOLAS EN EL TRÓPICO**

## **CONTROL POSTCOSECHA DE LA PUDRICIÓN DE CORONA MEDIANTE SUSTANCIAS DE BAJA TOXICIDAD EN BANANO CV. ENANO GIGANTE**

**VIANEY GONZÁLEZ JIMÉNEZ**

**T E S I S**  
**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**  
**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**DOCTORA EN CIENCIAS**

**H. CÁRDENAS. TABASCO, MÉXICO**

**2023**



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis titulada: **CONTROL POSTCOSECHA DE LA PUDRICIÓN DE CORONA MEDIANTE SUSTANCIAS DE BAJA TOXICIDAD EN BANANO CV. ENANO GIGANTE** realizada por la estudiante: **Vianey González Jiménez** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS  
CIENCIAS AGRÍCOLAS EN EL TRÓPICO

## CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO

DR. PEDRO ANTONIO MOSCOSO RAMÍREZ

ASESOR

DR. CARLOS FREDY ORTIZ GARCÍA

ASESOR

DR. SAÚL SÁNCHEZ SOTO

ASESOR

DR. FRANCISCO MARCELO LARA VIVEROS

H. Cárdenas, Tabasco, México, mayo de 2023

# CONTROL POSTCOSECHA DE LA PUDRICIÓN DE CORONA MEDIANTE SUSTANCIAS DE BAJA TOXICIDAD EN BANANO CV. ENANO GIGANTE

Vianey González Jiménez, D.C.  
Colegio de Postgraduados, 2023

## RESUMEN

La pudrición de la corona (PC), es la principal enfermedad postcosecha del banano en México y en todas las áreas productoras del mundo. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de sustancias de baja toxicidad, tales como silicato de potasio (SP) (Capítulo 1), carbonato de potasio (CP) (Capítulo 2), bicarbonato de sodio (BS) (Capítulo 3) y silicato de sodio (SS) (Capítulo 4) sobre la pudrición de corona del banano cv. Enano Gigante. Se evaluó la actividad antifúngica de estas sustancias en postcosecha contra la PC del banano, inoculado artificialmente con el hongo *Colletotrichum musae*, incubado a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 7 días. Primeramente, los tratamientos con SP, CP, BS, y SS se probaron mediante experimentos *in vitro* y primarios *in vivo*. La concentración preliminar *in vivo* de 90 mM de SP, 170 mM de CP, 500 mM de BS en tratamientos curativos y 130 mM de SS en tratamientos preventivo fueron las más efectivas y se utilizaron para evaluar experimentos sobre la influencia de la temperatura de baños sobre la efectividad de las sustancias. Posteriormente, el mejor tratamiento (concentración) de SP, CP, BS y SS aplicado en baños a temperatura de  $40^\circ\text{C}$ , se evaluó solo o combinado con bajas dosis de tiabendazol (TBZ), por último, se evaluó el efecto de las sustancias sobre la calidad del plátano. El SP a 90 y 200 mM fueron los más efectivos para inhibir el crecimiento micelial (100%) y la germinación de conidios de *C. musae* (97%), respectivamente. El CP a 150 mM inhibió el crecimiento micelial (100%) y germinación de conidios (99%). El BS a 200 y 250 mM inhibió el crecimiento micelial (100%) y germinación de conidios de *C. musae* (100%), respectivamente. El SS a 70 mM inhibió el crecimiento micelial (100%) y SS a 110 mM inhibió la germinación de conidios (84%). En experimentos primarios *in vivo*, la concentración de SP a 90 mM redujo únicamente la severidad de PC hasta un 50% tanto en tratamientos preventivos como curativos. El CP a 175 mM redujo significativamente en un tercio a la incidencia (33.33%) en solo tratamientos curativos y fuertemente redujo la severidad (90.5%), de la enfermedad, en tratamientos curativos. El BS a 500 mM redujo la incidencia arriba de los dos tercios (77.80%), y altamente la severidad (92.90%) en tratamientos curativos. El SS a 130 mM redujo únicamente la severidad (50 y 78.6%) en tratamientos curativos y preventivos, respectivamente. La temperatura de  $40^\circ\text{C}$  de los baños incrementó significativamente la efectividad de las sustancias. SP $40^\circ\text{C}$ , CP $40^\circ\text{C}$ , y BS $40^\circ\text{C}$ , tuvieron reducciones de severidad de PC de 77.40, 98.8, y 97.6%, respectivamente, en tratamientos curativos. Mientras que SS $40^\circ\text{C}$  tuvo una reducción de la severidad de PC de 95.2% en tratamientos preventivos. Asimismo, CP $40^\circ\text{C}$  y BS $40^\circ\text{C}$  tuvieron una reducción de incidencia de PC de 91.7 y 83.3% en tratamientos curativos. Sólo BS y SP, de las cuatro sustancias evaluadas, mejoraron su efectividad de control contra PC cuando se combinaron con dosis bajas de TBZ. SP, CP, BS y SS no afectaron la calidad del fruto de banano.

**Palabras clave:** *C. musae*, tiabendazol, postcosecha, severidad, sustancias GRAS, calidad.

# POST-HARVEST CONTROL OF CROWN ROT THROUGH LOW TOXICITY SUBSTANCES IN BANANA CV. GIANT DWARF

Vianey González Jiménez, D.C.  
Colegio de Postgraduados, 2023

## ABSTRACT

Crown rot (CR) is the main postharvest disease of bananas in Mexico and in all producing areas of the world. The objective of the present investigation was to evaluate the effect of substances of low toxicity, such as potassium silicate (SP) (Chapter 1), potassium carbonate (CP) (Chapter 2), sodium bicarbonate (BS) (Chapter 3) and sodium silicate (SS) (Chapter 4) on banana crown rot cv. Giant Dwarf. The antifungal activity of these substances was evaluated in postharvest against PC of bananas, artificially inoculated with the fungus *Colletotrichum musae*, incubated at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  for 7 days. Firstly, the treatments with SP, CP, BS, and SS were tested by *in vitro* and *in vivo* primary experiments. The *in vivo* preliminary concentration of 90 mM SP, 170 mM CP, 500 mM in curative treatments BS and 130 mM in preventive treatments, SS were the most effective and they were used to evaluate experiments on the influence of dip temperature on the effectiveness of the substances. Subsequently, the best treatment (concentration) of SP, CP, BS and SS applied in dips at a temperature of  $40^\circ\text{C}$  was evaluated alone or combined with low doses of thiabendazole (TBZ), finally, the effect of the substances was tested on banana fruit quality. The SP at 90 and 200 mM were the most effective to inhibit mycelial growth (100%) and the germination of *C. musae* conidia (97%), respectively. CP at 150 mM inhibited mycelial growth (100%) and conidial germination (99%). BS at 200 and 250 mM inhibited the mycelial growth (100%) and the germination of *C. musae* conidia (100%), respectively. SS at 70 mM inhibited the mycelial growth (100%) and SS at 110 mM inhibited the conidial germination (84%). In *in vivo* primary experiments, SP at 90 mM applied alone reduced PC severity by up to 50% in both preventive and curative treatments. PC at 175 mM significantly reduced the incidence by one-third (33.33%) in only curative treatments and strongly reduced the severity (90.5%) of the disease in curative treatments. BS at 500 mM reduced the incidence by up to two-thirds (77.80%), and highly the severity (92.90%) in curative treatments. The SS at 130 mM only reduced the severity (50 and 78.6%) in curative and preventive treatments, respectively. The dip temperature of  $40^\circ\text{C}$  significantly increased the effectiveness of the substances. SP $40^\circ\text{C}$ , CP $40^\circ\text{C}$ , and BS $40^\circ\text{C}$  had CR severity reductions of 77.40, 98.8, and 97.6%, respectively, in curative treatments. While SS $40^\circ\text{C}$  had a 95.2% reduction in CR severity in preventive treatments. Likewise, CP $40^\circ\text{C}$  and BS $40^\circ\text{C}$  had a reduction in the incidence of CP of 91.7 and 83.3% in curative treatments. Only BS and SP, of the four substances evaluated, improved their control effectiveness against CR when combined with low doses of TBZ. SP, CP, BS and SS) did not affect the quality of the banana fruit.

**Key words:** *C. musae*, thiabendazole, postharvest, severity, GRAS substances, quality.

## AGRADECIMIENTOS

A **Jehová Dios** por todas sus bendiciones y fortalezas en cada paso de mi vida.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por la beca otorgada para la realización de mi estudio doctoral.

Al **Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco** por las instalaciones y facilidades para la realización de mis estudios.

Al **Postgrado de Ciencias Agrícolas en el Trópico (PRODOCAT)**, por permitirme realizar el doctorado en esta área tan maravillosa.

A mi consejero, el **Dr. Pedro Antonio Moscoso Ramírez**, por su disposición, consejos y compartir conmigo su gran experiencia en cada una de las actividades realizadas en mi investigación.

A los integrantes de mi consejo particular: **Dr. Carlos Fredy Ortiz García, Dr. Saúl Sánchez Soto, Dr. Francisco Marcelo Lara Viveros** por su apoyo, asesoría académica y facilidades ofrecidas para el desarrollo de mi tesis.

Al **Dr. Rubén García de la Cruz**, por facilitarme el área del laboratorio de control biológico para la incubación de la fruta inoculada del plátano.

A mis compañeros de generación otoño 2018-2022.

## DEDICATORIA

**A mi hijo Derek**, porque el éxito de mi vida es tenerte,

verte crecer y que seas

una buena persona.

Eres la historia más maravillosa

que el destino escribió en mi vida.

Te amo hijo

## CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	v
AGRADECIMIENTOS.....	vi
DEDICATORIA.....	vii
LISTAS DE CUADROS.....	xv
LISTA DE FIGURAS.....	xvi
ABREVIATURAS.....	xix
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	4
Objetivo general.....	4
Objetivos particulares.....	4
Hipótesis.....	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
Importancia del banano.....	5
Manejo postcosecha.....	6
Etapas del manejo postcosecha del plátano.....	7
Embolsado.....	7
Cosecha.....	8
Transporte de racimos por cable vía.....	8
Desmanado y lavado de la fruta.....	8
Tratamiento fungicida.....	8
Empaque.....	9
Maduración.....	9
Maduración artificial.....	10
Tratamiento de gas etileno.....	10
Tratamiento de acetileno.....	10
Tratamiento de Etefón.....	10
Temperatura.....	11
Daños por frío.....	11
Refrigeración y transporte.....	11



Pudrición de la corona .....	12
Importancia de la enfermedad y agente causal .....	12
Síntomas .....	13
Etiología de la enfermedad .....	13
Control químico convencional de la enfermedad .....	14
Sustancias de baja toxicidad en el control de enfermedades postcosecha .....	15
Carbonato de potasio .....	15
Silicio.....	16
Bicarbonato de sodio.....	17
<b>CAPÍTULO I. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL SILICATO DE POTASIO PARA CONTROLAR LA PUDRICIÓN DE LA CORONA EN BANANO.....</b>	<b>18</b>
1.1. RESUMEN.....	18
1.2. ABSTRACT .....	19
1.3. INTRODUCCIÓN.....	20
1.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
1.4.1. Patógeno fúngico.....	21
1.4.2. Experimentos <i>in vitro</i> .....	21
1.4.2.1. Efecto del silicato de potasio en el crecimiento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> .....	21
1.4.2.2. Efecto del silicato de potasio en la germinación de conidios de <i>Colletotrichum musae</i> .....	22
1.4.3. Experimentos <i>in vivo</i> .....	23
1.4.3.1. Fruta.....	23
1.4.3.2. Desinfección y maduración artificial de la fruta .....	23
1.4.3.3. Preparación de la suspensión de conidios de <i>C. musae</i> .....	24
1.4.3.4. Efecto del silicato de potasio sobre la pudrición de la corona en experimentos primarios <i>in vivo</i> .....	24
1.4.3.5. Tratamiento preventivo y curativo.....	24
1.4.3.6. Influencia de la temperatura de baño en la efectividad del silicato de potasio .....	26

1.4.3.7. Actividad antifúngica del silicato de potasio sólo o combinado con tiabendazol.....	27
1.4.3.8. Efecto del silicato de potasio en la calidad del banano .....	28
1.4.3.9. Análisis estadístico .....	29
1.5. RESULTADOS .....	29
1.5.1. Experimentos <i>in vitro</i> .....	29
1.5.1.2. Efecto del silicato de potasio sobre el crecimiento micelial de <i>C. musae</i> .....	29
1.5.1.3. Efecto del silicato de potasio sobre la germinación de conidios de <i>C. musae</i> .....	30
1.5.1.4. Efecto del silicato de potasio sobre la pudrición de la corona en experimentos primarios <i>in vivo</i> .....	31
1.5.1.5. Influencia de la temperatura de baño en la efectividad de silicato de potasio sobre la pudrición de la corona .....	32
1.5.1.6. Actividad antifúngica del silicato de potasio sólo o combinado con tiabendazol.....	33
1.5.1.7. Efecto del silicato de potasio en la calidad del banano .....	34
1.6. DISCUSIÓN.....	35
1.7. CONCLUSIÓN.....	40
CAPÍTULO II. CONTROL DE PUDRICIÓN DE LA CORONA CON CARBONATO DE POTASIO EN BANANO CV. ENANO GIGANTE.....	41
2.1. RESUMEN.....	41
2.2. ABSTRACT .....	41
2.3. INTRODUCCIÓN.....	42
2.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	44
2.4.1. Patógeno fúngico.....	44
2.4.2. Experimentos <i>in vitro</i> .....	44
2.4.2.1. Efecto del carbonato de potasio en el crecimiento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> .....	44
2.4.2.2. Efecto del carbonato de potasio en la germinación de conidios de <i>Colletotrichum musae</i> .....	45

2.4.3. Experimentos <i>in vivo</i> .....	46
2.4.3.1. Fruta.....	46
2.4.3.2. Desinfección y maduración artificial de la fruta .....	46
2.4.3.3. Preparación de la suspensión de conidios de <i>C. musae</i> .....	46
2.4.3.4 Efecto del carbonato de potasio sobre la pudrición de corona en experimentos primarios <i>in vivo</i> .....	47
2.4.3.5. Influencia de la temperatura de baño en la efectividad de carbonato de potasio.....	48
2.4.3.6. Actividad antifúngica del carbonato de potasio solo o combinado con dosis bajas de tiabendazol .....	50
2.4.3.7. Efecto del carbonato de potasio en la calidad del banano .....	51
2.4.3.8. Análisis estadístico .....	52
2.5. RESULTADOS .....	52
2.5.1 Efecto del carbonato de potasio en el crecimiento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> .....	52
2.5.2. Efecto del carbonato de potasio en la germinación de conidios de <i>Colletotrichum musae</i> .....	53
2.5.3. Efecto del carbonato de potasio sobre la pudrición de corona en experimentos primarios <i>in vivo</i> .....	54
2.5.4. Influencia de la temperatura de baño en la efectividad de carbonato de potasio.....	57
2.5.5. Actividad antifúngica del carbonato de potasio solo o combinado con dosis bajas de tiabendazol .....	59
2.5.6. Efecto del carbonato de potasio en la calidad del banano .....	60
2.6. DISCUSIÓN.....	60
2.7. CONCLUSIÓN.....	64
CAPITULO III. EVALUATION OF POSTHARVEST TREATMENTS WITH SODIUM BICARBONATE AGAINST CROWN ROT IN BANANA CV. ENANO GIGANTE .....	65
3.1. ABSTRACT .....	65
3.2. RESUMEN.....	65
3.3. INTRODUCTION .....	66

3.4. MATERIALS AND METHODS .....	67
3.4.1. Fungal pathogen.....	67
3.4.2. <i>In vitro</i> experiments .....	67
3.4.2.1. Effect of the sodium bicarbonate on the mycelial growth of <i>C. musae</i> .....	67
3.4.2.2. Effect of the sodium bicarbonate on the conidia germination of <i>C. musae</i> .....	68
3.4.3. <i>In vivo</i> experiments.....	69
3.4.3.1. Fruit .....	69
3.4.3.2. Disinfection and artificial ripening of fruit.....	69
3.4.3.3. Preparation of the conidia suspension of <i>C. musae</i> .....	69
3.4.3.4. Inoculation of <i>C. musae</i> .....	70
3.4.3.5. Effect of the sodium bicarbonate on the crown rot in <i>in vivo</i> primary experiments.....	70
3.4.3.6. Influence of dip temperature on the sodium bicarbonate effectiveness .....	71
3.4.3.7. Antifungal activity of sodium bicarbonate alone or combined with low doses of thiabendazole.....	72
3.4.3.8. Effect of the sodium bicarbonate on the quality .....	73
3.4.3.9. Statistical mycelial .....	75
3.5. RESULTS .....	75
3.5.1. <i>In vitro</i> Experiments .....	75
3.5.1.2. Effect of sodium bicarbonate on the mycelial growth of <i>C. musae</i> .....	75
3.5.1.3. Effect of sodium bicarbonate on the conidia germination of <i>C. musae</i> .....	76
3.5.1.4. <i>In vivo</i> primary effect of sodium bicarbonate on the crown rot disease .....	77
3.5.1.5. Influence of the dip temperature on the sodium bicarbonate effectiveness .....	79
3.5.1.6. Effect of sodium bicarbonate alone or combined with thiabendazole fungicide.....	81

3.5.1.7. Effect of sodium bicarbonate on banana quality .....	82
3.6. DISCUSSION .....	83
3.7. CONCLUSSION .....	87
CAPÍTULO IV. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA PREVENTIVA Y CURATIVA DEL SILICATO DE SODIO SOBRE LA PUDRICIÓN DE LA CORONA EN BANANO CV. ENANO GIGANTE .....	
4.1. RESUMEN.....	88
4.2. ABSTRACT .....	89
4.3. INTRODUCCIÓN.....	89
4.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	90
4.4.1. Patógeno fúngico.....	90
4.4.2. Experimentos <i>in vitro</i> .....	91
4.4.2.1. Efecto del silicato de sodio en el crecimiento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> .....	91
4.4.2.2. Efecto del silicato de sodio en la germinación de conidios de <i>Colletotrichum musae</i> .....	92
4.4.2.3. Fruta.....	93
4.4.2.4. Desinfección y maduración artificial de la fruta .....	93
4.4.2.3. Preparación de la suspensión de conidios de <i>C. musae</i> .....	93
4.4.2.4. Efecto del silicato de sodio sobre la pudrición de corona en experimentos primarios <i>in vivo</i> .....	93
4.4.2.5. Influencia de la temperatura de baño en la efectividad del silicato de sodio .....	95
4.4.2.6. Actividad antifúngica del silicato de sodio solo o combinado con dosis bajas de tiabendazol .....	97
4.4.2.7. Efecto del silicato de sodio en la calidad del banano .....	98
4.4.2.8. Análisis estadístico .....	99
4.5. RESULTADOS .....	99
4.5.1. Efecto del silicato de sodio en el crecimiento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> .....	99

4.5.2. Efecto del silicato de sodio en la germinación de conidios de <i>Colletotrichum musae</i> .....	100
4.5.3. Efecto del silicato de sodio sobre la pudrición de corona en experimentos primarios <i>in vivo</i> .....	101
4.5.4. Influencia de la temperatura de baño en la efectividad del silicato de sodio .....	102
4.5.5. Actividad antifúngica del silicato de sodio solo o combinado con dosis bajas de tiabendazol.....	104
4.5.6. Efecto del silicato de sodio en la calidad del banano .....	105
4.6. DISCUSIÓN.....	105
4.7. CONCLUSIÓN .....	109
DISCUSIÓN GENERAL .....	110
CONCLUSIÓN GENERAL .....	115
LITERATURA CITADA .....	116
ANEXOS.....	131

## LISTAS DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Fungicidas utilizados para controlar las enfermedades postcosecha de banano .....	15
<b>Cuadro 1.1.</b> Efecto del silicato de potasio en la calidad del banano .....	35
<b>Cuadro 2.1.</b> Efecto del carbonato de potasio en la calidad del banano .....	60
<b>Table 3.1.</b> Effect of sodium bicarbonate on the quality of banana fruit .....	83
<b>Cuadro 4.1.</b> Efecto del silicato de sodio en la calidad del banano. ....	105
<b>Cuadro 2.</b> Comparación de las sustancias GRAS en la reducción de incidencia y severidad de la pudrición de la corona en banano .....	112

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b> Índice de clasificación visual de severidad de la pudrición de la corona de la mano del banano.....	25
<b>Figura 1.2.</b> Efecto <i>in vitro</i> del silicato de potasio sobre la inhibición de crecimiento micelial de <i>C. musae</i> después de 9 días de incubación a 25°C a oscuridad. ....	30
<b>Figura 1.3.</b> Efecto del silicato de potasio sobre la germinación de conidios de <i>C. musae</i> incubados a 25°C a oscuridad durante 12 h. ....	31
<b>Figura 1.4.</b> Efecto del silicato de potasio sobre la pudrición de la corona en banano cv. Enano Gigante en experimentos primarios <i>in vivo</i> , inoculado artificialmente con <i>C. musae</i> tratado 1 h antes o después, e incubado durante 7 d a 25 ± 1°C y 80-90% de HR. ....	32
<b>Figura 1.5.</b> Efecto de temperatura de baño sobre la efectividad de silicato de potasio a 90 mM durante 20 min sobre la pudrición de la corona en banano Enano Gigante, inoculado artificialmente con <i>C. musae</i> tratado 1 h antes o después, e incubado durante 7 d 25 ± 1°C y 80-90% de HR.....	33
<b>Figura 1.6.</b> Efecto de silicato de potasio solo o combinado con TBZ sobre la pudrición de la corona en plátano cv. Enano Gigante, inoculado artificialmente con <i>C. musae</i> , tratado 1 h más tarde durante 20 min a 40°C.....	34
<b>Figura 2.1.</b> Índice de clasificación visual de severidad de la pudrición de la corona de la mano del banano.....	48
<b>Figura 2.2.</b> Efecto <i>in vitro</i> del carbonato de potasio sobre la inhibición de crecimiento micelial de <i>C. musae</i> después de 9 días de incubación a 25°C a oscuridad. ....	53
<b>Figura 2.3.</b> Efecto del carbonato de potasio sobre la germinación de conidios de <i>C. musae</i> incubados a 25°C a oscuridad durante 12 h. ....	54
<b>Figura 2.4.</b> Efecto del carbonato de potasio sobre la pudrición de la corona en banano cv. Enano Gigante en experimentos primarios <i>in vivo</i> , inoculado artificialmente con <i>C. musae</i> tratado 1 h antes o después, e incubado durante 7 días a 25 ± 1°C y 80-90% de HR.....	56



<b>Figura 2.5.</b> Efecto de temperatura de baño sobre la efectividad del carbonato de potasio a 175 mM durante 20 min sobre la pudrición de la corona en banano Enano Gigante, inoculado artificialmente con <i>C. musae</i> tratado 1 h antes o después, e incubado durante 7 d 25 ± 1°C y 80-90% de HR. ....	58
<b>Figura 2.6.</b> Efecto del carbonato de potasio solo o combinado con TBZ sobre la pudrición de la corona en plátano cv. Enano Gigante inoculado artificialmente con <i>C. musae</i> tratado 1 h antes o después, e incubado durante 7 d a 25 ± 1°C y 80-90% de HR. ....	59
<b>Figure 3.1.</b> Severity visual mycelial CR in banana.....	71
<b>Figure 3.2.</b> Effect of the sodium bicarbonate on the mycelial growth of <i>Colletotrichum musae</i> at 25°C after 9 d of incubation. ....	76
<b>Figure 3.3.</b> Effect of the sodium bicarbonate on the conidia germination of <i>Colletotrichum musae</i> at 25°C after 12 h of incubation.....	77
<b>Figure 3.4.</b> Curative and preventive effect of sodium bicarbonate at different concentrations on mycel rot (CR) in <i>in vivo</i> primary experiments in banana cv. Enano Gigante artificially inoculated with <i>Colletotrichum musae</i> treated 1 h before or after, and incubated for 7 d at 25 ± 1°C and 80-90% RH.....	78
<b>Figure 3.5.</b> Effect of dip temperature on the effectiveness of water alone or 500 mM sodium bicarbonate (SB) for 20 min to control crown rot (CR) on banana cv. Enano Gigante artificially inoculated with <i>Colletotrichum musae</i> , treated 1 h before or after, and incubated for 7 d at 25 ± 1°C and 80-90% RH. Reductions of disease incidence and severity were determined with respect to control crown treated with water (incidence and severity of 100% for both treatment types for all temperatures). For each treatment type, columns with different letters indicate significantly different dip temperature, according to Fisher's protected LSD test ( $P \leq 0.05$ ) applied after an ANOVA to the arcsine-transformed values. Non-transformed means are shown. WI = Treatment without inoculate. ....	80
<b>Figure 3.6.</b> Effectiveness of 500 mM sodium bicarbonate alone (SB), 225 µL L <sup>-1</sup> tiabendazole (TBZ 225), 450 µL L <sup>-1</sup> tiabendazole (TBZ 450), 600 µL L <sup>-1</sup> tiabendazole (TBZ 600) and combination of 500 mM SB and 225 µL L <sup>-1</sup>	

TBZ (SB + TBZ) to control crown rot (CR) on banana cv. Enano Gigante artificially inoculated with *Colletotrichum musae*, treated 1 h later for 20 min at 40°C, and incubated for 7 d at 25 ± 1°C and 80-90% RH. Reductions of disease incidence and severity were determined with respect to control crown treated with water (incidence and severity of 100%). For each variable, columns with different letters are significantly different according to Fisher's protected LSD test ( $P \leq 0.05$ ) applied after an ANOVA to the arcsine-transformed values. Non-transformed means are shown. WI = Treatment without inoculate. .... 82

**Figura 4.1.** Índice de clasificación visual de severidad de la pudrición de la corona de la mano del banano. .... 95

**Figura 4.2.** Efecto *in vitro* del silicato de sodio sobre la inhibición de crecimiento micelial de *C. musae* después de 9 días de incubación a 25°C a oscuridad. .... 100

**Figura 4.3.** Efecto del silicato de sodio sobre la germinación de conidios de *C. musae* incubados a 25°C a oscuridad durante 12 h. .... 101

**Figura 4.4.** Efecto del silicato de sodio sobre la pudrición de la corona en banano cv. Enano Gigante en experimentos primarios *in vivo*. .... 102

**Figura 4.5.** Efecto de la temperatura de baño sobre la efectividad del silicato de sodio a 130 mM durante 20 min sobre la pudrición de la corona en banano. .... 103

**Figura 4.6.** Efecto del silicato de sodio solo o combinado con TBZ sobre la pudrición de la corona en plátano cv. Enano Gigante. .... 104

## ABREVIATURAS

PC	Pudrición de la Corona
SP	Silicato de Potasio
CP	Carbonato de Potasio
BS	Bicarbonato de Sodio
SS	Silicato de Sodio
TBZ	Tiabendazol
mM	milimolar
GRAS	Generalmente Reconocido como Seguro
PDA	Papa Dextrosa Agar
µL	microlitro
ANOVA	Análisis de Varianza
°C	Grados centígrados
mL	mililitros
L	Litros
ppm	partes por millón
HR	Humedad relativa
CR	Crown Rot
h	horas
s	segundos

## INTRODUCCIÓN GENERAL

Los plátanos son cultivados en los trópicos y subtrópicos, con una producción de 150 millones toneladas anuales, India es el país productor más grande, seguido por China, Indonesia, Ecuador y Filipinas, quienes aportan el 53% de la producción mundial total (FAO, 2020). México es el décimo segundo productor de plátano a nivel mundial con 2,384,778 toneladas por año (FAO, 2020), la mayor producción se localiza en el sureste del país. Los estados de Chiapas y Tabasco ocupan el primer y segundo lugar en producción, respectivamente (SIAP-SADER, 2019). En Tabasco, los cultivares con mayor superficie sembradas son: banano Enano Gigante o gran enano Musa AAA Cavendish (68%), plátano macho Musa AAB Plantain (29%) y plátano dátil Musa AA (3%) (Osorio *et al.*, 2007).

Los cultivares de plátano poseen una importancia económica significativa agroalimentaria para el país, y constituye un componente básico en la dieta de la población (Martínez *et al.*, 2004). Anualmente se exportan 23.3 millones de toneladas de la fruta, con una derrama monetaria superior a 13 mil 561 millones de dólares. Estados Unidos es el máximo importador de plátanos del mundo y Ecuador el principal exportador (FAO, 2020).

La infección por hongos en las plantas es la causa más frecuente de pérdidas extensas en la agricultura (Maqbool *et al.*, 2010). El hecho de que muchos hongos endofíticos pueden causar infección agrega complejidad adicional a los hongos fitopatógenos y en el caso del banano las frutas son altamente susceptibles a los patógenos (Basel *et al.*, 2002).

El banano (*Musa acuminata* L.) es una fruta tropical altamente perecedera que tiene una vida postcosecha corta y sufre pérdidas graves después de la cosecha (De Costa and Erabadupitiya, 2005). La pudrición de la corona (PC) causada por un complejo fúngico, *Colletotrichum musae* (Finlay and Brown, 1993), *Thielaviopsis paradoxa* (Alvindhia *et al.*, 2002) y *Fusarium* spp (Alvindhia *et al.*, 2000; Hirata *et al.*, 2001; Jimenez *et al.*, 1993), es la principal enfermedad postcosecha (Kyu *et al.*, 2007; Mirshekari *et al.*, 2012) en México y de todas las áreas productoras de banano en todo el mundo (Lassois *et al.*, 2008). La

enfermedad es más severa cuando las combinaciones de patógenos virulentos atacan a la fruta (Zhimo *et al.*, 2017). La pudrición de la corona tiene mucha importancia en la exportación de banano y su incidencia es más frecuente durante o después de la maduración forzada del plátano (Ranasinghe *et al.*, 2003).

Los síntomas de la enfermedad aparecen sobre la superficie de corte de la corona, en forma de media luna, donde el tejido se vuelve negro y suave. Aparece moho blanco, gris o rosado en la superficie del corte de la corona y la infección fúngica puede alcanzar el pedicelo de los dedos e invadir finalmente hasta alcanzar a estos (Kyu *et al.*, 2007).

Algunos hongos están involucrados en más de una enfermedad en los bananos, como *Colletotrichum musae*, que puede causar tanto la pudrición de la corona como la antracnosis; además, estos patógenos pueden existir en los campos de banano como saprófitos en hojas de banano o tejidos de inflorescencia muertos (Nelson, 2008). La incidencia de la enfermedad aumenta periódicamente en las temporadas de lluvias (Krauss and Johanson, 2000), condición ambiental que es muy recurrente en las principales zonas productoras de plátano en Tabasco.

La pudrición de corona es una enfermedad que se presenta durante la fase de postcosecha en frutos de bananos y plátanos en todo el mundo (Kamel *et al.*, 2016). Esta enfermedad causa importantes pérdidas económicas durante el transporte, y el almacenamiento en el período de maduración (Mohamed *et al.*, 2016), lo que representa un problema grave para la exportación, ya que deteriora la calidad de la fruta y limita la aceptación de los consumidores (Umana-Rojas and García, 2011; Aguilar *et al.*, 2013).

Actualmente, en la literatura científica disponible generada en el estado de Tabasco, no se reportan estudios para el control sanitario de la pudrición de la corona del plátano. Sin embargo, en la mayoría de las empacadoras comerciales de plátano los municipios de Teapa y Cunduacán aplican fungicidas para el control de esta enfermedad, principalmente si la fruta es para destino nacional o exportación (Moscoso-Ramírez, P.A., Comunicación Personal, 15 de octubre 2018).

El manejo de la enfermedad se realiza principalmente con fungicidas químicos sintéticos convencionales (procloraz, imazalil, y tiabendazol). Sin embargo, estos fungicidas traen

consigo varios problemas: i) contaminación del medio ambiente, ii) acumulación de residuos en el fruto por arriba del límite permisible y iii) aparición de cepas del hongo resistentes a los fungicidas (Jinasena *et al.*, 2011; Gatto *et al.*, 2011). Debido a lo anterior, la presente investigación propone evaluar el efecto de sustancias de baja toxicidad, generalmente reconocidas como compuestos seguros (GRAS), tales como silicato de potasio, silicato de sodio, carbonato de potasio y bicarbonato de sodio para el control de pudrición de la corona del banano. Una de las ventajas de las sustancias GRAS, es que ya están incluidas en la lista de aditivos alimentarios aprobados por la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos) y no se necesitarían realizar estudios toxicológicos.

## OBJETIVOS E HIPÓTESIS

### Objetivo general

Evaluar el efecto de sustancias de baja toxicidad como silicato de potasio (SP), silicato de sodio (SS), carbonato de potasio (CP) y bicarbonato de sodio (BS) sobre la pudrición de corona del banano.

### Objetivos particulares

- 1) Evaluar *in vitro* el efecto de SP, CP, BS y SS sobre el hongo *Colletotrichum musae* causante de la pudrición de corona.
- 2) Determinar el efecto curativo o preventivo del SP, CP, BS, y SS sobre la pudrición de corona en experimentos primarios *in vivo*.
- 3) Optimizar la temperatura de baño de SP, CP, BS, y SS sobre la pudrición de corona.
- 4) Evaluar la actividad antifúngica de SP, CP, BS, y SS solos o con dosis bajas de tiabendazol sobre la pudrición de corona.
- 5) Determinar el efecto de SP, CP, BS, y SS en la calidad del banano.

### Hipótesis

- 1) El SP, CP, BS, y SS inhiben el crecimiento micelial y la germinación de conidios de *C. musae in vitro*.
- 2) El SP, CP, BS, y SS tienen un efecto curativo o preventivo *in vivo* sobre la pudrición de corona.
- 3) La temperatura de baño incrementa la efectividad de SP, CP, BS, y SS sobre la pudrición de corona del banano.
- 4) El SP, CP, BS, y SS combinadas con dosis bajas de TBZ mejoran el control de la pudrición de la corona del banano.
- 5) La calidad externa e interna del banano se conservan con el uso del SP, CP, BS, y SS.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Importancia del banano

Se producen más de 150 millones de toneladas de plátano y banano en todo el mundo en alrededor de 5 millones de hectáreas y se espera que el área cultivada aumente en el futuro (FAO, 2020). El plátano (*Musa sp.*) es uno de los cultivos alimenticios más importantes del mundo y un alimento básico para más de 400 millones de personas (Holscher *et al.*, 2014).

En México se le conoce como “plátano macho” a la variedad de plátano más grande. Su color inicial es verde, pero conforme va madurando su pulpa es amarilla con varias manchas o rayones negros y marrones, su piel o cáscara es mucho más gruesa que la del banano y suele comerse después de un proceso de cocción. Se conoce como banano al fruto cubierto de una cáscara verde, cuando la fruta es inmadura y amarilla cuando está madura. Su pulpa es de color blanco, de forma cilíndrica y suele consumirse en fresco (Álvarez and Rosales, 2013).

El consumo de banano como fruta fresca, supera a todas las demás frutas. Los bananos del grupo Cavendish (Enano Gigante y Valery) son los cultivares de mayor producción en el mundo (47%). Le siguen los plátanos de cocción del grupo genómico AAB (17%) y el cultivar gros Michel (12%) (Flores-López *et al.*, 2014). En el año 2019 a nivel nacional el rendimiento promedio por hectárea fue de 41.2 t ha<sup>-1</sup> en la modalidad de riego y 22.2 t ha<sup>-1</sup> en la modalidad de temporal.

En ese mismo año, se exportaron 23.3 millones de toneladas de bananas, el principal comprador de las exportaciones de los plátanos mexicanos es Estados Unidos (70.1%), seguido en menor proporción por Holanda, Reino Unido, España y Japón, quienes en conjunto suman poco más del 20 % (SIAP-SADER, 2019). El estado de Tabasco en 2008 Aceves-Navarro *et al.*, (2008) estimaron un potencial edafoclimático de 241,991 hectáreas y un rendimiento potencial de 83.7 t ha<sup>-1</sup>.



## Manejo postcosecha

El banano es una fruta climatérica (Knee, 2008). La postcosecha es el conjunto de procesos integrados y secuencializados que en principio van desde la clasificación, selección, lavado, limpiado y empaque del producto hortofrutícola, hasta que llegue al mercado o industria procesadora (León and Mejía, 2002). La maduración es un proceso fisiológico irreversible, por lo que únicamente se puede retrasar. Los principales cambios que ocurren en los frutos de plátano durante la maduración son el aumento de la respiración y la producción de etileno; ablandamiento del fruto; además, la conversión masiva de almidón a azúcares en la pulpa (kesari *et al.*, 2007).

La importancia del proceso postcosecha del plátano radica en prevenir enfermedades postcosecha (pudrición de la corona), madurez inadecuada o heterogeneidad en los lotes, lo cual garantiza que el fruto llegue al cliente en condiciones óptimas, es decir, es fundamental para la comercialización del producto (Riofrio, 2003).

Las exigencias del mercado internacional de las bananas hacen necesaria la implementación de prácticas culturales de manejo y protección de frutas para lograr los estándares de calidad. Independientemente del mercado de destino, las bananas empacadas deben presentar las siguientes características: verdes, sin madurar, enteras, consistentes, sanas, limpias, con el pedúnculo intacto, desprovistos de restos florales, exentos de deformaciones y sin curvaturas anormales de los dedos, libres de magulladuras, sin humedad exterior, libres de olores o sabores extraños. Deben, soportar el transporte y manipulación, llegar en estado satisfactorio al lugar de destino y cumplir con las normas de seguridad alimentaria, en cuanto a nutrición e inocuidad (Céspedes, 2004).

La clasificación del fruto se hace de acuerdo con las características físicas como el tamaño (longitud y diámetro), el grado de madurez y la categoría (extra, primera y segunda). La calidad física se sustenta en la apariencia de la fruta (tamaño, forma, color, brillo, firmeza, ausencia de defectos y deterioro). La calidad nutricional se determina por la presencia de minerales, vitaminas, fibra alimenticia, pH, sólidos solubles totales y acidez (Millán y Ciro, 2012., Knee, 2008).

Los bananos deben cosecharse verdes con un grado óptimo de madurez fisiológica, para esto se utiliza un calibre de medida. La calibración se realiza un día antes de la cosecha en el dedo central de la fila externa, el más utilizado es de 3.9 cm en la segunda y 4.6 cm en la penúltima mano de abajo hacia arriba del racimo. La cosecha puede realizarse a las 12 semanas después de la emergencia de la inflorescencia, este periodo puede variar dependiendo de la temperatura ambiente, en verano puede darse entre las 10 a 11 semanas y en el invierno puede llegar a las 14 semanas (Torres, 2012).

Para México la cosecha se realiza cuando el racimo haya alcanzado el grado de corte. Un indicador para la cosecha es medir con calibre especiales el grosor del dedo o el plátano central de la segunda mano del racimo, contada de abajo hacia arriba, el cual debe tener entre 3.0 y 3.5 cm de diámetro. Esto va a estar en función de la variedad que se tenga en la plantación. En la variedad Enano Gigante se adquiere su grado de corte aproximadamente a las 14 semanas de edad (Garrido-Ramírez *et al.*, 2011).

La cosecha del racimo de banano para exportación se realiza considerando la edad fisiológica del mismo, así como el grosor del fruto central de la fila externa de la segunda mano basal, ambos preestablecidos y determinados fundamentalmente en función de la época del año y de las especificaciones de los frutos de acuerdo con el mercado de destino (Jaramillo, 1982; Soto, 1992; Robinson y Galán-Sauco, 2010).

## **Etapas del manejo postcosecha del plátano**

### **Embolsado**

El embolsado consiste en proteger el racimo con una bolsa plástica de polietileno del ataque de plagas, enfermedades, viento, sol y productos químicos, permitiendo un microclima favorable para el desarrollo rápido y vigoroso de los dedos y manos del racimo. Esta actividad permite mantener la calidad de la fruta al momento del proceso de empaque, durante el embolsado se colocan cintas de diferentes colores, las cuales sirven para la identificación del grado o edad de maduración del racimo a la cosecha, indicando la semana correspondiente (Robinson 1996., Chillet and Jannoyer 1996).

## **Cosecha**

Consiste en cortar de manera manual y transportar a la empacadora todos los racimos aptos para procesar, según la orden de corte emitida con anterioridad, sobre la base de una estimación semanal proporcionada por los productores (Céspedes, 2004).

## **Transporte de racimos por cable vía**

El transporte de los racimos de plátanos se lleva a cabo por cable vía hacia la empacadora y cada cortador transporta una carga de alrededor de 20 racimos, de esta actividad depende mucho la calidad de la fruta al llegar a la planta empacadora (Soto, 2008., Jhon, 2015).

## **Desmanado y lavado de la fruta**

Para esta técnica se recomienda construir dos tinas, una de desmane y otra de “desleche”, para el lavado de las frutas los tanques deben tener agua limpia previamente tratada, en la tina de desmane se vierten las manos de los racimos, se lavan y seccionan en gajos eliminando los dedos con defectos provenientes del campo, el recorrido de la fruta en la tina “desleche” se debe realizar de un extremo a otro por 10 ó 15 minutos para eliminar el látex y bajar la temperatura de campo (Céspedes, 2004).

## **Tratamiento fungicida**

La pudrición de la corona afecta en gran medida la calidad del banano y la vida postcosecha, la fruta de banano es muy susceptible al crecimiento microbiano durante el transporte o los procesos de maduración posteriores, para reducir esta incidencia, es importante realizar cortes limpios durante el desmantelamiento y preparación de racimos.

En la empacadora se pueden utilizar diferentes fungicidas dependiendo del país productor, es recomendable utilizar fungicidas autorizados y al menos las dosis adecuadas para evitar superar el límite máximo de residuos (LMR). (Lobo and Montero, 2020).

## **Empaque**

Consiste en acomodar los gajos en el envase de cartón corrugado con capacidades de 13.61, 17 y 18.5 kg, según especificaciones, en función al tamaño y peso de fruta, se utilizan patrones de empaque de cuatro y cinco filas. El método empaque al vacío se usa para la exportación a mercados lejanos, constituido por una bolsa de polietileno que permite extraer el aire después del empaque, utilizando una aspiradora, hasta que el polietileno se adhiera sobre la superficie de los dedos del banano (Céspedes, 2004).

## **Maduración**

El banano es una fruta climatérica, su tasa de respiración aumenta sustancialmente durante la maduración en contraste con la tasa de respiración de las frutas no climatéricas. El azúcar y los ácidos orgánicos son dos sustratos respiratorios principales que se encuentran en todas las frutas; están en gran parte aislados dentro de las vacuolas. La composición de azúcar y ácidos orgánicos contribuye a la formación del sabor en la fruta y afecta su sabor (Hailu *et al.*, 2013).

El banano se cosecha en la etapa de madurez verde (grado de madurez 1: madurez fisiológica) cuando la tasa de respiración es baja y la producción de etileno es casi indetectable. A esta etapa también se le denomina “vida verde” o “período pre-climatérico”, la tasa de respiración de los bananos Cavendish verdes es de aproximadamente  $20 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$  cuando se almacenan durante un par de días a  $20^\circ\text{C}$  (Hailu *et al.*, 2013).

En el pico climatérico de cuatro días de almacenamiento, la tasa de respiración aumenta significativamente hasta  $250 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$  después de lo cual declina gradualmente en la etapa posclimatérica (Xu *et al.*, 2019). La madurez en la cosecha es un factor importante que afecta la percepción de la calidad y la tasa de cambio de la calidad durante el manejo postcosecha, ya que, conociendo el estado de madurez del banano, se puede programar con eficiencia las operaciones de cosecha, manipulación y comercialización (Dadzie, 1997).

### **Maduración artificial**

El banano se cosecha para el mercado comercial en la etapa verde madura o pre-climatérica. El banano madurado naturalmente no es apropiado para fines comerciales porque las frutas se sobremaduran durante la distribución debido a la naturaleza de la fruta climatérica; por lo tanto, la maduración del banano es una tecnología poscosecha que se considera importante para minimizar las pérdidas durante el transporte, lograr una distribución oportuna y cumplir con las expectativas del consumidor (Maduwanthi and Marapana, 2019).

### **Tratamiento de gas etileno**

El etileno ( $C_2H_4$ ) es un gas producido por las plantas el cual es responsable de activar y controlar los mecanismos fisiológicos, de desarrollo, regulación del crecimiento, maduración y senescencia que puede inducir cambios indeseables en el color, sabor y textura de las frutas y verduras e incrementa la susceptibilidad al deterioro microbiano (Álvarez-Hernández *et al.*, 2020). El gas etileno ( $C_2H_4$ ) se usa aplicando el producto en forma de gas a los bananos para la maduración artificial, a una concentración de 10-150 ppm durante 2–3 días (Saltveit, 1999).

### **Tratamiento de acetileno**

El carburo de calcio ( $CaC_2$ ) se puede hidrolizar en acetileno ( $C_2H_2$ ), que actúa como un análogo de etileno y estimula la maduración de la fruta. El acetileno puede producir en las frutas de bananos una maduración óptima, con un color amarillo uniforme, buen sabor, contenido medio de almidón y textura comparativamente suave después de 120 h de tratamiento (Akter *et al.*, 2020).

### **Tratamiento de Etefón**

El etefón o ácido 2-cloroetilfosfónico se puede utilizar como agente de maduración alternativo, ya que actúa como un compuesto liberador de  $C_2H_4$  dentro de la fruta, se aplica ampliamente, al igual que el gas  $C_2H_4$ . Los estudios han informado que el etefón induce con éxito la maduración en el banano (Thompson and Seymour, 1982). Sin

embargo, la aplicación de este químico es limitada debido a los peligros del compuesto (Bhadoria *et al.*, 2015).

### **Temperatura**

La temperatura influye en los cambios de maduración de los plátanos (Esguerra *et al.*, 1992). Un aumento en las temperaturas de almacenamiento entre 14 y 30°C aumenta la tasa de maduración y la fruta se ablanda a un ritmo más rápido (Smith, 1989). Siendo el plátano una fruta de origen tropical debe ser almacenada a temperaturas entre 12 a 13 °C, ya que temperaturas inferiores a los 12 °C le puede causar daños por frío (Montero, 1998).

### **Daños por frío**

El almacenamiento a baja temperatura es la tecnología más efectiva para prolongar la vida útil y mantener la calidad de la fruta (Aghdam and Bodbodak, 2014). El daño por frío ocurre cuando el banano se almacena a temperaturas <13 °C (Huang *et al.*, 2016). Los síntomas de daño por frío, incluyen: decoloración subepidérmica, aparición de manchas marrones extensas en la cáscara, pérdida del aroma y sabor originales, inhibición de la conversión de almidón en azúcar y la reducción de la formación de aromas se desarrollan gradualmente en el banano refrigerado causando una disminución en la calidad de la fruta y la pérdida económica (Wang *et al.*, 2021).

### **Refrigeración y transporte**

El transporte es un proceso requerido para la distribución de bananos al mercado (Fernando *et al.*, 2019). Los bananos son susceptibles a lesiones mecánicas, como magulladuras, cortes, roturas, heridas por impacto y otras formas de lesiones, durante el transporte (Fadiji *et al.*, 2016). Las frutas pueden dañarse por esfuerzos mecánicos como la compresión y las fuerzas de impacto durante el almacenamiento, la carga y la descarga de los paquetes (Zeebroeck *et al.*, 2007).

Es muy importante reducir la temperatura del banano después del empaque y durante el transporte para prolongar la vida útil de la fruta. Sin embargo, la temperatura debe estar

por encima de 12 °C para evitar lesión por frío. A esta temperatura, la tasa de respiración disminuye y la maduración se retrasa (Lobo and Montero, 2020).

## **Pudrición de la corona**

### **Importancia de la enfermedad y agente causal**

Hay varias causas que conducen a pérdidas postcosecha; además, de la senescencia de la fruta, incluidos factores de precosecha (Gruda, 2005), malas técnicas de cosecha (Sinha y Bawa, 2002), condiciones o factores ambientales no óptimos durante el almacenamiento (Watkins, *et al.*, 2005), niveles inadecuados de oxígeno y/o dióxido de carbono dentro del almacén (Stow *et al.*, 2004), infecciones bacterianas (Corbo *et al.*, 2004) o por hongos (Amiri and Bompeix, 2005).

Existe poca información sólida sobre la cantidad precisa y la naturaleza de las pérdidas en postcosecha en plátano, en parte debido a la falta de un método de aplicación universal para medirla (Gruda, 2005). Como consecuencia, las estimaciones de las pérdidas de fruta en postcosecha varían ampliamente, de aproximadamente 20 a 51% en los países en desarrollo (Barbosa-Canovas *et al.*, 2003). De las causas mencionadas anteriormente y de otros daños postcosecha, se ha demostrado que las infecciones fúngicas son de las más importantes y más difíciles de controlar (Gunasinghe and Karunaratne, 2009).

La pudrición de la corona causada por un complejo fúngico, *Colletotrichum musae* (Finlay and Brown, 1993), *Thielaviopsis paradoxa* (Alvindhia *et al.*, 2002) y *Fusarium spp* (Alvindhia *et al.*, 2000; Hirata *et al.*, 2001; Jimenez *et al.*, 1993), es la principal enfermedad en postcosecha (Kyu *et al.*, 2007; Mirshekari *et al.*, 2012) en México y en todas las áreas productoras de banano en todo el mundo (Lassois *et al.*, 2008).

La enfermedad es más severa cuando las combinaciones de patógenos virulentos atacan a la fruta (Zhimo *et al.*, 2017). La pudrición de la corona tiene mucha importancia en la exportación de banano y su incidencia es más frecuente durante o después de la maduración forzada del plátano (Ranasinghe *et al.*, 2003).

Algunos de estos hongos están involucrados en más de una enfermedad en los bananos, como *Colletotrichum musae*, que puede causar tanto la podredumbre de la corona (Nelson, 2008) como la antracnosis (Nelson, 2008); además, estos patógenos pueden existir en los campos de banano como saprófitos en hojas de banano muertos o tejidos de inflorescencia (Nelson, 2008). La incidencia de la enfermedad aumenta en las temporadas de lluvias (Krauss and Johanson, 2000), condición ambiental que es muy recurrente en las principales zonas productoras de plátano en Tabasco.

### **Síntomas**

La podredumbre de la corona se inicia con la infección en la zona de corte, debido a las heridas producidas en el proceso de desmane, mismas que dan lugar a la germinación de las esporas de los hongos y penetran en las coronas. El crecimiento del micelio, que puede ser blanco, gris o rosado, provoca el ablandamiento y ennegrecimiento de los tejidos superficiales del corte de la corona, el cual se propaga hacia los peciolos (Lassois *et al.*, 2008., Gonzáles, 1987).

Los síntomas comúnmente se expresan después de la maduración artificial, que normalmente se utiliza con los frutos de exportación (Krauss and Johanson, 2000). Los síntomas también aparecen durante los periodos de transporte y maduración, en estos periodos los cambios fisiológicos propios del fruto facilitan el desarrollo del patógeno (Jones, 2000).

El daño puede avanzar hasta afectar a los pedicelos e incluso a los dedos individuales (Krauss and Johanson, 2000), y en casos más graves, la pudrición penetra profundamente en los dedos, que pueden llegar a desprenderse de la corona y alcanzar la pulpa perdiéndose la totalidad del fruto (Hostachy *et al.*, 1990; Krauss *et al.*, 2001).

### **Etiología de la enfermedad**

Se reportan como agentes causales de la pudrición de corona en banano los hongos *Fusarium proliferatum*, *Colletotrichum musae*, *Ceratocytis paradoxa*, *Verticillium theobromae*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Deightoniella torulosa* y otros (Johanson and Blasquez, 1992; Latunde-Dada, 2001; Gunasinghe *et al.*, 2004).



*Colletotrichum musae* es un patógeno muy importante ya que causa daños en los frutos de banano, además también causa la enfermedad de la antracnosis con una amplia distribución geográfica donde se cultiva el banano; cuando las condiciones son favorables, los conidios de *Colletotrichum musae* germinan sobre la superficie de frutos inmaduros, dentro de 6 a 8 horas, produciendo un tubo germinativo, forman apresorios, este órgano capacita al patógeno a sobrevivir en condiciones adversas. Cuando *C. musae* penetra en frutos inmaduros generalmente permanece latente hasta el inicio del proceso de maduración (Menezes, 2004).

Un pH 6.0, es considerado óptimo para la germinación de conidios, la humedad relativa de 90 a 100 % son importantes para el proceso fisiológico, y con relación a la temperatura óptima para el crecimiento micelial, esporulación y germinación de conidios, esta es de 27 a 30 °C (Menezes, 2004), aunque otros autores reportan temperaturas de 26 a 28°C (Cox and Irwin, 1988).

En su fase sexual, llamada *Giberella*, produce peritecios de cuello largo, con ascosporas hialinas, curvadas y unicelulares, mientras que en su fase asexual, llamado *Colletotrichum*, presentan acérvulos circulares con setas, conidióforos simples, conidios hialinos, ovales u oblongos o fusiformes, las esporas forman masas mucilaginosas; tanto para la producción de inóculo como para la diseminación y penetración, requieren lluvia seguida de alta humedad relativa y de una capa de agua que persista sobre las hojas (Agrios,1996).

### **Control químico convencional de la enfermedad**

El control de la enfermedad se realiza principalmente con fungicidas químicos sintéticos convencionales, en el Cuadro 1, se describen los principales. Sin embargo, estos fungicidas traen consigo varios problemas: i) contaminación del medio ambiente, ii) acumulación de residuos en el fruto por arriba del límite permisible y iii) aparición de cepas del hongo resistentes a los fungicidas (Mari *et al.*, 2003; Jinasena *et al.*, 2011; Gatto *et al.*, 2011).

**Cuadro 1.** Fungicidas utilizados para controlar las enfermedades postcosecha de banano

<b>Ingrediente Activo</b>	<b>Modo de Acción</b>	<b>Dosis Recomendada (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Nombre Comercial</b>	<b>Observación</b>
Benomilo	Antimicótico	250	Benlate®	Prohibido
Tiabendazol	Antimicótico	450	Tecto®, Metect®, Decco®	Podredumbre de la corona y antracnosis
Imazalil	Ergosterol Biosíntesis Inhibidor (DMI)	375	Fungaflor®, Sulima®, NeOzil®	Efectivo en podredumbre de la corona, no en antracnosis
Bitertanol	Ergosterol Biosíntesis Inhibidor (DMI)	200	Baycor®	Eficiente en podredumbre de la corona y antracnosis. Recientemente prohibido
Azoxistrobina	Quinona Inhibidor (Col)	60	Ortiva®, Bankit®	Eficiente en podredumbre de la corona y antracnosis

Fuente: Lassois and Bellayre (2014).

### **Sustancias de baja toxicidad en el control de enfermedades postcosecha**

Se han documentado efectos inhibitorios en el crecimiento de hongos relacionados con la pudrición de la corona del banano con productos de baja toxicidad, como las sales orgánicas, y mezclas con estas sustancias y productos químicos a bajas dosis, así como tiempos de inmersión entre otros (Zhu *et al.*, 2003; Alvindia *et al.*, 2004; Yasmin *et al.*, 2016).

#### **Carbonato de potasio**

Las sales orgánicas e inorgánicas son ampliamente utilizados en la industria alimentaria, estos son aditivos alimentarios comunes para la levadura, el control del pH, el sabor y las modificaciones de la textura (Smilanick *et al.*, 1999), también se utilizan en la agricultura como compuestos antifúngicos (compuestos GRAS), ya que tienen un amplio espectro de actividad contra bacterias y hongos para muchas aplicaciones, según las

regulaciones de la Agencia de Alimentos de los Estados Unidos y Administración de Medicamentos (FDA) y la Unión Europea (UE).

Los GRAS, además, de su constante actividad antimicrobiana, son económicos, fácilmente disponibles, con un perfil de seguridad favorable para los seres humanos y el medio ambiente y adecuados para las prácticas comerciales de manejo postcosecha (El-Mougy *et al.*, 2008; Deliopoulos *et al.*, 2010).

El carbonato de potasio ( $K_2CO_3$ ) (CP), se ha reportado por tener actividad antifúngica en enfermedades postcosecha. Sai y Pongener (2022) reportaron 67.2, 69.2 y 72% de inhibición de crecimiento micelial de *Penicillium expansum* aislado de frutos enfermos de mandarina cuando se aplicaron 15, 20 y 25 mM de CP. La podredumbre azul en mandarinas se ha controlado con aplicaciones de CP a 400 mM, el cual redujo la incidencia y severidad de podredumbre azul en mandarinas clementinas hasta 58.3 y 44.7%, respectivamente (Askarne *et al.*, 2013).

### **Silicio**

El silicio es considerado un nutriente funcional para las plantas y juega un papel importante como constituyente de la pared celular (Krauss and Johanson, 2000). De acuerdo a resultados de investigación, se sugirió que el silicato de potasio ( $K_2SiO$ ) (SP) puede tener varios modos de acción, incluyendo un efecto directo sobre el patógeno (Guynot *et al.*, 2005; Fatemi *et al.*, 2011) y un efecto indirecto sobre la fruta hospedera. Este último incluye la formación de barreras físicas y mecánicas a la penetración del patógeno a nivel de la pared celular (Buonaurio *et al.*, 2009) y la inducción bioquímica de defensas como la acumulación de lignina, compuestos fenólicos y PRS (Perera and Karunaratne 2001; Perera and Karunaratne, 2002).

Tarabih *et al.* (2014), estudiaron la aplicación exógena de SP en diferentes concentraciones (0.1, 0.2 y 0.3%) para mantener la calidad y controlar el desarrollo de la enfermedad causada por *Penicillium expansum* en frutas de manzana Anna almacenadas 60 días a  $0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$  con 90-95% de humedad relativa (HR) reportando reducción en el crecimiento lineal de *P. expansum* a concentraciones de 0.3% de SP.

Moscoso-Ramírez and Palou (2014a), estudiaron concentraciones primarias de SP, los principales hallazgos fueron que los tratamientos de silicato de potasio en postcosecha mostraron una actividad antifúngica preventiva y curativa significativa contra las pudriciones causadas por *penicillium* en cítricos a una concentración de 90 mM de ingrediente activo.

### **Bicarbonato de sodio**

Los bicarbonatos han sido exentos de la tolerancia de residuos en todos los productos agrícolas por la Agencia de Protección Ambiental y el Departamento de Agricultura de EE. UU y muchos se han etiquetado como "orgánico" (Smilanick *et al.*, 1999).

Diversas investigaciones han reportado resultados favorables utilizando bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) para enfermedades postcosecha. De Costa and Gunawardhana (2012) reportaron que el tratamiento por inmersión con bicarbonato de sodio a 300 mM durante 10 minutos fue capaz de reducir la incidencia de la pudrición de la corona al 62%. Alvindia *et al* (2004) al sumergir de 10 a 15 minutos los plátanos con bicarbonato de sodio a 6 g/l redujeron la incidencia de pudrición de la corona hasta un 62%. Torres *et al.* (2007) también informaron que el agua caliente (40 °C y a 65°C) en combinación con bicarbonato de sodio (3%) controla los patógenos postcosecha (*Penicillium digitatum* y *P. italicum*) que causan las enfermedades podredumbre verde y azul, respectivamente, en fruta de mandarina.

# CAPÍTULO I. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL SILICATO DE POTASIO PARA CONTROLAR LA PUDRICIÓN DE LA CORONA EN BANANO

## 1.1. RESUMEN

Se determinó la actividad antifúngica *in vitro* or *in vivo* del silicato de potasio (SP) en postcosecha contra la pudrición de la corona (PC) del banano cv. 'Enano Gigante' inoculado artificialmente con *Colletotrichum musae* e incubado a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 7 días. Se tomaron como referencia el o los mejores tratamientos con SP obtenidos de los experimentos *in vitro* para determinar el rango de dosis a evaluar en experimentos primarios *in vivo*.

La concentración de 90 mM de SP en experimentos primarios *in vivo* se seleccionó como la más efectiva y se usó en los experimentos de la influencia de la temperatura de baños en la efectividad del SP. En seguida tratamientos de baños curativos de SP a 90 mM a  $40^\circ\text{C}$  durante 20 min aplicado solo o en combinación con bajas dosis de tiabendazol (TBZ) se evaluaron sobre la PC, así como también el efecto del SP sobre la calidad del plátano. El SP a 90 y 200 mM fueron los más efectivos para inhibir el crecimiento micelial y la germinación de conidios de *C. musae* (100 y 97%, respectivamente).

En experimentos primarios *in vivo*, la concentración de 90 mM de SP significativamente redujeron a la mitad la severidad de la PC tanto en tratamientos preventivos como curativos (51.1 y 59.5% de reducción de severidad), respectivamente. Entre los baños preventivos con SP a 90 mM durante 20 min probados a diferentes temperaturas, el baño a  $40^\circ\text{C}$  fue el más efectivo (70.2% de reducción de severidad de PC), mientras que los baños curativos de SP a  $40$  y  $50^\circ\text{C}$ , presentaron las reducciones de severidad más altas de PC (77.4 y 75.0%, respectivamente).

El tratamiento de baño curativo combinado de SP a 90 mM más 225 ppm de TBZ mejoró el control contra PC (91.6 y 98.8% de reducción de incidencia y severidad, respectivamente). El SP muestra consistentemente una efectividad antifúngica preventiva y curativa de dos tercios contra la severidad de la PC y controla efectivamente la PC cuando se combina con el TBZ. El SP no afecta la calidad de fruto de plátano.

**Palabras clave:** *Colletotrichum musae*, crecimiento micelial, germinación de conidios incidencia, severidad.

## 1.2. ABSTRACT

*In vitro* or *in vivo* antifungal activities of postharvest potassium silicate (SP) against crown rot (CR) of banana cv. 'Enano Gigante' artificially inoculated with *Colletotrichum musae* and incubated at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  for 7 days. The best treatments with SP obtained from the *in vitro* experiments were taken into account to determine the range of doses to be evaluated in *in vivo* primary experiments.

The 90 mM SP in *in vivo* primary experiments was selected as the most effective treatment and it was used in the experiments on the influence of dip temperature on the effectiveness of SP. Curative dip treatments of 90 mM SP at  $40^\circ\text{C}$  for 20 min applied alone or in combination with low doses of thiabendazole (TBZ) were evaluated on PC, as well as the effect of SP on banana quality. SP at 90 and 200 mM were the most effective treatments in inhibiting the mycelial growth and conidia germination of *C. musae* (100 and 97%, respectively).

In *in vivo* primary experiments, 90 mM SP significantly reduced the severity of PC in both preventive and curative treatments (51.1 and 59.5% of severity reduction, respectively). Among the preventive dips with SP at 90 mM for 20 min tested at different temperatures, the dip at  $40^\circ\text{C}$  was the most effective (70.2% of severity reduction of PC), while the curative dips of SP at  $40^\circ\text{C}$  and  $50^\circ\text{C}$ , exhibited the highest severity reductions of PC (77.4 and 75.0%, respectively).

The combined curative dip treatment of 90 mM SP plus 225 ppm TBZ improved the control against PC (91.6 and 98.8% incidence and severity reduction, respectively). SP consistently shows a two-third preventive and curative antifungal effectiveness against PC severity and effectively controls PC when combined with TBZ. The SP does not affect the quality of banana fruit.

**Keywords:** *Colletotrichum musae*, mycelial growth, conidia germination, incidence, severity.

### 1.3. INTRODUCCIÓN

La pudrición de la corona (PC) causada por un complejo fúngico, *Colletotrichum musae* (Finlay and Brown, 1993), *Thielaviopsis paradoxa* (Alvindia *et al.*, 2002) y *Fusarium spp* (Alvindia *et al.*, 2000; Hirata *et al.*, 2001; Jimenez *et al.*, 1993), entre otros, es la principal enfermedad en postcosecha (Mirshekari *et al.*, 2012) en México y en todas las áreas productoras del mundo (Lassois *et al.*, 2008). La PC tiene mucha importancia en la exportación de banano y su incidencia es más frecuente durante o después de la maduración forzada del plátano (Ranasinghe *et al.*, 2003). Algunos trabajos de investigación han mostrado que el hongo *Colletotrichum musae* es la especie más patogénica en el complejo de hongos y puede causar la infección a partir de un inóculo muy pequeño (Lassois *et al.*, 2008 and 2011).

El control de la enfermedad se realiza principalmente con fungicidas químicos sintéticos convencionales (tiabendazol, imazalil y procloraz). Sin embargo, el uso de estos fungicidas, traen consigo varios problemas: i) contaminación del medio ambiente, ii) acumulación de residuos en el fruto por arriba del límite permisible y iii) aparición de cepas del hongo resistentes a los fungicidas (Jinasena *et al.*, 2011; Gatto *et al.*, 2011). Por ello, existe la necesidad de buscar alternativas de control al control químico sintético convencional a través de sustancias menos tóxicas a mamíferos y más eco-amigables tales como el silicio (Si) (Krauss and Johanson, 2000).

Es conocido que el Si puede tener un efecto directo sobre patógenos (Fatemi *et al.*, 2011) y/o un efecto indirecto sobre la fruta hospedera. Este último incluye la formación de barreras físicas y mecánicas a la penetración del patógeno a nivel de la pared celular (Buonaurio *et al.*, 2009) y la inducción bioquímica de defensas como la acumulación de lignina, compuestos fenólicos y proteínas relacionadas a patogénesis (PRS) (Perera and Karunaratne, 2002). Varios estudios reportan el control de enfermedades postcosecha con Si, tales como pudrición rosada (*Trichotecium roseum*) en melones (Guo *et al.*, 2007), podredumbre verde (*Penicillium digitatum*) y azul (*P. italicum*) en cítricos (Moscoso-Ramírez and Palou, 2014b) y antracnosis en papaya (Vidal-Vergara *et al.*, 2022).

Sin embargo, ninguna información está disponible sobre el efecto del Si sobre la PC en banano. Bajo este esquema, los objetivos de este trabajo de investigación fueron: i) determinar el efecto *in vitro* del SP sobre el crecimiento micelial de *C. musae*, ii) determinar el efecto primario *in vivo* del SP sobre la PC, iii) determinar la influencia de la temperatura de los tratamientos de baño en la efectividad de SP, iv) determinar el efecto del SP solo o combinado con bajas dosis de tiabendazol sobre la PC, y v) evaluar el efecto del SP sobre la calidad de frutos del banano.

## **1.4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **1.4.1. Patógeno fúngico**

El patógeno *C. musae* se obtuvo de la colección de cultivos fúngicos del Campus Tabasco. El hongo fue resembrado y cultivado en cajas de Petri con medio papa dextrosa agar (PDA) e incubado a 25°C a obscuridad durante 7 a 14 días.

### **1.4.2. Experimentos *in vitro***

#### **1.4.2.1. Efecto del silicato de potasio en el crecimiento micelial de *Colletotrichum musae***

Para evaluar el efecto del silicato de potasio (SP) sobre el crecimiento micelial de *C. musae*, se probaron tratamientos de 30, 50, 70, 90, 110 y 160 mM, más el testigo. Se usó un diseño experimental completamente al azar. Cada tratamiento consistió de 5 cajas de Petri (cada placa fue una repetición). Se preparó una solución acuosa madre o stock a la concentración de 1000 mM de SP (39.2 % a.i., Ag Sil® 21 PQ Corporation), la cual se adicionó al medio de cultivo PDA, cuando dicho medio estaba a la temperatura de 45-50°C, para lograr las concentraciones (Tratamientos) finales deseadas de SP. Aproximadamente 20 ml de medio PDA con SP se vaciaron en cada caja de Petri. Después de 24 horas, se colocó un disco de micelio de 5 mm de diámetro con medio de cultivo PDA de 7 días de edad, se tomó de la colonia y se colocó en el centro de otra caja de Petri (100 mm de diámetro), conteniendo las concentraciones deseadas de SP adicionado en el PDA y se incubó a 25°C. El experimento se realizó por duplicado.



Se midieron dos diámetros (mm) de la colonia de *C. musae* de manera perpendicular uno del otro, a los 9 días de incubación. El crecimiento micelial se expresó como la inhibición de crecimiento micelial en porcentaje (%ICM), la cual se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\%ICM = ((DCC - DCT) / DCC) * 100$$

Dónde:

DCC = Diámetro de la colonia en el control en mm

DCT = Diámetro de la colonia en el tratamiento en mm

#### **1.4.2.2. Efecto del silicato de potasio en la germinación de conidios de *Colletotrichum musae***

Se evaluaron ocho tratamientos con SP a 30, 50, 70, 90, 110, 130, 160 y 200 mM, más el testigo sobre la germinación de conidios de *C. musae*. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar. El ensayo se realizó usando la técnica del portaobjeto con concavidad. Cada tratamiento con 4 repeticiones (cada repetición fue una concavidad). Se preparó una solución acuosa madre a la concentración de 1000 mM de SP, la cual se adicionó al medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), cuando dicho medio estaba a la temperatura de 45-50°C, para lograr las concentraciones finales deseadas de SP. Aproximadamente 100 µl de PDA con SP de los diferentes tratamientos se colocaron en cada concavidad de los portaobjetos, usando una micropipeta.

Transcurrido 24 horas, se colocó y distribuyó una alícuota de 20 µL de una suspensión de conidios de *C. musae* a la concentración de 10<sup>6</sup> conidios mL<sup>-1</sup> de 14 días de edad sobre la superficie del PDA añadido con SP contenida en las concavidades de los portaobjetos. Los portaobjetos con concavidad se colocaron dentro de cajas de Petri y se incubaron a 25°C a obscuridad. Se valoró la germinación de conidios hasta que germinó más del 80% de los conidios en el control. Se realizó el conteo de conidios germinados de un total de 50 conidios por repetición a las 12 h después de la inoculación. Los conidios se consideraron germinados cuando la longitud del tubo germinativo correspondía a la mitad o más del diámetro del conidio.

El experimento se realizó dos veces. La variable se expresó como el porcentaje de la inhibición de germinación de conidios de *C. musae* (%IGC) y se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\%IGC = (1 - (CGT/CGC)) * 100$$

Dónde:

CGT= número de conidios germinados en el tratamiento

CGC= número de conidios germinados en el control

### **1.4.3. Experimentos *in vivo***

#### **1.4.3.1. Fruta**

Los experimentos se realizaron con bananas (*Musa paradisiaca*) cv. 'Enano Gigante'. Los racimos de plátano se recolectaron en campos de producción comercial del área de Cucuyulapa, Cunduacán, Tabasco. Antes de cada experimento, los racimos fueron desmanados, y las manos fueron seleccionadas, aleatorizadas, lavadas con agua de la llave, y secadas a temperatura ambiente.

#### **1.4.3.2. Desinfección y maduración artificial de la fruta**

El agua de la llave para el lavado de la fruta y deslatexado, se desinfectó con hipoclorito de sodio (hipoclorito de sodio 5% v/v, Hycel reactivos químicos, Jalisco, México) a 250 ppm y luego se secó a temperatura ambiente. Después de 0.5 h de secado, la fruta se desinfectó con una solución acuosa de NaClO al 1.0% durante 2 min y se enjuagó para eliminar el cloro residual y se secó a temperatura ambiente por 0.5 h. Posteriormente, la fruta se trató con una solución acuosa de etefón a 2000 ppm (ETHREL 21.7% LS, Bayer, México, México) durante 1 min para su maduración forzada. Finalmente, las coronas de las manos de plátano se desinfectaron por inmersión durante 30 s con alcohol etílico al 70%.

#### **1.4.3.3. Preparación de la suspensión de conidios de *C. musae***

Los conidios de *C. musae* de una colonia de 14 días de edad se tomaron de la superficie de las cajas de Petri conteniendo PDA y se transfirieron a un tubo de ensayo que contenía una solución de agua estéril con 0.05% (p/v) de Tween 80. Posteriormente, la suspensión de conidios contenida en el tubo de ensayo se filtró usando una gasa estéril para eliminar los fragmentos de micelio del hongo. En seguida dos alícuotas de la suspensión de conidios filtrado fueron colocadas sobre un hematocitómetro para finalmente ajustar a una concentración de  $10^6$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  del hongo.

#### **1.4.3.4. Efecto del silicato de potasio sobre la pudrición de la corona en experimentos primarios *in vivo***

Las concentraciones de SP que inhibieron completamente o que obtuvieron el mayor porcentaje de inhibición de los conidios de *C. musae* se utilizaron como referencia para determinar el rango de concentraciones a probar en ensayos primarios *in vivo* utilizando frutos de plátano cv. Enano Gigante en madurez fisiológica de tamaño uniforme y libre de daños. Se removieron los remanentes florales, la suciedad y las impurezas.

#### **1.4.3.5. Tratamiento preventivo y curativo**

Tanto para el tratamiento preventivo como curativo, la fruta se desinfectó y maduró siguiendo el procedimiento de la sección de “desinfección y maduración artificial de la fruta”. La preparación del inóculo fúngico se realizó siguiendo el procedimiento descrito previamente. Se aplicaron los siguientes tratamientos: tratamiento sin inocular (TSI), control (solo agua destilada estéril), 70, 90, 100, 150, 200, 250 y 300 mM de SP.

La aplicación de los tratamientos se hizo con un atomizador de plástico sobre la superficie de corte de la corona hasta cubrirlo completamente, y se inoculó 1 h después (tratamiento preventivo) o antes (tratamiento curativo), colocando 100  $\mu\text{L}$  de la suspensión de  $10^6$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  de *C. musae* en la superficie de corte de la corona y se dispersó con ayuda de una brocha o pincel.

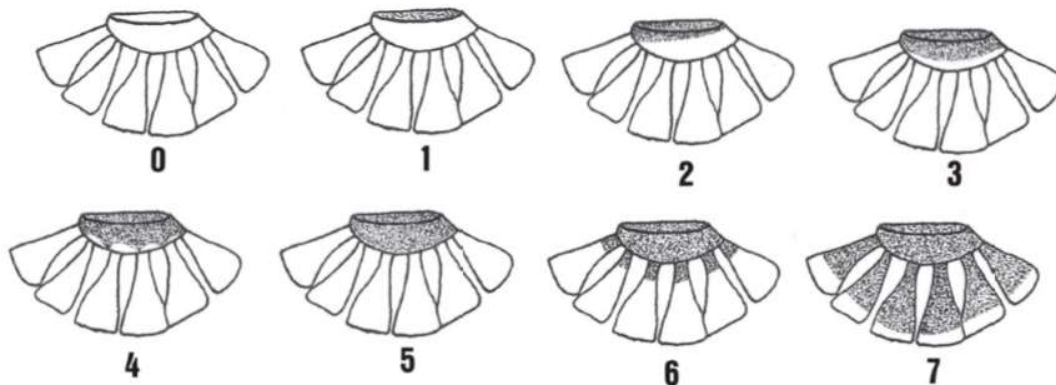
Se usó un diseño experimental completamente al azar y cada tratamiento consistió de tres repeticiones con tres manos de 4-6 frutos cada una. Posteriormente, la fruta

inoculada y tratada o viceversa se colocó en cajas de plástico de 10 kg y se incubaron a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y 80-90% de humedad relativa (HR) durante 7 días. La lectura de severidad se tomó a los 7 días tras la inoculación del hongo.

Se valoró la severidad de la pudrición de corona usando la escala de severidad (Figura 1.1) propuesta por Alwindia *et al.* (2004) y se expresó como el porcentaje de reducción de severidad de la enfermedad.

Donde:

0	Ninguna decoloración o crecimiento micelial sobre la corona
1	Decoloración o crecimiento micelial limitado a la superficie del corte de la corona
2	Decoloración o crecimiento micelial menos de 10% del área de la corona
3	11-40% de decoloración o crecimiento micelial sobre el área de la corona
4	41-70% de decoloración o crecimiento micelial sobre el área de la corona
5	71-100% de decoloración o crecimiento micelial sobre el área de la corona
6	Decoloración o crecimiento micelial sobre el pedicelo de los dedos
7	Decoloración o crecimiento micelial alcanza la pulpa de los dedos



**Figura 1.1.** Índice de clasificación visual de severidad de la pudrición de la corona de la mano del banano.

$$\% \text{ de reducción de la severidad de la pudrición de la corona} = \left( \frac{IPC - IPT}{IPC} \right) * 100$$

Donde: IPC es índice de la pudrición de la corona en el control y IPT es índice de la pudrición de la corona en el tratamiento.

#### **1.4.3.6. Influencia de la temperatura de baño en la efectividad del silicato de potasio**

Para determinar la influencia de la temperatura de baño preventivos o curativos se usó la concentración más efectiva de SP (90 mM) seleccionada en los experimentos primarios *in vivo* y se realizaron ensayos utilizando frutos de plátano cv. Enano Gigante en madurez fisiológica. La fruta se desinfectó y maduró siguiendo el procedimiento descrito previamente. La preparación del inóculo fúngico se realizó siguiendo el procedimiento descrito en la sección de “preparación de la suspensión de conidios de *C. musae*”.

Los tratamientos evaluados fueron los siguientes: i) tratamiento sin inocular (TSI), ii) Testigo (sólo agua sin calentar), iii) agua caliente a 30°C (AC 30°C), iv) agua caliente a 40°C (AC 40°C), v) agua caliente a 50°C (AC 50°C), vi) SP a 90 mM a 30°C (SP 30°C), vii) SP a 90 mM calentado a 40°C (SP 40°C), y viii) SP a 90 mM calentado a 50°C (SP 50°C). Todos los tratamientos de baño calentados tuvieron una duración de 20 min. Los tratamientos en baños fueron aplicados antes (tratamiento preventivo) o después (tratamiento curativo) de la inoculación del hongo. La inoculación se realizó colocando 100 µL de la suspensión de  $10^6$  conidios mL<sup>-1</sup> de *C. musae* en la superficie de corte de la corona y se dispersó con ayuda de un pincel. Los tratamientos aplicados en baños se realizaron en neveras de plástico con un volumen de 18 L y los tratamientos que necesitaron ser calentados a las diferentes temperaturas fueron hechos con la ayuda de un calentador eléctrico manual para agua de capacidad de 21 L (Silverline, DC-CA, 1000 W). Para la actividad curativa, los baños se realizaron aproximadamente 1 h después de la inoculación del hongo.

Los tratamientos fueron evaluados en un diseño experimental completamente al azar y se usaron 3 repeticiones de 4 manos (4-6 frutos por cada mano) por cada tratamiento. Las manos con fruta tratada e inoculada o viceversa se colocaron en cajas de plástico de 10 kg y se incubaron a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y 80-90% de HR durante 7 días en un cuarto de incubación del Campus Tabasco. Se valoró la severidad (porcentaje de reducción de severidad) de la PC después del periodo de incubación

#### **1.4.3.7. Actividad antifúngica del silicato de potasio sólo o combinado con tiabendazol**

El silicato de potasio (SP) en solución acuosa a 90 mM calentado a 40°C durante 20 min en tratamiento curativo fue el tratamiento más efectivo seleccionado de experimentos previos (experimentos primarios para el caso de la concentración de SP e influencia de la temperatura de baño sobre la efectividad de SP para el caso de la temperatura de baño y tipo de tratamiento) se usó para determinar la efectividad del SP solo o combinado con bajas dosis de TBZ (TBZ; 2-(4-Tiazolil)-1H-benzimidazol; MERTECT®340 465.3 g of a.i. L<sup>-1</sup>; Arysta LifeScience, Ciudad de México, México).

Los ensayos se realizaron utilizando frutos de plátano cv. Enano Gigante. La fruta se desinfectó, se maduró con etileno y se realizó la inoculación de acuerdo a los procedimientos respectivos descritos previamente. Los tratamientos utilizados fueron: tratamiento sin inocular (TSI), Testigo (sólo agua sin calentar), SP a 90 mM aplicado sólo a 40°C (SP 40°C), SP a 90 mM más TBZ a 225 ppm a 40°C (SP+TBZ), TBZ a 225 ppm (TBZ 225), TBZ a 450 ppm (TBZ 450) y TBZ a 600 ppm (TBZ 600). Los tratamientos aplicados en baños se realizaron en neveras de plástico con un volumen de 18 L y los tratamientos que necesitaron ser calentados fueron hechos con la ayuda de un calentador eléctrico manual para agua de capacidad de 21 L (Silverline, DC-CA, 1000 W). Para el caso del tratamiento combinado de SP más TBZ, ambos químicos fueron mezclados físicamente en agua limpia en sus cantidades respectivas y agitados con una varilla de plástico. Se usaron tres dosis de TBZ, una dosis baja (TBZ a 225 ppm), una dosis comercial (TBZ a 450 ppm) y una dosis regional (TBZ a 600 ppm). El diseño experimental fue un completamente al azar. Cada tratamiento consistió de 3 repeticiones de 4 manos (4-6 frutos por cada mano) cada una.

Las manos con frutos se colocaron en cajas de plástico y se incubaron a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y 80-90% de HR durante 7 días. Se valoró la incidencia en porcentaje (no. de coronas enfermas/ no. de coronas totales) y la severidad de la pudrición de corona después del periodo de incubación. Para esta última variable se utilizó la escala de severidad propuesta por Alwindia *et al.* (2004) mencionado previamente y la severidad se expresó como el porcentaje de reducción de severidad de la enfermedad.

#### **1.4.3.8. Efecto del silicato de potasio en la calidad del banano**

Para determinar el efecto del SP sobre la calidad de la fruta, se valoró la calidad externa e interna de la fruta después de 6 días de la aplicación de los tratamientos. Se usó un diseño experimental completamente al azar, con 20 frutos (cada fruto fue una repetición y se usó frutos de la segunda y tercera mano del racimo). Los tratamientos evaluados fueron: Testigo (sólo agua) durante 1 min, SP a 90 mM a 20 °C durante 1 min y SP a 90 mM a 40 °C durante 20 min. Se valoraron los siguientes parámetros de calidad:

##### **Calidad externa**

- ✓ Pérdida de peso (%). Se midió el peso inicial (antes del tratamiento) y final (6 días después del tratamiento) de las manos en cada tratamiento.
- ✓ Peso de fruto (g). Se pesó el fruto individual de 20 frutos por tratamiento con ayuda de una balanza digital de 1510 g de capacidad con dos dígitos después del punto decimal.
- ✓ Firmeza del fruto (kgf). Se cortaron transversalmente los frutos en su parte media, luego se midió la firmeza con un penetrómetro usando un puntal de 8 mm de diámetro.
- ✓ Peso de pulpa y cáscara (g). Se pelaron 20 frutos y se pesaron separadamente la pulpa y la cáscara de los frutos.
- ✓ Relación peso de pulpa/peso de cáscara del fruto. Se obtuvieron dividiendo el peso de pulpa entre el peso de cáscara en 20 frutos.

##### **Calidad interna**

- ✓ Acidez titulable (% de ácido málico). Se realizó por titulación usando hidróxido de sodio (NaOH) a 0.1 N y de 4-5 gotas de fenolftaleína como indicador (AOAC, 2005).
- ✓ Contenido de sólidos solubles totales (CSST, °B). Se licuó 30 g de pulpa de plátano en 90 ml de agua destilada durante 2 min y se filtró en tela organza. Se colocó 3-4 gotas del filtrado en la superficie del prisma. Se realizó la lectura con el refractómetro. (AOAC, 2005).

#### **1.4.3.9. Análisis estadístico**

Los datos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) con el software Statgraphics (Statgraphics Plus, v 5.1; Manugistics Inc., Rockville, Maryland, EE.UU.). Las reducciones de severidad o incidencia de la PC con respecto a los tratamientos control, se calcularon como porcentajes. Los datos de reducción de severidad o incidencia en porcentaje de la PC se transformaron al arco-seno de la raíz cuadrada antes de ser sometidas al ANOVA. La significancia estadística se consideró en el nivel  $P = 0.05$ . Se aplicó la prueba de medias de la diferencia mínima significativa (DMS) de Fisher para separar medias cuando fue necesario. Los valores mostrados son medias no transformadas.

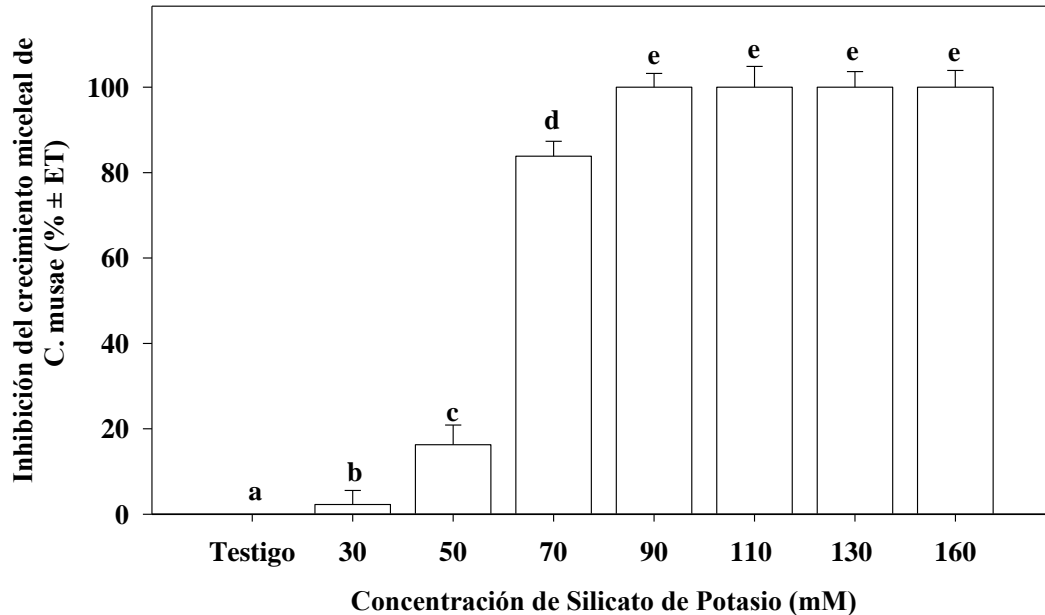
### **1.5. RESULTADOS**

#### **1.5.1. Experimentos *in vitro***

##### **1.5.1.2. Efecto del silicato de potasio sobre el crecimiento micelial de *C. musae***

En general, todas las concentraciones evaluadas con silicato de potasio (SP) tuvieron un efecto significativo ( $P \leq 0.05$ ) sobre el crecimiento micelial de *C. musae* después de 9 días de incubación a 25°C a oscuridad. A partir de la concentración de 90 mM de SP se inhibió el 100% del crecimiento micelial de *C. musae*, seguido por la concentración de 70 mM de SP, con una inhibición de 77.7% del crecimiento micelial del hongo en comparación con el control. El resto de las concentraciones de SP tuvieron inhibiciones de crecimiento micelial del hongo bajas. Por lo tanto, el SP a 90 mM se tomó como referencia para experimentos subsecuentes (Figura 1.2).

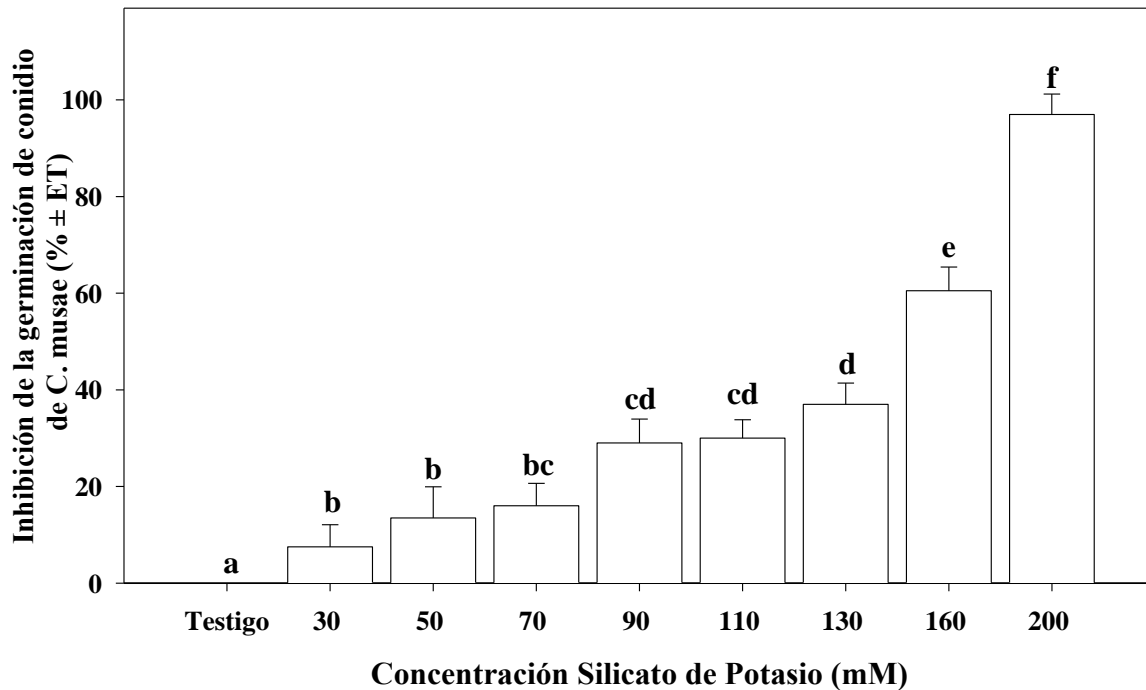




**Figura 1.2.** Efecto *in vitro* del silicato de potasio sobre la inhibición de crecimiento micelial de *C. musae* después de 9 días de incubación a 25°C a obscuridad. Letras diferentes en columnas significan diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de la diferencia mínima significativa de Fisher ( $P \leq 0.05$ ) aplicado a datos transformados al arcoseno. Barra es el error típico (ET;  $n = 5$ ). Se muestran las medias de inhibición de crecimiento micelial no transformadas de dos experimentos.

### 1.5.1.3. Efecto del silicato de potasio sobre la germinación de conidios de *C. musae*

En general, todas las concentraciones de silicato de potasio evaluadas inhibieron significativamente la germinación de conidios de *C. musae* con respecto al control incubados a 25°C a obscuridad durante 12 h (Figura 1.3). La concentración de 200 mM fue significativamente la más efectiva (97%) para inhibir la germinación de conidios, seguida de la concentración de 160 mM que presentó una inhibición de 60.5% de germinación de conidios. El resto de las concentraciones de silicato de potasio tuvieron inhibición de germinación de conidios menor al 37%. Por lo tanto, la concentración de 200 mM de SP fue tomada como referencia para experimentos subsecuentes.

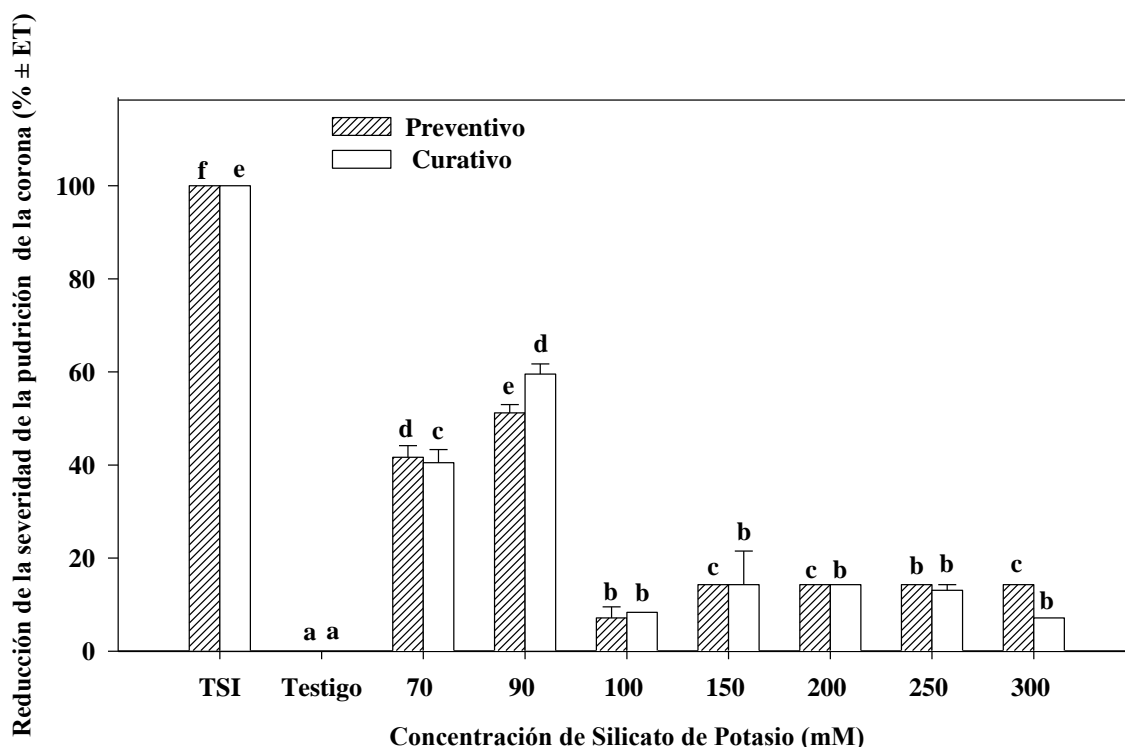


**Figura 1.3.** Efecto del silicato de potasio sobre la germinación de conidios de *C. musae* incubados a 25°C a obscuridad durante 12 h. Columnas con letras diferentes indican diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de la diferencia mínima significativa de Fisher ( $P \leq 0.05$ ) aplicado a datos transformados al arcoseno. Barra indica error típico (ET;  $n = 4$ ). Se muestran medias de inhibición de germinación de conidios no transformadas de dos experimentos.

#### 1.5.1.4. Efecto del silicato de potasio sobre la pudrición de la corona en experimentos primarios *in vivo*

En general, los valores de reducción de la severidad de la PC por la aplicación de los diferentes tratamientos preventivos y curativos primarios *in vivo* de SP a los 7 d después de la inoculación artificial de la corona con *C. musae* e incubado a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , mostraron que hubo diferencias estadísticas en la reducción de severidad de la PC (Figura 1.4). La concentración de SP de 90 mM fue el tratamiento más efectivo para reducir la severidad de PC, tanto en tratamiento preventivo como en curativo, con valores de 51.1 y 59.5%, respectivamente (Figura 1.4), seguido por la concentración de 70 mM de SP, con valores de 41.6 y 40.4% de reducción de severidad de la PC, respectivamente. El resto de las concentraciones de SP probadas tuvieron reducciones de severidad de PC bajas en ambos tipos de tratamiento (preventivo y curativo), variando de 7.1 a 14.2%. Por lo tanto,

la concentración de 90 mM de SP fue seleccionada como el tratamiento más efectivo para realizar trabajos subsecuentes.

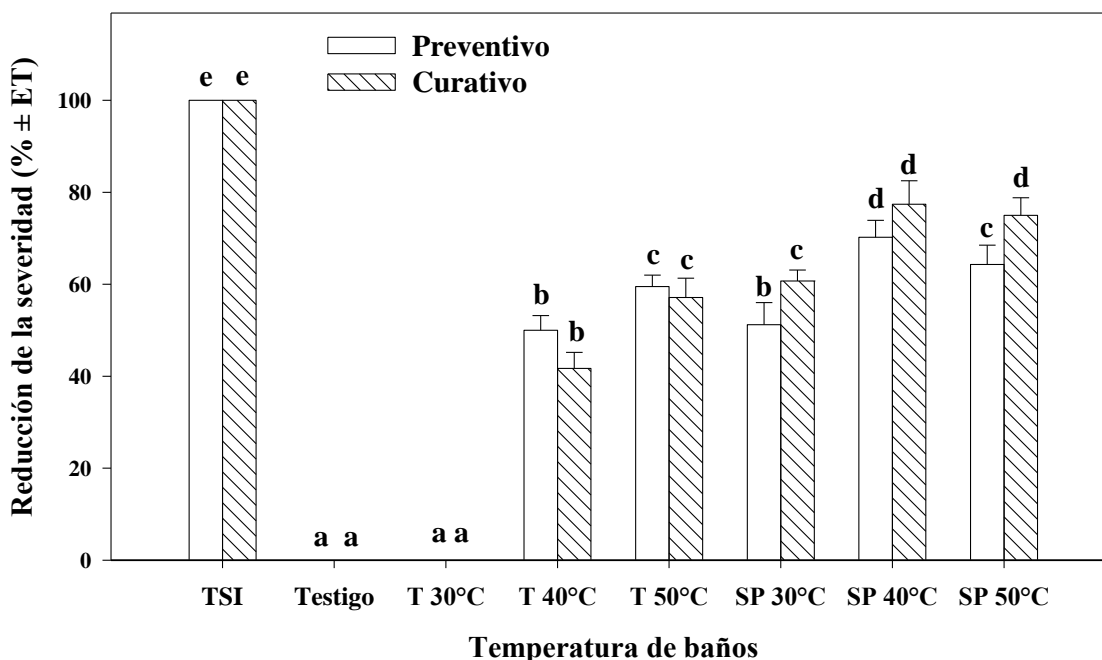


**Figura 1.4.** Efecto del silicato de potasio sobre la pudrición de la corona en banana cv. Enano Gigante en experimentos primarios *in vivo*, inoculado artificialmente con *C. musae* tratado 1 h antes o después, e incubado durante 7 d a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y 80-90% de HR. Las reducciones de la severidad se determinaron con respecto al tratamiento control (severidad de 100% para ambos efectos preventivo y curativo). Para cada tipo de efecto, columnas con letras diferentes indican diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher ( $P \leq 0.05$ ) aplicado a datos transformados al arco seno. Barra indica error típico (ET;  $n = 3$ ). TSI = tratamiento sin inocular, ET = error típico. Se muestran valores de medias no transformadas.

#### 1.5.1.5. Influencia de la temperatura de baño en la efectividad de silicato de potasio sobre la pudrición de la corona

En baños preventivo, el tratamiento más efectivo de temperatura evaluado sobre SP a 90 mM durante 20 min para reducir la severidad de PC en plátano fue el SP  $40^\circ\text{C}$ , con un valor de 70.2% de reducción de severidad de PC, seguido por los tratamientos SP  $50^\circ\text{C}$ , AC  $50^\circ\text{C}$ , SP  $30^\circ\text{C}$  y AC  $30^\circ\text{C}$ , con valores de 64.3, 59.5, 51.2 y 50.0% de reducción de severidad de PC, respectivamente (Figura 1.5). En baños curativos, los tratamientos significativamente más efectivos de temperatura para reducir la severidad

de PC en plátano fueron el SP 40°C y SP 50°C, con reducciones de severidad de PC de 77.4 y 75.0%, seguido por los tratamientos SP 30°C, AC 50°C y AC 40°C, con valores de 60.7, 57.1 y 41.7% de reducción de severidad de PC, respectivamente (Figura 1.5). Por lo tanto, la temperatura de baño de 40°C (SP 40°C) aplicado en baño curativo fue seleccionado como el más efectivo para experimentos futuros.

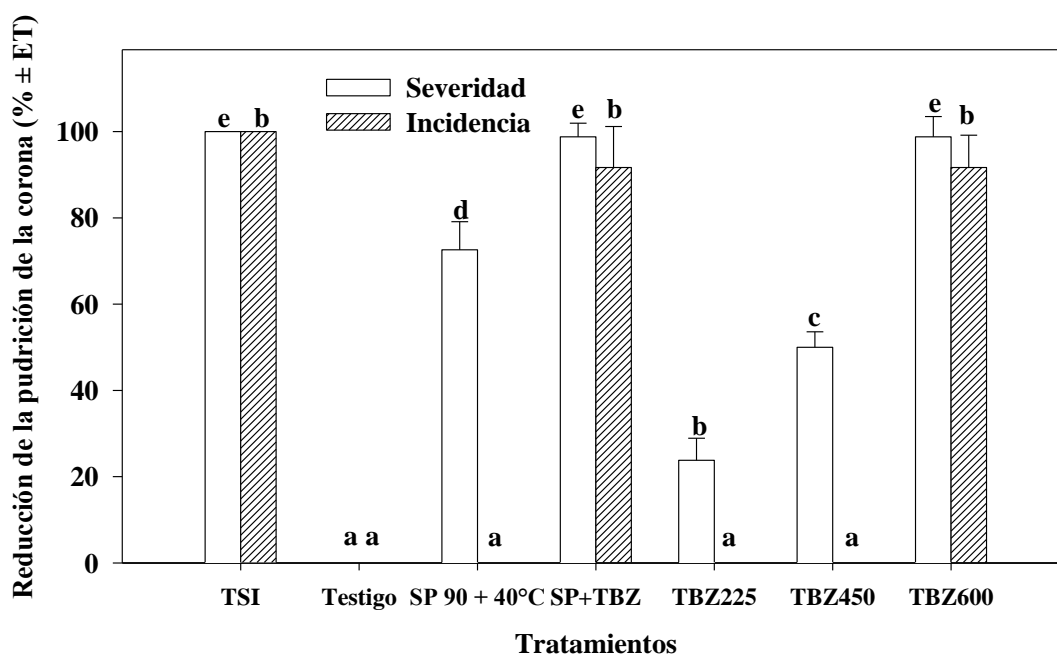


**Figura 1.5.** Efecto de temperatura de baño sobre la efectividad de silicato de potasio a 90 mM durante 20 min sobre la pudrición de la corona en banano Enano Gigante, inoculado artificialmente con *C. musae* tratado 1 h antes o después, e incubado durante 7 d 25 ± 1°C y 80-90% de HR. Las reducciones de la severidad se determinaron con respecto al tratamiento control (severidad de 100% para ambos efecto preventivo y curativo). Para cada tipo de tratamiento de baño, columnas con letras diferentes indican diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de la diferencia mínima significativa de Fisher ( $P \leq 0.05$ ) aplicado a datos transformados al arco seno después de un ANOVA. Barras indican error típico (ET; n = 4). AC= agua caliente, SP = silicato de potasio, TSI = tratamiento sin inocular, ET = error típico. Se muestran medias no transformadas.

#### 1.5.1.6. Actividad antifúngica del silicato de potasio sólo o combinado con tiabendazol

En general, de todos los tratamientos probados en tratamiento curativo en baño para reducir la incidencia de PC, únicamente el tratamiento combinado de SP a 90 mM con el fungicida TBZ a dosis baja (SP+TBZ) y el tratamiento de TBZ a 600 ppm (TBZ 600)

redujeron la incidencia, con un valor de 91.6% de reducción de incidencia de PC. El resto de los tratamientos (SP 90, TBZ 225 y TBZ 450) tuvieron efecto nulo sobre la incidencia de PC en plátano (Figura 1.6). Similarmente, el tratamiento combinado SP+TBZ y el tratamiento TBZ 600 fueron los mejores para reducir la severidad, con valores de 98.8% de reducción de severidad de PC para ambos, seguido de los tratamientos SP 90 y TBZ 450, con valores de 72.6 y 50.0% de reducción de severidad de PC, respectivamente. El tratamiento TBZ 225 modestamente redujo la severidad de PC, con un valor de 23.8% de reducción de severidad (Figura 1.6).



**Figura 1.6.** Efecto de silicato de potasio solo o combinado con TBZ sobre la pudrición de la corona en plátano cv. Enano Gigante, inoculado artificialmente con *C. musae*, tratado 1 h más tarde durante 20 min a 40°C. Las reducciones de la incidencia y severidad se determinaron con respecto al tratamiento control tratado con agua (incidencia y severidad de 100%). Columnas con letras diferentes indican diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de la diferencia mínima significativa de Fisher ( $P \leq 0.05$ ) aplicado a datos transformados al arco seno. Barras indican error típico (ET;  $n = 4$ ). SP= silicato de potasio, TBZ = tiabendazol, TSI = tratamiento sin inocular, ET = error típico. Se muestran valores de medias no transformados.

#### 1.5.1.7. Efecto del silicato de potasio en la calidad del banano

En general, el SP a 90 mM durante 20 min calentado (40°C) o no calentado (20°C durante 1 min) no tuvieron efectos significativos ( $p \leq 0.05$ ) sobre los atributos de calidad del fruto de banano (Cuadro 1.1).

**Cuadro 1.1.** Efecto del silicato de potasio en la calidad del banano

Tratamientos	FF (kgf)	PPMF (%)	PFI (g)	PCF (g)	PPF (g)	CSST (B°)	AT (% de ácido málico)
Testigo	0.562±0.07a	9.39±4.5a	206.05±29a	70.14±10a	135.12±20a	18.41±0.86a	0.24±0.08a
SP 90Mm a 20°C	0.559±0.06a	9.01±3.7a	210.78±32a	72.97±10a	137.81±22a	18.75±1.23a	0.27±0.04a
SP 90Mm a 40°C	0.593±0.09a	8.59±3.4a	197.64±28a	68.83±09a	128.81±20a	17.45±1.39a	0.30±0.06a

n = 20 repeticiones por tratamiento. Firmeza de fruto (FF), pérdida de peso de mano de fruto (PPMF), peso de fruto individual (PFI), peso de cáscara de fruto (PCF), peso de pulpa de fruto (PPF), contenido de sólidos solubles totales (CSST) y acidez titulable (AT). Para cada columna, valores de medias ± error estándar de medias con diferentes letras son estadísticamente diferente (Fisher;  $p \leq 0.05$ ).

## 1.6. DISCUSIÓN

En el presente estudio, primero, se determinó el efecto del silicato de potasio (SP) *in vitro* sobre el crecimiento micelial y la germinación de conidios del hongo *C. musae*; segundo, se determinó el efecto de SP sobre la PC en experimentos primarios *in vivo*; tercero, se evaluó la influencia de la temperatura de baños en la efectividad del SP; cuarto, se determinó la efectividad del SP aplicado sólo o combinado con bajas dosis de TBZ sobre la PC; y quinto, se evaluó el efecto del SP sobre la calidad del plátano.

Los hallazgos del presente estudio revelan que el crecimiento micelial de *C. musae* se inhibe por completo con 90 mM de SP, y la germinación de conidios a 200 mM de SP. Otros estudios similares al nuestro han informado que el SP tiene acción de fungitoxicidad directa. Bekker *et al.* (2006) reportan que 40 mL.L<sup>-1</sup> de SP inhibe completamente el crecimiento micelial de *Colletotrichum coccodes* y *Fusarium solani*, mientras que 80 mL.L<sup>-1</sup> inhibe totalmente a *Drechslera sp* y *Fusarium oxysporum*. Recientemente, Vidal-Vergara *et al.* (2022) encontraron que el crecimiento del micelio de *C. brevisporum* se inhibe hasta 93% a una concentración de 3% de SP.

Otros investigadores han estudiado el efecto de fungitoxicidad de otras sales, algunas inhiben el crecimiento micelial de *C. musae* hasta 85% (90 g L<sup>-1</sup> de hipoclorito de sodio), otras inhiben completamente la germinación de conidios (4 g l<sup>-1</sup> de carbonato de sodio, 5 g l<sup>-1</sup> de hipoclorito de sodio, bicarbonato de sodio, cloruro de calcio y 6 g l<sup>-1</sup> de cloruro

de sodio) (Alvindhia and Natsuaki 2007). Una concentración de 300 mM de bicarbonato de sodio reduce el crecimiento del micelio en un 95 % (De Costa and Gunawardhana, 2012). Aplicaciones de 15 mM de ácido propiónico reducen hasta 75% el crecimiento micelial de *C. musae* (Khan *et al.*, 2001). Un estudio reciente revela que concentraciones de 20 mg l<sup>-1</sup> de hinokitiol inhibe completamente el crecimiento micelial de *C. musae* (Qiao *et al.*, 2022).

También se reporta que el aceite de clavo (0,1 µl/ml) suprime totalmente el crecimiento micelial de *C. musae* (Rizwana, 2018). Los valores de inhibición de crecimiento micelial reportados a 90 g lL<sup>-1</sup> de hipoclorito de sodio (Alvindhia and Natsuaki 2007), 300 mM de bicarbonato de sodio (De Costa and Gunawardhana, 2012) y de 15 mM de ácido propiónico (Khan *et al.*, 2001) son inferiores al valor obtenido a 90mM de SP en el presente trabajo. Tener efectos perjudiciales en el crecimiento micelial reduce la infección de *C. musae* y el posterior desarrollo de la enfermedad (De Costa and Gunawardhana, 2012).

En cuanto al efecto del SP sobre la PC en experimentos primarios *in vivo*, nuestro resultado obtenido a 90 mM de SP, respaldan los hallazgos de Khan *et al.* (2001), quienes reportan una reducción de severidad e incidencia de *C. musae* con SP. También es consistente con el trabajo de Moscoso-Ramírez and Palou (2014) quienes reportan una mayor efectividad en el control de *Penicillium italicum* en naranjas “Valencia Late” con 90 mM de SP tanto en tratamientos preventivos como curativos. Recientemente Qiao *et al.* (2022) reportan una reducción de 72.4% en la severidad de la PC aplicando 100 mg L<sup>-1</sup> de hinokitiol, el cual es superior al obtenido en nuestro estudio. En adición, De Costa and Gunawardhana (2012) informaron una reducción de 45% de la incidencia de la PC en tratamientos preventivos de 45% cuando se utiliza 300 mM de bicarbonato de sodio. Vidal-Vergara *et al.* (2022) no encontraron efecto curativo significativo del SP sobre la incidencia y severidad de la antracnosis en frutos de papaya cv. Maradol, pero si un efecto preventivo contra la enfermedad a 90 mM.

Los resultados del presente estudio sugirieron que el SP tiene actividad antifúngica tanto protectoras como curativas contra *C. musae*; tales actividades inhibitoras y/o antifúngicas contra *C. musae* podrían deberse a diferentes modos de acción del SP (De

Costa and Gunawardhana, 2012). Varios de los trabajos de investigación aquí mencionados e incluyendo el nuestro, indican que el SP se comporta como un regulador de crecimiento en lo que respecta a su actividad antifúngica, es decir, son más efectivos a una dosis óptima. En contraste, los fungicidas convencionales tienen un efecto contra las enfermedades directamente proporcional a sus concentraciones. Esta hipótesis es apoyada por nuestros resultados de control sobre la severidad de la PC en los experimentos primarios *in vivo* tanto en tratamientos curativos como preventivos en este estudio.

Se cree que el Silicio (Si) tiene un efecto directo sobre los conidios del hongo. Por ejemplo, Liu *et al.* (2010) reportó daños sobre la membrana plasmática de conidios de *P. digitatum* tratadas con Si. Otros trabajos de investigación atribuyen la acción antifúngica del Si a un efecto indirecto sobre el hospedero, formando barreras físicas o mecánicas a la penetración de patógenos a nivel de la pared celular (Datnoff *et al.*, 2001; Buonauro *et al.*, 2009). Además, el Si puede inducir mecanismos de defensa bioquímica de las plantas, incluyendo la acumulación de lignina, compuestos fenólicos y proteínas relacionada a patogénesis (Edson *et al.*, 2015).

Respecto a la influencia de la temperatura de baño en la efectividad del SP. Aunque el tratamiento curativo de baño a 50°C con SP a 90 mM durante 20 min, presentó una reducción significativa de la severidad de la PC, no es recomendable su uso dado que la cáscara del fruto presentó quemadura. Ummarat *et al.* (2011) reportan resultados similares de quemadura de cáscara del fruto del cv. Gros Michel, a 50°C. En el presente estudio, el tratamiento de baño curativo de SP a 90 mM durante 20 min calentado a 40°C (SP 40°C) presentó el mayor porcentaje (77.41%) de reducción de severidad de PC, que supera ampliamente al valor reportado (45%) con 300 mM de bicarbonato de sodio (De Costa and Gunawardhana, 2012), pero es similar (77.5%) al valor obtenido con concentraciones 1% (w/v) de bicarbonato de sodio calentado a 50°C durante 20 min (Alvindhia, 2013).

Los hallazgos del presente estudio demuestran que existe un efecto sinérgico entre los tratamientos térmicos y el SP. Considerando que el tratamiento de 90 mM de SP redujo 59.5% la severidad de PC (Figura 1.5) y tomando en cuenta que este mismo tratamiento



en combinación con agua caliente (40°C) presentó 77.41% de reducción (Figura 1.5), entonces el tratamiento térmico redujo un 17.9% la severidad de PC. El efecto del tratamiento con agua caliente es fungistático y no tiene acción residual para prevenir el desarrollo de hongos después del tratamiento (Alvindia, 2012) y actúa directamente sobre la viabilidad de las esporas y su esporulación (Fallik, 2004).

El valor de severidad de la PC como resultado de la aplicación del tratamiento de baño a 40°C con SP a 90 mM durante 20 min (SP 40°) encontrados en el presente estudio como control preventivo son más altos (70.2%) que los reportados por el tratamiento con 0.6 g l<sup>-1</sup> de imazalil (59%) calentado a 40°C para controlar la antracnosis en plátano (Vilaplana *et al.*, 2018). Además, nuestros resultados son ligeramente superior al valor obtenido con carbonato de sodio (65%), hipoclorito de sodio (61%) y cloruro de calcio (61%) (Alvindia and Natsuaki 2007), pero fue ligeramente inferior, al reportado en el tratamiento de 5 g l<sup>-1</sup> de bicarbonato de sodio calentado a 50°C (77.59%) (Alvindia, 2013).

Recientemente Vidal-Vergara *et al.* (2022) reportan que una concentración de 1.5% de SP es efectivo para reducir la incidencia de antracnosis en frutos de papaya cv. Maradol. La efectividad del tratamiento térmico en combinación con SP, como tratamiento preventivo de PC, fue similar al tratamiento curativo. Prasetia *et al.* (2018) reportan efecto sinérgico similar entre agua caliente y quitosano en términos de mejorar la resistencia de la fruta contra *C. musae*. Estudios anteriores mencionan que el tratamiento con agua caliente induce resistencia tisular de la fruta que impacta en la reducción del crecimiento de patógenos (De Costa, Erabadupitiya, 2012; Dissanayake *et al.*, 2015).

Cuando se determinó el efecto del SP aplicado sólo o en combinación con bajas dosis de TBZ en tratamientos curativos contra la PC, el tratamiento combinado de SP a 90 mM con 225 ppm de TBZ (SP+TBZ) no solo mejoró el control de la severidad (98.8% de reducción de severidad), sino también de la incidencia (91.6% de reducción de incidencia). Esto nos sugiere que existe un efecto de sinergia entre las dos sustancias que cuando se aplica solamente SP, de hecho, el SP aplicado sólo no reduce la incidencia de la PC; incluso el tratamiento combinado fue mucho más efectivo que la dosis comercial de TBZ (450 ppm) y fue igual a la dosis regional de TBZ (600 ppm). Un

efecto sinérgico de hasta 96% de inhibición de crecimiento micelial de *C. musae* se reporta en la combinación de hidroxianisol butilado (BHA) más TBZ (Khan *et al.*, 2001).

También se reporta que la goma arábica en combinación con quitosano reduce completamente el crecimiento micelial de *C. musae* (Maqbool *et al.*, 2010), el carbonato de sodio en combinación con surfactante reducen el 65% de la PC (Alvindhia and Natsuaki, 2007). Los hallazgos de la presente investigación difieren con otros autores que reportan nula acción antifúngica al combinar sorbato de potasio ( $C_6H_7KO_2$ ) más TBZ contra *Penicillium expansum* (Fadda *et al.*, 2015). Tampoco se encontró efecto sinérgico para controlar antracnosis en frutos de papaya causado por *C. brevisporum* al combinar SP con TBZ (Vidal-Vergara *et al.*, 2022). Sin embargo, el  $C_6H_7KO_2$  más agua caliente potencian la actividad del TBZ contra *P. digitatum* sensible al TBZ y resistente al TBZ (D' Aquino *et al.*, 2013a).

Por otro lado, nuestros resultados de la presente investigación sugieren que *C. musae* ha desarrollado algún grado de insensibilidad o resistencia a TBZ a dosis comercial (450 ppm) en el área de Cucuyulapa, Tabasco, y es probable que por esta razón el productor bananero de esta área incrementó la dosis de TBZ a 600 ppm, la cual es la dosis efectiva vigente en la región. Estudios anteriores han reportado resistencia a benzimidazoles (grupo químico al que pertenece el TBZ) en aislados de *C. truncatum*, en el gen TUB-2 (Torres-Calzada *et al.*, 2015), específicamente mutaciones del gen en varias especies de hongos (Downing, 2000). Estudios similares al nuestro reportan que las concentraciones de sólidos solubles y acidez titulable no se ven afectada por tratamientos térmicos (Kapila *et al.*, 2015; Prasetia *et al.*, 2018; Vilaplana *et al.*, 2018), ni por tratamientos de SP (Nikagolla *et al.*, 2019). La firmeza de fruto y el peso de fruto en cv. Gros Michel (Ummarat *et al.*, 2011) y *Musa acuminata* (Vilaplana *et al.*, 2018) no se afecta negativamente con tratamiento térmico de 40°C. Por lo tanto, los parámetros de calidad del fruto del banano se pueden mantener a través de tratamiento con agua caliente hasta 40°C, según los presentes resultados, por lo que este tratamiento puede ser utilizado para estudios de la calidad sensorial.

## 1.7. CONCLUSIÓN

El SP inhibe eficazmente el crecimiento micelial y la germinación de conidios de *C. musae in vitro* y muestra actividad protectora y curativa únicamente contra la severidad de PC en experimentos primarios *in vivo*. La temperatura de baño a 40°C incrementó la efectividad del SP. El tratamiento combinado de SP con dosis bajas de TBZ fue altamente efectivo contra la PC, reduciendo tanto la incidencia como la severidad de la enfermedad en tratamientos curativos. Además, que el SP no afecta la calidad de frutos del banano.

## CAPÍTULO II. CONTROL DE PUDRICIÓN DE LA CORONA CON CARBONATO DE POTASIO EN BANANO CV. ENANO GIGANTE

### 2.1. RESUMEN

Se determinó la actividad antifúngica del carbonato de potasio (CP) en postcosecha contra la pudrición de la corona (PC) del banano cv. 'Enano Gigante' inoculado artificialmente con *Colletotrichum musae* e incubado a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 7 días. Se probaron tratamientos de CP mediante experimentos *in vitro* y primarios *in vivo*.

La concentración preliminar *in vivo* de 175 mM de CP se seleccionó como la más efectiva y se usó en los experimentos de la influencia de la temperatura de baños en la efectividad del CP. Tratamientos de baños curativos de CP a 175 mM a  $40^\circ\text{C}$  durante 20 min aplicado solo o combinado con bajas dosis de tiabendazol (TBZ) se evaluaron sobre la PC, así como también el efecto del CP sobre la calidad del plátano. El CP a 150 mM inhibió totalmente el crecimiento micelial y concentraciones de 200 mM de CP inhibió la germinación de conidios de *C. musae*.

En experimentos primarios *in vivo*, la concentración de 175 mM de CP significativamente redujo la incidencia de la PC solo en tratamientos curativos (33.33%), mientras que la severidad en tratamientos curativos se redujo en 90.47%.

Entre los baños con CP a 175 mM durante 20 min probados a diferentes temperaturas, el baño a  $40^\circ\text{C}$  curativo fue seleccionado como el más efectivo y usado para experimentos subsecuentes.

El CP combinado con TBZ a 225 ppm no mejoró la efectividad de control curativo sobre la PC. El CP no afecta la calidad de fruto del banano.

**Palabras claves:** *Colletotrichum musae*, tiabendazol, postcosecha, severidad, calidad.

### 2.2. ABSTRACT

The postharvest antifungal activity of potassium carbonate (CP) against crown rot (CR) of banana cv. 'Enano Gigante' artificially inoculated with *Colletotrichum musae* and

incubated at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  for 7 days. CP treatments were tested by *in vitro* and *in vivo* primary experiments.

The *in vivo* preliminary concentration of 175 mM CP was selected as the most effective and it was used in the experiments on the influence of dip temperature on the effectiveness of CP. Curative dip treatments of CP at 175 mM at  $40^\circ\text{C}$  for 20 min applied alone or combined with low doses of thiabendazole (TBZ) were evaluated on PC. Finally, the effect of CP on banana fruit quality was determined. CP at 150 mM totally inhibited the mycelial growth, and 200 mM CP inhibited the germination of *C. musae* conidia.

In *in vivo* primary experiments, 170 mM CP significantly reduced either the incidence (33.33% of reduction) or the severity (90.47% of reduction) of PC, but only in curative treatments. Among the dips with CP at 175 mM for 20 min tested at different temperatures, the curative dip at  $40^\circ\text{C}$  was selected as the most effective and it was used for subsequent experiments.

CP combined with TBZ at 225 ppm did not improve the curative control effectiveness on CR. CP does not affect the quality of banana fruit.

**Keywords:** *Colletotrichum musae*, thiabendazole, postharvest, severity, quality.

### 2.3. INTRODUCCIÓN

El plátano es el tercer producto más importante del mundo en el grupo de los frutos y un alimento básico para más de 400 millones de personas (Holscher *et al.*, 2014). Sin embargo, se ve afectado por varias enfermedades fúngicas postcosecha incluyendo la pudrición de la corona (Kulkarni *et al.*, 2021), la antracnosis (Vilaplana *et al.*, 2018a; Vilaplana *et al.*, 2018b) y la pudrición del cigarro (Youssef *et al.*, 2020), siendo la pudrición de la corona la enfermedad más importante económicamente (Krauss and Johanson, 2000; Lassois *et al.*, 2011; Kamel *et al.*, 2016; Yahan *et al.*, 2019).

La pudrición de la corona causada por un complejo fúngico, *Colletotrichum musae*, *Lasiodiplodia theobromae* (Kulkarni *et al.*, 2021) y *Fusarium musae* (Tava *et al.*, 2021), es la principal enfermedad en postcosecha en México y en todas las áreas productoras de banano en todo el mundo (Lassois and De Bellaire, 2014).

El control de la enfermedad se realiza principalmente con fungicidas químicos sintéticos convencionales como procloraz, imazalil y tiabendazol, entre otros. Sin embargo, estos fungicidas traen consigo varios efectos negativos como la contaminación del medio ambiente, la acumulación de residuos en el fruto por arriba del límite permisible y la aparición de cepas del hongo resistentes a los fungicidas (Mari *et al.*, 2003; Jinasena *et al.*, 2011; Gatto *et al.*, 2011).

Ante esta problemática, se deben aplicar métodos culturales, físicos, químicos de baja toxicidad y biológicos como una alternativa a los fungicidas sintéticos convencionales para controlar las enfermedades postcosecha de los frutos del plátano (Alvindhia and Natsuaki, 2007; Lassois *et al.*, 2008) además, de ser amigables con el ambiente.

Las sustancias químicas de baja toxicidad reconocidas como GRAS incluyen algunos aceites esenciales, extractos de plantas y otros compuestos naturales; además, de ciertas sales orgánicas e inorgánicas tales como: el cloruro de calcio, carbonatos, sorbatos, benzoatos, acetatos, sales de silicatos, entre otras (Palou and Pérez-Gago, 2021).

Una de las sustancias GRAS es el carbonato de potasio, el cual ha sido reportado tener actividad antifúngica contra enfermedades postcosecha. Por ejemplo, Sai and Pongener (2022) reportaron 67.2, 69.2 y 72% de inhibición de crecimiento micelial de *Penicillium expansum* aislado de frutos enfermos de mandarina cuando se aplicaron 15, 20 y 25 mM de carbonato de potasio. Así mismo, Askarne *et al.* (2013) mencionan que CP a 20 mM inhibe en un 55.66% el crecimiento micelial de *P. italicum*. Otro estudio revela que CP al 1% inhibe el crecimiento micelial de *Monilinia fructicola* (Palou, 2018).

Estudios *in vivo* reportan que el CP a 400 mM redujeron la incidencia y severidad de podredumbre azul en mandarinas y clementinas hasta 58.3 y 44.7%, respectivamente (Askarne *et al.*, 2013). Asimismo, Youssef and Roberto (2014) reportaron una incidencia de la podredumbre gris (*Botrytis cinérea*) en uva de 9.3% en un periodo de almacenamiento de 30 d a 2°C más 7 días de vida de anaquel cuando se aplicó CP en baño al 1%, mientras en el testigo se observó una incidencia de 54.3%. Sin embargo, ninguna información está disponible sobre el efecto del CP sobre la PC en banano. Bajo

este esquema, los objetivos de este trabajo de investigación fueron: i) determinar el efecto *in vitro* del CP sobre el crecimiento micelial de *C. musae*, ii) determinar el efecto primario *in vivo* del CP sobre la PC, iii) determinar la influencia de la temperatura en los tratamientos de baño en la efectividad de CP, iv) determinar el efecto del CP solo o combinado con bajas dosis de tiabendazol sobre la PC, y v) evaluar el efecto del CP sobre la calidad de frutos del banano.

## **2.4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.4.1. Patógeno fúngico**

El patógeno *Colletotrichum musae* se obtuvo de la colección de cultivos fúngicos del Campus Tabasco. El hongo fue resembrado y cultivado en cajas de Petri con medio papa dextrosa agar (PDA) e incubado a 25°C durante 7 a 14 días a obscuridad.

### **2.4.2. Experimentos *in vitro***

#### **2.4.2.1. Efecto del carbonato de potasio en el crecimiento micelial de *Colletotrichum musae***

Para evaluar el efecto del carbonato de potasio (CP) sobre el crecimiento micelial de *C. musae*, se probaron los siguientes tratamientos: 70, 90, 120, 150 y 200 mM, más el control. Se usó un diseño experimental completamente al azar. Cada tratamiento consistió de 5 cajas de Petri conteniendo PDA adicionado con las diferentes concentraciones de CP (cada caja de Petri fue una repetición).

Se preparó una solución acuosa madre o stock a 1000 mM de CP, la cual se adicionó al medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), cuando dicho medio estaba a la temperatura de 45-50°C para lograr las concentraciones (Tratamientos) finales deseadas de CP. Aproximadamente 20 ml de medio PDA con el CP adicionado se vaciaron en cada caja Petri. 24 horas después del vaciado en las cajas Petri, un disco de micelio de 5 mm de diámetro con medio de cultivo PDA de *C. musae* de 7 días de edad, se tomó de la colonia y se colocó en el centro de otra caja de Petri (100 mm de diámetro), conteniendo las concentraciones deseadas de CP adicionado en el PDA y se incubó a 25°C a obscuridad. El experimento se realizó por duplicado.

Se midieron dos diámetros (mm) de la colonia de *C. musae* de manera perpendicular uno del otro a los 9 días de incubación. El crecimiento micelial se expresó como la inhibición de crecimiento micelial en porcentaje (%ICM), la cual se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\%ICM = ((DCC - DCT) / DCC) * 100$$

Dónde:

DCC= Diámetro de la colonia en el control en mm

DCT= Diámetro de la colonia en el tratamiento en mm

#### **2.4.2.2. Efecto del carbonato de potasio en la germinación de conidios de *Colletotrichum musae***

Se evaluaron seis tratamientos con CP a 70, 90, 110, 130, 150 y 200 mM, más el control sobre la germinación de conidios de *C. musae*. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar. El ensayo se realizó usando la técnica del portaobjeto con concavidad. Cada tratamiento con cuatro repeticiones (cada repetición fue una concavidad). Se preparó una solución acuosa madre a la concentración de 1000 mM de CP, la cual se adicionó al medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), cuando dicho medio estaba a la temperatura de 45-50°C.

Para lograr las concentraciones finales deseadas de CP, aproximadamente 100 µL de PDA con el CP adicionado de los diferentes tratamientos se colocaron en cada concavidad de los portaobjetos, usando una micropipeta. Transcurrido 24 horas, se colocó y distribuyó una alícuota de 20 µL de una suspensión de conidios de *C. musae* a la concentración de  $10^6$  conidios mL<sup>-1</sup> de 14 días de edad sobre la superficie del PDA añadido con CP contenida en las concavidades de los portaobjetos. Los portaobjetos con concavidad se colocaron dentro de cajas de Petri y se incubaron a 25°C a oscuridad.

Se valoró la germinación de conidios hasta que germinó más del 80% de los conidios en el control. Se realizó el conteo de conidios germinados de un total de 200 conidios por tratamiento (cuatro repeticiones por tratamiento) a las 12 h después de la inoculación. Los conidios se consideraron germinados cuando la longitud del tubo germinativo correspondía a la mitad o más del diámetro del conidio. El experimento se realizó dos



veces. La variable se expresó como el porcentaje de la inhibición de germinación de conidios de *C. musae* (%IGC) y se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\%IGC = (1 - (CGT/CGC)) * 100$$

Dónde:

CGT= número de conidios germinados en el tratamiento

CGC= número de conidios germinados en el control

### **2.4.3. Experimentos in vivo**

#### **2.4.3.1. Fruta**

Los experimentos se realizaron con bananas (*Musa paradisiaca*) cv. 'Enano Gigante'. Los racimos de plátano se recolectaron en campos de producción comercial del área de Cucuyulapa, Cunduacán, Tabasco. Antes de cada experimento, los racimos se desmanaron, y se seleccionaron manos libres de daños, se aleatorizaron, lavaron con agua de la llave, y secaron a temperatura ambiente.

#### **2.4.3.2. Desinfección y maduración artificial de la fruta**

El agua de la llave para la limpieza de la fruta y deslatexado, se desinfectó con hipoclorito de sodio (hipoclorito de sodio 5% v/v, Hycel reactivos químicos, Jalisco, México) a 250 ppm y luego se secó a temperatura ambiente. Después de 0.5 h de secado, la fruta se desinfectó con una solución acuosa de hipoclorito de sodio al 1.0% durante 2 min y se enjuagó para eliminar el cloro residual y se secó a temperatura ambiente por 0.5 h. Posteriormente la fruta se trató con una solución acuosa de etefón a 2000 ppm (ETHREL 21.7% LS, Bayer, México, México) durante 1 min para su maduración forzada. Finalmente, las coronas de las manos de plátano se desinfectaron por inmersión durante 30 s con alcohol etílico al 70%.

#### **2.4.3.3. Preparación de la suspensión de conidios de *C. musae***

Los conidios de *C. musae* de una colonia de 14 días de edad se tomaron de la superficie de las cajas de Petri conteniendo PDA y se transfirieron a un tubo de ensayo que contenía una solución de agua estéril con 0,05% (p/v) de Tween 80. Posteriormente la

suspensión de conidios contenida en el tubo de ensayo se filtró usando una gasa estéril para eliminar los fragmentos miceliales del hongo. En seguida dos alícuotas de la suspensión de conidios filtrado fueron colocadas sobre un hemacitómetro para realizar el conteo y finalmente ajustar una concentración de  $10^6$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  del hongo.

#### **2.4.3.4 Efecto del carbonato de potasio sobre la pudrición de corona en experimentos primarios *in vivo***

La concentración de CP que inhibió completamente o que obtuvo el mayor porcentaje de inhibición de los conidios de *C. musae* se utilizaron como punto de partida para determinar el rango de concentraciones a probar en ensayos primarios *in vivo* utilizando frutos de plátano cv. Enano Gigante en madurez fisiológica de tamaño uniforme y libre de daños. Se removieron los remanentes florales, la suciedad y las impurezas.

Tanto para el tratamiento preventivo como curativo, la fruta se desinfectó y maduró siguiendo el procedimiento de la sección de “desinfección y maduración artificial de la fruta”. La preparación del inóculo fúngico se realizó siguiendo el procedimiento descrito en la sección de “preparación de la suspensión de conidios de *C. musae*” de Materiales y Métodos. Se aplicaron los tratamientos de 50, 70, 90, 120, 150, 175 y 200 mM de CP más un testigo y un tratamiento sin inocular (TSI) con un atomizador sobre la superficie de corte de la corona hasta cubrirlo completamente, y se inoculó 1 h después (tratamiento preventivo) o antes (tratamiento curativo), colocando 100  $\mu\text{L}$  de la suspensión de  $10^6$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  de *C. musae* en la superficie de corte de la corona y se dispersó con ayuda de una brocha o pincel.

Se usó un diseño experimental completamente al azar y cada tratamiento contó de tres repeticiones con tres manos de 4-6 frutos cada una. Posteriormente la fruta inoculada y tratada o viceversa se colocó en cajas de plástico de 10 kg y se incubaron a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y 80-90% de humedad relativa (HR) durante 7 días. La lectura de severidad se tomó a los 7 días tras la inoculación del hongo.

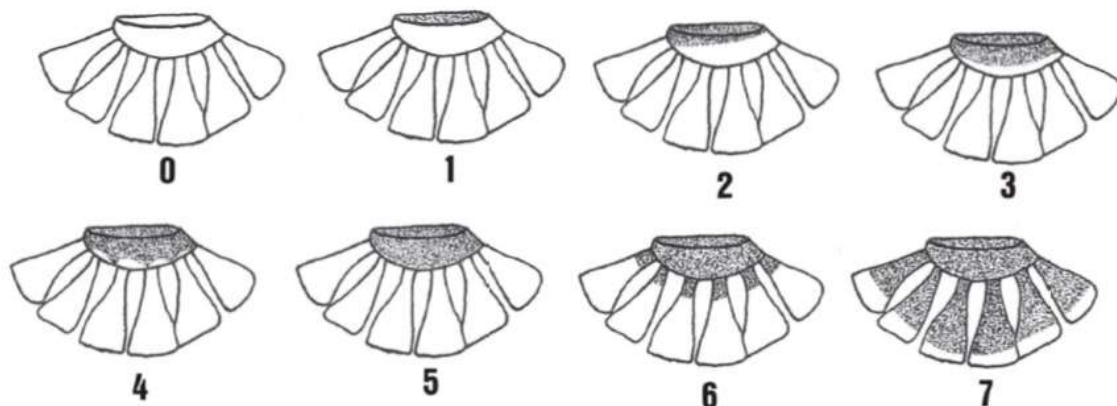
Se valoró la severidad de la pudrición de corona usando la escala de severidad (Figura 2.1) propuesta por Alvindia *et al.* (2004) y se expresó como el porcentaje de reducción de severidad de la enfermedad.

Donde:

---

0	Ninguna decoloración o crecimiento micelial sobre la corona
1	Decoloración o crecimiento micelial limitado a la superficie del corte de la corona
2	Decoloración o crecimiento micelial menos de 10% del área de la corona
3	11-40% de decoloración o crecimiento micelial sobre el área de la corona
4	41-70% de decoloración o crecimiento micelial sobre el área de la corona
5	71-100% de decoloración o crecimiento micelial sobre el área de la corona
6	Decoloración o crecimiento micelial sobre el pedicelo de los dedos
7	Decoloración o crecimiento micelial alcanza la pulpa de los dedos

---



**Figura 2.1.** Índice de clasificación visual de severidad de la pudrición de la corona de la mano del banano.

$$\% \text{ de reducción de la severidad de la pudrición de la corona} = ((IPC - IPT) / (IPC)) * 100$$

Donde: IPC es índice de la pudrición de la corona en el control y IPCT es índice de la pudrición de la corona en el tratamiento.

#### **2.4.3.5. Influencia de la temperatura de baño en la efectividad de carbonato de potasio.**

Para determinar la influencia de la temperatura de baño preventivos o curativos se usó la concentración más efectiva de CP (175 mM) seleccionada en los experimentos primarios *in vivo* y se realizaron ensayos utilizando frutos de plátano cv. Enano Gigante en madurez fisiológica. La fruta se desinfectó y maduró siguiendo el procedimiento de la

sección de “desinfección y maduración artificial de la fruta” de Materiales y Métodos”. La preparación del inóculo fúngico se realizó siguiendo el procedimiento descrito en la sección de “preparación de la suspensión de conidios de *C. musae*” de Materiales y Métodos. Los tratamientos evaluados fueron los siguientes: i) tratamiento sin inocular (TSI), ii) Testigo (sólo agua sin calentar), iii) agua caliente a 30°C (AC 30°C), iv) agua caliente a 40°C (AC 40°C), v) agua caliente a 45°C (AC 45°C), vi) carbonato de potasio a 175 mM a 30°C (CP 30°C), vii) carbonato de potasio a 175 mM calentado a 40°C (CP 40°C), y viii) carbonato de potasio 175 mM calentado a 45°C (CP 45°C). Todos los tratamientos de baño calentados se sometieron a 20 min de inmersión. Los tratamientos en baños fueron aplicados antes (tratamiento preventivo) o después (tratamiento curativo) de la inoculación del hongo.

La inoculación se realizó colocando 100 µL de la suspensión de  $10^6$  conidios mL<sup>-1</sup> de *C. musae* en la superficie de corte de la corona y se dispersó con ayuda de una brocha o pincel. Los tratamientos aplicados en baños se realizaron en neveras de plástico con un volumen de 18 L y los tratamientos que necesitaron ser calentados a las diferentes temperaturas fueron hechos con la ayuda de un calentador eléctrico manual para agua de capacidad de 21 L (Silverline, DC-CA, 1000 W).

Para la actividad curativa los baños se realizaron aproximadamente 1 h después de la inoculación del hongo. Los tratamientos fueron evaluados en un diseño experimental completamente al azar y se usaron 3 repeticiones de 4 manos (4-6 frutos por cada mano) por cada tratamiento. Las manos con fruta tratada e inoculada o viceversa se colocaron en cajas de plástico de 10 kg y se incubaron a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y 80-90% de HR durante 7 días en un cuarto de incubación del Campus Tabasco. Se valoraron la incidencia de la enfermedad (expresado como el porcentaje de reducción de la incidencia) y la severidad (expresado como el porcentaje de reducción de la severidad) de la pudrición de corona después del periodo de incubación.

#### **2.4.3.6. Actividad antifúngica del carbonato de potasio solo o combinado con dosis bajas de tiabendazol**

El CP en solución acuosa a 175 mM calentado a 40°C durante 20 min en tratamiento curativo fue el tratamiento más efectivo seleccionado de experimentos previos (experimentos primarios para el caso de la concentración de CP e influencia de la temperatura de baño sobre la efectividad de CP para el caso de la temperatura de baño y tipo de tratamiento) se usó para determinar la efectividad del CP solo o combinado con bajas dosis de tiabendazol (TBZ).

Los ensayos se realizaron utilizando frutos de plátano cv. Enano Gigante. La fruta se desinfectó, aplicó el tratamiento de maduración con etileno y se realizó la inoculación de acuerdo a los procedimientos respectivos descritos previamente en la sección de Materiales y Métodos. Los tratamientos evaluados fueron: tratamiento sin inocular (TSI), Testigo (solo agua sin calentar), CP a 175 mM aplicado solo a 40°C (CP 40°C), CP a 175 mM más TBZ a 225 ppm a 40°C (CP+TBZ), TBZ a 225 ppm (TBZ 225), TBZ a 450 ppm (TBZ 450) y TBZ a 600 ppm (TBZ 600).

Los tratamientos aplicados en baños se realizaron en neveras de plástico con un volumen de 18 L y los tratamientos que necesitaron ser calentados fueron hechos con la ayuda de un calentador eléctrico manual para agua de capacidad de 21 L (Silverline, DC-CA, 1000 W). Para el caso del tratamiento combinado de CP más TBZ, ambos químicos fueron mezclados físicamente en agua limpia en sus cantidades respectivas y agitados con una varilla de plástico. Se usaron 3 dosis de TBZ, una dosis baja (TBZ a 225 ppm), una dosis comercial (TBZ a 450 ppm) y una dosis regional (TBZ a 600 ppm). El diseño experimental fue un completamente al azar. Cada tratamiento consistió de 3 repeticiones de 4 manos (4-6 frutos por cada mano) cada una. Las manos con frutos se colocaron en cajas de plástico y se incubaron a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y 80-90% de HR durante 7 días. Se valoró la incidencia en porcentaje (no. De coronas enfermas/ no. De coronas totales) y la severidad de la pudrición de corona después del periodo de incubación. La incidencia fue expresada como la reducción de la incidencia en porcentaje, y la severidad fue expresada como la reducción de la severidad en porcentaje. Para medir la severidad se

utilizó la escala de severidad propuesta por Alwindia *et al.* (2004) mencionado previamente.

#### **2.4.3.7. Efecto del carbonato de potasio en la calidad del banano**

Para determinar el efecto del CP sobre la calidad de la fruta. Se determinó la calidad externa e interna de la fruta después de 6 días de la aplicación de los tratamientos.

Se usó un diseño experimental completamente al azar, con 20 frutos (cada fruto fue una repetición y se usaron frutos de la segunda y tercera mano del racimo). Los tratamientos evaluados fueron: Testigo (solo agua) durante 1 min, CP a 175 mM a 20 °C durante 1 min y CP a 175 mM a 40 °C durante 20 min. Los parámetros de calidad valorados fueron:

##### **Calidad externa**

- Pérdida de peso (%). Se midió el peso inicial (antes del tratamiento) y final (6 días después del tratamiento) de las manos en cada tratamiento.
- Peso de fruto (g). Se pesó el fruto individual de 20 frutos por tratamiento con ayuda de una balanza digital de 1510 g de capacidad con dos dígitos después del punto decimal.
- Firmeza del fruto (kgf). Se cortaron transversalmente los frutos en su parte media, luego se midió la firmeza con un penetrómetro usando un puntal de 8 mm de diámetro.
- Peso de pulpa y cáscara (g). Se pelaron 20 frutos y se pesaron separadamente la pulpa y la cáscara de los frutos.
- Relación peso de pulpa/peso de cáscara del fruto. Se obtuvieron dividiendo peso de pulpa entre peso de cáscara en 20 frutos.

##### **Calidad interna**

- Acidez titulable (% de ácido málico). Se realizó por titulación usando hidróxido de sodio a 0.1 N y fenolftaleína como indicador de la siguiente manera: se licuo 30 g de pulpa de plátano en 90 ml de agua destilada durante 2 min y filtro en tela organza. Se transfirió 25 ml de jugo filtrado a un matraz de 125 ml. Se adicionó 25 ml de agua destilada y 4-5 gotas del indicador fenolftaleína. Se llenó una bureta de 25 ml con hidróxido de sodio (NaOH) a 0.1 N y se ajustó a la marca cero después de eliminar las

burbujas. Se tituló con hidróxido de sodio 0.1 N hasta que el jugo cambió a color rosa. Se registró el volumen de NaOH a 0.1 N adicionado. Los resultados se expresaron como % de ácido málico.

- Contenido de sólidos solubles totales (CSST, °B). Se licuó 30 g de pulpa de plátano en 90 ml de agua destilada durante 2 min y se filtró en tela organza. Se colocó 3-4 gotas del filtrado en la superficie del prisma. Se realizó la lectura con el refractómetro (AOAC, 2005).

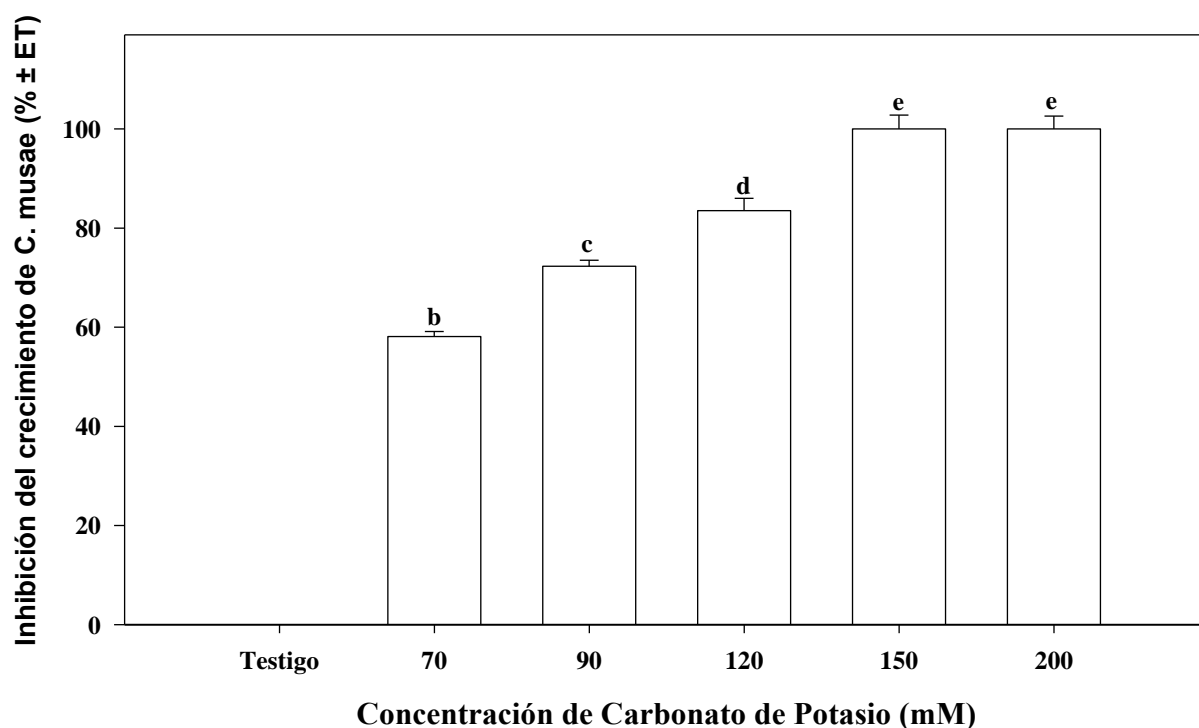
#### **2.4.3.8. Análisis estadístico**

Los datos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) con el software Statgraphics (Statgraphics Plus, v 5.1; Manugistics Inc., Rockville, Maryland, EE.UU.). Las reducciones de incidencia o severidad de la PC con respecto a los tratamientos testigo se calcularon como porcentajes. Los datos de reducción de severidad o incidencia en porcentaje de la pudrición de corona se transformaron al arco-seno de la raíz cuadrada antes de ser sometidas al ANOVA. La significancia estadística se consideró en el nivel  $P = 0.05$ . Se aplicó la prueba de medias de la diferencia mínima significativa (DMS) de Fisher para separar medias cuando fue necesario. Los valores mostrados son medias no transformadas.

## **2.5. RESULTADOS**

### **2.5.1 Efecto del carbonato de potasio en el crecimiento micelial de *Colletotrichum musae***

En general, todos los tratamientos (concentraciones) con CP adicionados al PDA tuvieron un efecto significativo ( $P \leq 0.05$ ) sobre la inhibición del crecimiento micelial de *C. musae* después de un periodo de incubación de 9 días a 25°C a obscuridad (Figura 2.2), pero particularmente las concentraciones de 150 y 200 mM de CP suprimieron totalmente el crecimiento micelial de *C. musae*, seguidos por la concentración de 120 mM de CP con un valor de inhibición del crecimiento micelial de 83.5%. El resto de las concentraciones con CP tuvieron una inhibición de crecimiento micelial de *C. musae* más bajas.

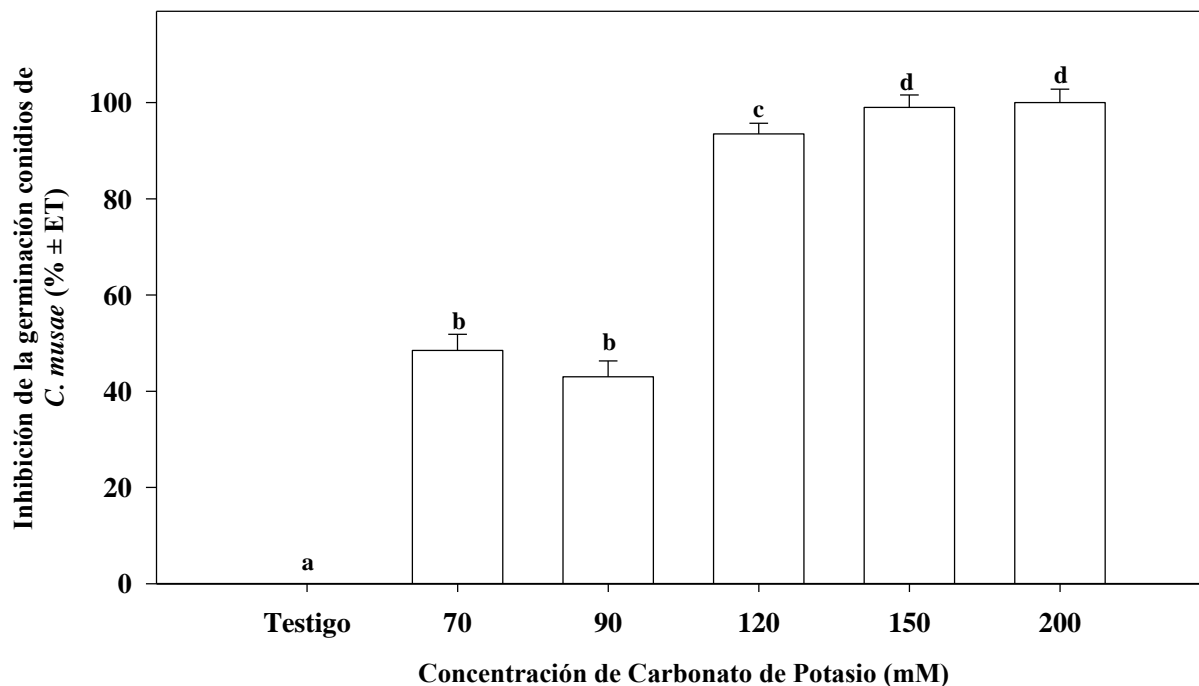


**Figura 2.2.** Efecto *in vitro* del carbonato de potasio sobre la inhibición de crecimiento micelial de *C. musae* después de 9 días de incubación a 25°C a obscuridad. Letras diferentes en columnas significan diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de la diferencia mínima significativa de Fisher ( $P \leq 0.05$ ) aplicado a datos transformados al arcoseno. Barra es el error típico (ET;  $n = 5$ ). Se muestran las medias de inhibición de crecimiento micelial no transformadas de dos experimentos.

### 2.5.2. Efecto del carbonato de potasio en la germinación de conidios de *Colletotrichum musae*

En general, todas las concentraciones evaluadas con CP adicionados al PDA tuvieron un efecto significativo ( $P \leq 0.05$ ) sobre la inhibición de la germinación de conidios de *C. musae* después de 12 h de incubación a 25°C. Las mejores concentraciones de CP fueron 150 y 200 mM, las cuales inhibieron totalmente el crecimiento micelial de *C. musae*, seguidos por la concentración de 120 mM de CP, con una inhibición de 93.5% del crecimiento micelial del hongo en comparación con el control (Figura 2.3). El resto de las concentraciones de CP tuvieron inhibiciones de crecimiento micelial del hongo más bajas. Por lo tanto, el CP a 150 mM se tomó como referencia para experimentos subsecuentes.





**Figura 2.3.** Efecto del carbonato de potasio sobre la germinación de conidios de *C. musae* incubados a 25°C a oscuridad durante 12 h. Columnas con letras diferentes indican diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de la diferencia mínima significativa de Fisher ( $P \leq 0.05$ ) aplicado a datos transformados al arcoseno. Barra indica error típico (ET;  $n = 4$ ). Se muestran medias de inhibición de germinación de conidios no transformadas de dos experimentos.

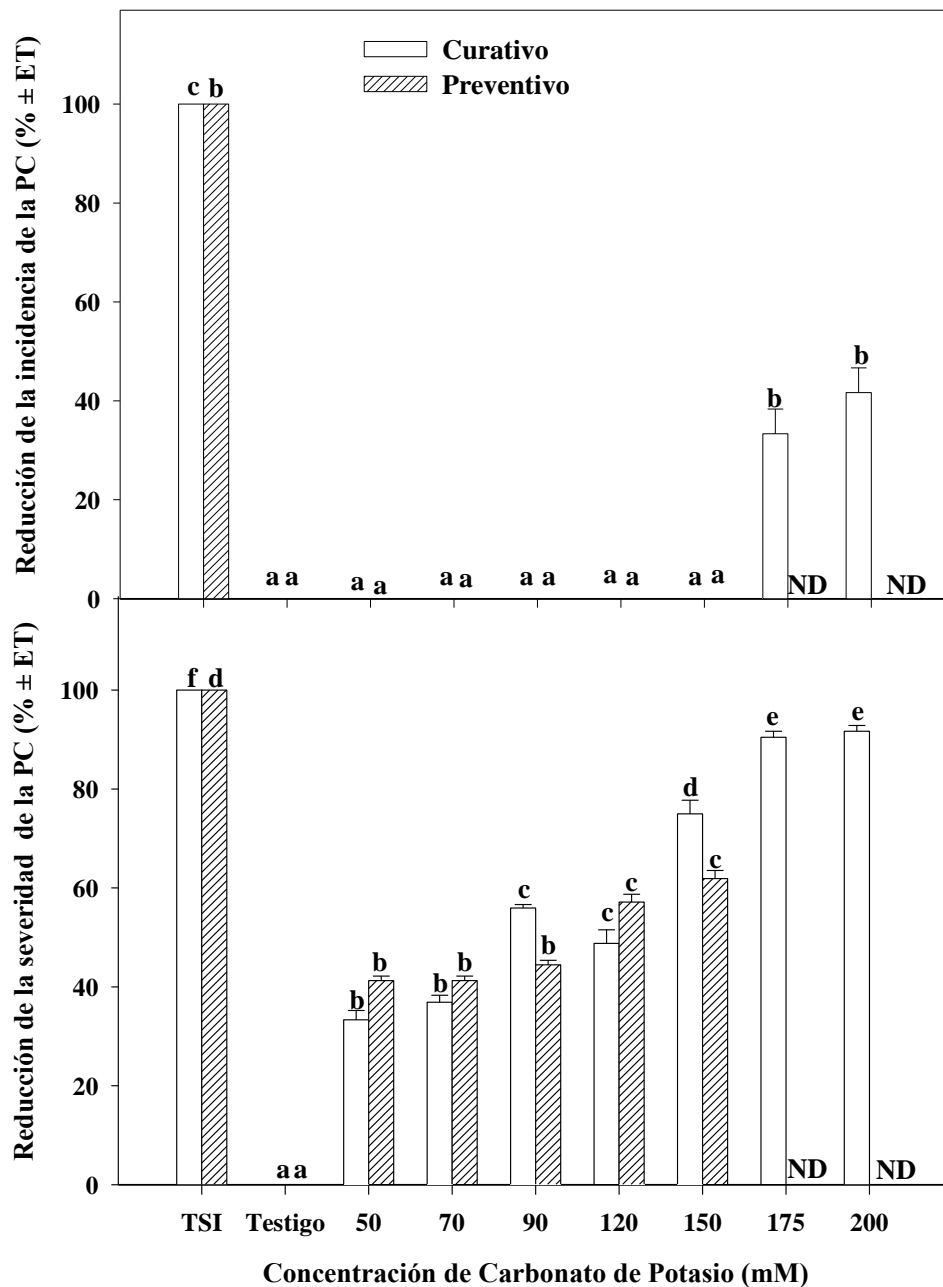
### 2.5.3. Efecto del carbonato de potasio sobre la pudrición de corona en experimentos primarios *in vivo*

En la Figura 2.4 se muestra el porcentaje de reducción de la incidencia y severidad de la PC del banano tanto en tratamientos curativos como preventivos, después de siete días de la inoculación de la corona con *C. musae* e incubadas a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y 80-90% de HR en diferentes concentraciones de CP. No se encontró un efecto preventivo del CP sobre la incidencia de la PC del banano en ninguna de las concentraciones probadas (50, 70, 90, 120, 150, 175 y 200 mM). En contraste, tratamientos con CP curativos tuvieron un efecto significativo ( $p \leq 0.05$ ) sobre la incidencia de la PC, pero únicamente con las concentraciones más altas (175 y 200 mM), con valores de reducción de incidencia de PC de 33.33 y 41.66%, respectivamente (Figura 2.4).

Con respecto al efecto del CP sobre la severidad de la PC, se encontró que todos los tratamientos con CP redujeron significativamente ( $p \leq 0.05$ ) la severidad de la PC tanto

preventivo como curativo (Figura 2.4). Por ejemplo, en tratamientos preventivos las concentraciones de 120 (57.14% de reducción de severidad de PC) y 150 mM (61.90% de reducción de severidad) de CP fueron las más efectivas para reducir la PC, seguidas por las concentraciones de 50, 70 y 90 mM de CP con valores de reducción de severidad de 41.26, 41.26 y 44.44%, respectivamente.

Respecto al efecto de los tratamientos con CP aplicado como curativo sobre la severidad de PC, se observó que las concentraciones de 175 y 200 mM de CP, redujeron altamente la severidad de la PC, con valores de 90.47 y 91.66% de reducción de severidad de la enfermedad, seguidas de las concentraciones de CP de 150, 90 y 120 mM, con valores de reducción de severidad de PC de 75, 55.95 y 48.8%, respectivamente. El resto de las concentraciones de CP tuvieron reducciones de severidad de la enfermedad más bajas. En base a nuestros resultados sobre el efecto curativo y preventivo del CP tanto en la incidencia como en la severidad en la pudrición de corona del banano Cv Enano Gigante, la concentración de 175 mM de CP fue seleccionada como el tratamiento más efectivo para realizar trabajos subsecuentes.



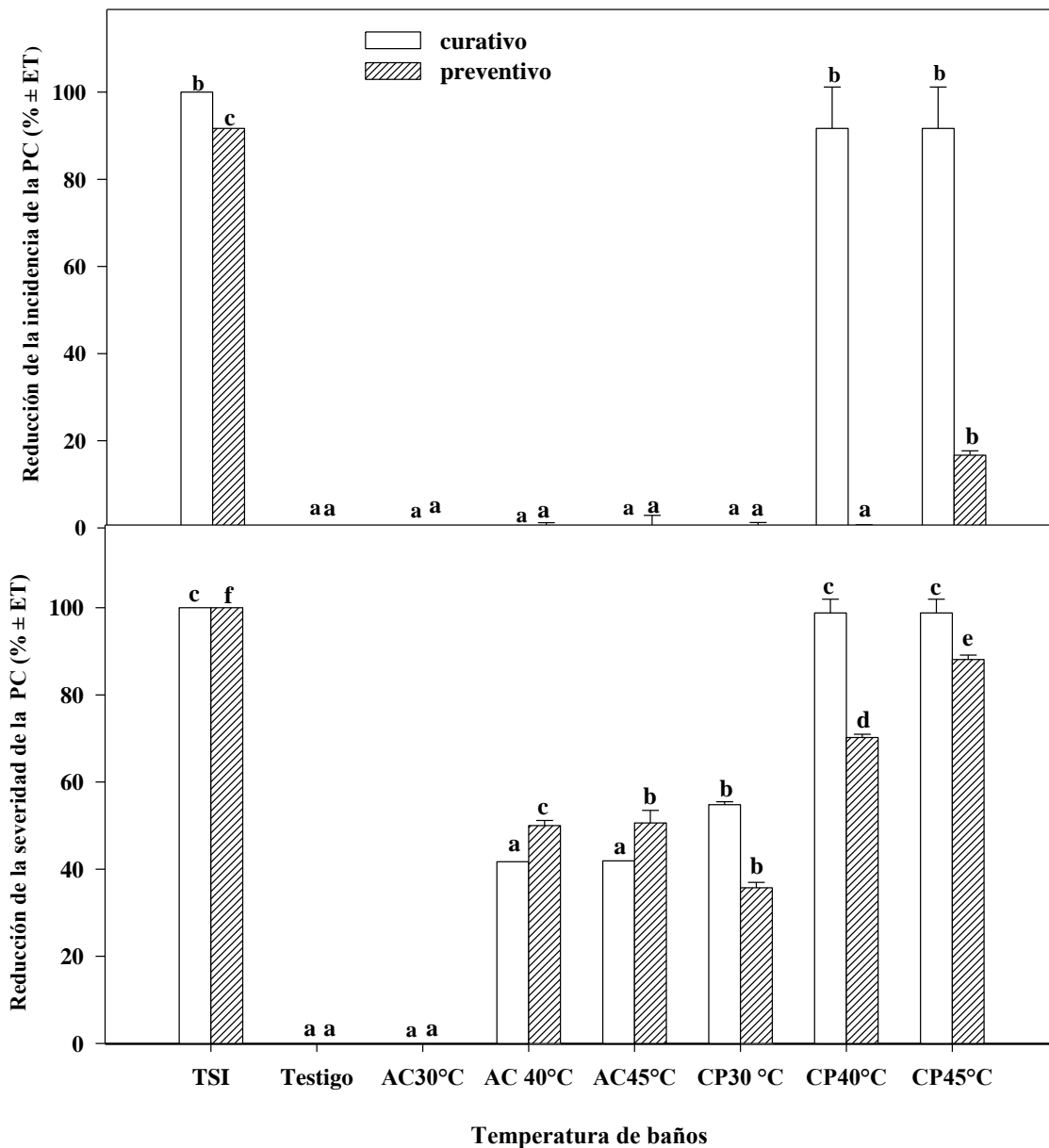
**Figura 2.4.** Efecto del carbonato de potasio sobre la pudrición de la corona en banano cv. Enano Gigante en experimentos primarios *in vivo*, inoculado artificialmente con *C. musae* tratado 1 h antes o después, e incubado durante 7 días a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y 80-90% de HR. Las reducciones de la severidad se determinaron con respecto al tratamiento control (Incidencia y severidad de 100 y 100 % para tratamiento preventivo e incidencia y severidad de 100 y 100% para tratamiento curativo). Para cada tipo de tratamiento, columnas con letras diferentes indican diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher ( $P \leq 0.05$ ) aplicado a datos transformados al arco seno. Barra indica error típico (ET;  $n = 3$ ). TSI = tratamiento sin inocular. Se muestran valores de medias no transformadas. ND = No determinado.

#### **2.5.4. Influencia de la temperatura de baño en la efectividad de carbonato de potasio**

En la Figura 2.5 se presenta la influencia de la temperatura de baño en la efectividad del CP, sobre la incidencia y severidad de la PC del banano tanto en tratamientos curativos como preventivos. En baños preventivos solo el tratamiento de CP45°C (175 mM de CP a 45°C) redujo la incidencia de la pudrición de la corona en un 16.66%, con respecto al testigo (Figura 2.5). En baños curativos ambos tratamientos CP40°C (175 mM de CP a 40°C) y CP45°C (175 mM de CP a 45°C) redujeron significativamente la incidencia de la PC, con un valor de 91.66% de reducción de la incidencia.

La mayor reducción de la severidad de la pudrición de la corona se observó en los tratamientos preventivos como curativos de CP40°C y CP45°C. El tratamiento preventivo CP45°C redujo en 88.10% la severidad de la PC y fue significativamente ( $p \leq 0.05$ ) fue superior al resto de los tratamientos. El segundo mejor tratamiento fue CP40°C (70.23% de reducción de severidad de la PC), seguido de los tratamientos de CP45°C, AC40°C y CP30°C con 50.6, 50.0 y 35.72% de reducción de severidad de la PC, respectivamente.

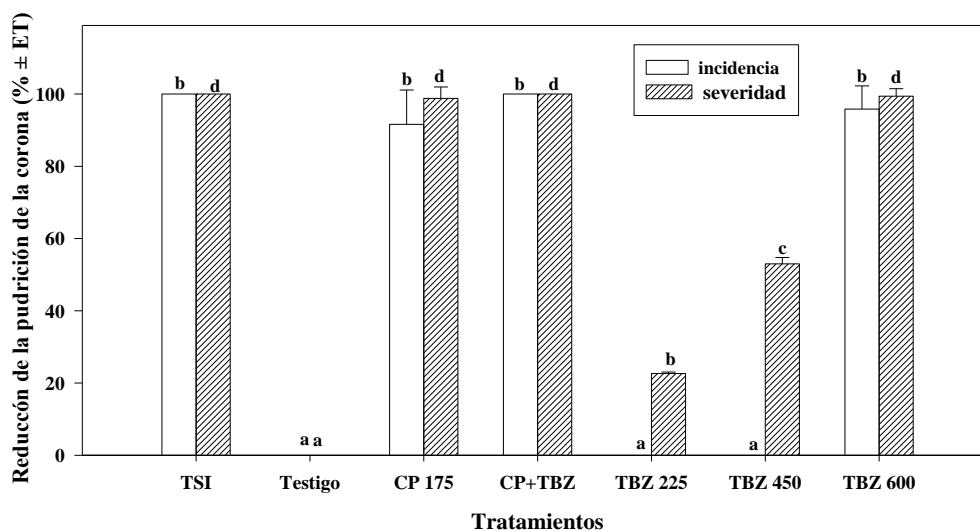
Los tratamientos curativos CP40°C y CP45°C, redujeron contundentemente la severidad de la PC, con un valor de 98.80% de reducción de la severidad de la PC. El segundo mejor tratamiento fue CP30°C con 54.80%, seguido de los tratamientos de AC45°C (50.60%) y AC40 °C (50.00%). Por lo tanto, el baño curativo a la temperatura de 40°C a la concentración de 175 mM de CP fue seleccionado como el tratamiento más efectivo para realizar trabajos subsecuentes.



**Figura 2.5.** Efecto de temperatura de baño sobre la efectividad del carbonato de potasio a 175 mM durante 20 min sobre la pudrición de la corona en banana Enano Gigante, inoculado artificialmente con *C. musae* tratado 1 h antes o después, e incubado durante 7 d  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y 80-90% de HR. Las reducciones de la incidencia y severidad se determinaron con respecto al tratamiento control (Incidencia y severidad de 100 y 91.66% para tratamiento preventivo e incidencia y severidad de 100 y 100 para el tratamiento curativo, respectivamente). Para cada tipo de tratamiento de baño, columnas con letras diferentes indican diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de la diferencia mínima significativa de Fisher ( $P \leq 0.05$ ) aplicado a datos transformados al arco seno. Barras indican error típico (ET;  $n = 4$ ). AC = agua caliente, CP = carbonato de potasio, TSI = tratamiento sin inocular. Se muestran valores de medias no transformados.

### 2.5.5. Actividad antifúngica del carbonato de potasio solo o combinado con dosis bajas de tiabendazol

Los efectos de la combinación de CP y TBZ sobre la incidencia y severidad de la PC se muestran en la Figura 2.6. Los resultados muestran que los tratamientos CP+TBZ, y TBZ 600, fueron estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) similares y superiores al testigo y al resto de los tratamientos tanto en el control de la incidencia como en la severidad de la PC (Figura 2.6). La reducción de la incidencia de la PC fue de 100, 95.83 y 91.60% cuando se aplicaron los tratamientos CP+TBZ, TBZ 600 y CP175, respectivamente. Los tratamientos TBZ 225 y TBZ 450 tuvieron efecto nulo sobre la incidencia de PC del plátano (Figura 2.6). Así mismo, el control de la severidad de la PC tuvo una tendencia similar a la de la incidencia, los tratamientos CP+TBZ, TBZ 600 y CP175 presentaron una reducción de la severidad del 100, 99.40 y 98.8%, respectivamente. Los tratamientos TBZ 225 y TBZ 450 tuvieron una reducción de la severidad de la PC de 22.61 y 52.97%, respectivamente.



**Figura 2.6.** Efecto del carbonato de potasio solo o combinado con TBZ sobre la pudrición de la corona en plátano cv. Enano Gigante inoculado artificialmente con *C. musae* tratado 1 h antes o después, e incubado durante 7 d a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y 80-90% de HR. Las reducciones de la severidad se determinaron con respecto al tratamiento control (Incidencia y severidad de 100 y 100% para el tratamiento curativo, respectivamente). Columnas con letras diferentes indican diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de la diferencia mínima significativa de Fisher ( $P \leq 0.05$ ) aplicado a datos transformados al arco seno. Barras indican error típico (ET;  $n = 4$ ). CP = carbonato de potasio, TBZ = tiabendazol, TSI = tratamiento sin inocular. Se muestran valores de medias no transformados.

### 2.5.6. Efecto del carbonato de potasio en la calidad del banano

En general, el CP a 175 mM durante 20 min calentado (40°C) o no calentado (20°C durante 1 min) no tuvo efecto significativo ( $p \leq 0.05$ ) sobre los atributos de calidad del fruto de banano (Cuadro 2.1)

**Cuadro 2.1.** Efecto del carbonato de potasio en la calidad del banano

Tratamien tos	FF (kgf)	PPMF (%)	PFI (g)	PCF (g)	PPF (g)	CSST (B°)	AT ácido málico (%)
Testigo	0.556±0. 04 a	5.37±0 .8 a	191.48± 15 a	59.43±6 .3 a	132.02± 11 a	17.80±0 .8 a	0.16±0. 06 a
CP 175mM	0.543±0. 06 a	5.94±0 .7 a	197.01± 20 a	60.08±5 .5 a	136.93± 17 a	16.75±0 .7 a	0.17±0. 06 a
CP 175mM a 40°C	0.572±0. 05 a	6.44±0 .7 a	201.51± 21 a	61.34±6 .5 a	140.17± 16 a	16.55±1 .1 a	0.20±0. 02 a

Para cada columna, valores de medias seguidas por letras iguales no son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ); n = 20 repeticiones por tratamiento. Firmeza de fruto (FF), pérdida de peso de mano de fruto (PPMF), peso de fruto individual (PFI), peso de cáscara de fruto (PCF), peso de pulpa de fruto (PPF), contenido de sólidos solubles totales (CSST) y acidez titulable (AT).

## 2.6. DISCUSIÓN

Los resultados más relevantes del presente estudio indican que el crecimiento micelial de *C. musae* se inhibe por completo a 150 mM y la germinación de conidios a 200 mM de CP bajo condiciones *in vitro*. En estudios previos se informa que concentraciones de 20 mM de CP inhiben el crecimiento micelial de *P. italicum* en un 55.66% (Askarne *et al.*, 2013) y concentraciones superiores a 4.3 g l<sup>-1</sup> inhiben completamente la germinación de conidios y matan los tubos germinativos de *Venturia inaequalis* (Schulze and Schönherr, 2003), mientras que concentraciones de 4% (p/v) inhiben el 100% del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* *fe radices-lycopersici* y *Phytophthora* spp (El-Mohamedy *et al.*, 2013). En un estudio más recientemente, Palou (2018) reporta que concentraciones de 1% (p/v) inhibe el crecimiento radial de *Monilinia fructicola*.

Hasta donde sabemos no existen estudios previos con CP para el control de *C. musae*. Sin embargo, nuestros resultados muestran que el CP tiene actividad antifúngica para inhibir la germinación de conidios y el crecimiento micelial de *C. musae* similar al carbonato de sodio, bicarbonato de sodio, hipoclorito de sodio, cloruro de sodio y cloruro

de calcio. Los hallazgos del presente estudio indican que *C. musae* es más susceptible a CP que al bicarbonato de sodio, ya que la germinación de conidios y el crecimiento micelial se inhiben a concentraciones más bajas (150 mM y 200 mM), comparado al bicarbonato de sodio (300 mM de) (De Costa and Gunawardhana, 2012) ó 250 mM de bicarbonato de sodio (Chi and Anh, 2019).

Las actividades inhibitorias y/o antifúngicas del CP *in vitro* contra *C. musae* fueron mayores que aquellas obtenidas en experimentos *in vivo*, independientemente si se utiliza como tratamiento curativo o preventivo. Esta tendencia coincide con lo establecido por Palou (2018) donde menciona que información previa de experimentos *in vitro* es útil como un punto de partida, pero la experiencia muestra que la eficacia de tratamientos aplicado a frutos, a menudo no puede ser anticipado de los resultados obtenidos con patógenos creciendo en medio artificial, ya que el desarrollo de la enfermedad en frutos es el resultado de interacciones complejas entre hospedero, patógeno y medio ambiente. Los resultados de esta investigación demuestran que el CP tiene un efecto nulo en la reducción de la incidencia de *C. musae* en tratamiento preventivo. Contrariamente CP tiene actividad curativa sobre la incidencia de PC, aunque con una reducción de un tercio aproximadamente (33.33 y 41.66% de reducción de incidencia para 175 y 200 mM, respectivamente).

En cambio, CP tanto en tratamientos curativos como preventivos significativamente tiene una mayor efectividad en la reducción de la severidad de *C. musae*, siendo de mayor efectividad el tratamiento curativo. Varios estudios han demostrado que el CP tiene actividad antifúngica en una diversa gama de patógenos o enfermedades de postcosecha. Por ejemplo, Askarne *et al.* (2013) reportan que 400 mM de CP reduce hasta un 58.33% la incidencia y hasta 44.70% la severidad de podredumbre azul (*Penicillium italicum*) en naranjas Clementina. CP al 1% (p/v), tuvo una incidencia de 0.7% de podredumbre gris (*Botrytis cinérea*) en uva de mesa después de un mes de almacenamiento a 2-3°C (Youssef and Roberto, 2014). Nuestros resultados indican que el CP es más efectivo para controlar *C. musae*, que el bicarbonato de sodio aplicado a 300 mM (55% de reducción de la severidad de la PC) (De Costa and Gunawardhana, 2012). La reducción de la incidencia de *C. musae* aplicando CP en el presente estudio,



es inferior a la bioeficacia de aplicaciones de *Bacillus amyloliquefaciens* más 1% de bicarbonato de sodio (92% de reducción de la incidencia) (Alvindia, 2013a) y a la de *Bacillus amyloliquefaciens* más 1% de bicarbonato (93% de reducción) (Alvindia, 2013b). Recientemente, se reportan en pruebas preventivas y curativas inhibición casi por completo de la severidad de *C. musae* aplicando 200 mg L<sup>-1</sup> de hinokitiol (Qiao *et al.*, 2022).

Los datos del presente estudio sugirieron que el CP tiene actividad antifúngica tanto protectora como curativa contra *C. musae*; tales actividades inhibitoras y/o antifúngicas contra *C. musae* podrían deberse a diferentes modos de acción del CP (De Costa and Gunawardhana, 2012). Varios de los trabajos de investigación aquí mencionados e incluyendo el nuestro, indican que el CP se comporta como un fungicida convencional en lo que respecta a su actividad antifúngica, es decir, son más efectivos a medida que se incrementa la dosis.

Se cree que las sales GRAS, tal como CP, pueden tener una actividad antifúngica debido a su catión potasio (Palou, 2018). Alvindia (2013a) menciona que las interacciones tejido-sal pueden involucrar reacciones bioquímicas que contribuyen a los mecanismos de defensa contra enfermedades. Se sabe que algunas sales, como el fosfato de potasio, inducen una resistencia sistémica, incluida la participación de la producción de fitoalexina (Jeandet *et al.*, 2000).

El control de la incidencia de la enfermedad en tratamientos curativo aumenta 58.33 y 50.00% cuando los baños de CP a 175 mM son calentados a 40 y 45°C, respectivamente, con respecto a la aplicación de solo agua a esas temperaturas. En tratamientos curativos el agua caliente a 40°C y 45°C, aumentó 8.33 y 7.14%, respectivamente, la efectividad del CP (175 mM) en la reducción de la severidad. Por tanto, el CP calentado aumenta el porcentaje de protección de la fruta, que cuando se aplican sin calentar. El aumento de la efectividad de la combinación de CP más tratamientos térmicos en el presente estudio podría ser el efecto complementario de cada tratamiento individual. Los tratamientos de solo agua calentada tienen mayor efectividad en el control de la severidad que en la incidencia de la PC.

El tratamiento térmico tiene mayor efectividad en tratamiento curativos, porque el agua caliente parece destruir principalmente los propágulos fúngicos (Alvindhia 2012). El calor puede inhibir la elongación del tubo germinativo, inactivar o matar los conidios del hongo (Francesco *et al.*, 2018); pero también puede modificar el ambiente químico de la cáscara de la fruta al activar los compuestos antimicrobianos presentes en ella (De Costa and Erabadupitiya, 2005). El agua caliente es un fungistático y no tiene acción residual para prevenir el desarrollo de hongos después del tratamiento térmico (Alvindhia, 2012), lo que explica la baja ineficacia que tienen los tratamientos térmicos como control preventivo de *C. musae*. En la presente investigación, la combinación de tratamiento de agua caliente y CP redujeron la incidencia y severidad de CP en comparación con los tratamientos individuales, y esto es consistente con el trabajo de Alvindhia (2013c) quien mostró que el tratamiento térmico mejora las propiedades de las sales.

Cuando se determinó el efecto del CP aplicado solo o en combinación con bajas dosis de TBZ en tratamientos curativos contra la PC, el tratamiento combinado de CP a 175mM más 225 ppm de TBZ (CP+TBZ) no mejoró la efectividad de control sobre la PC. Esto nos sugiere que no existe un efecto de sinergia entre las dos sustancias que cuando se aplica solamente CP. Contrariamente, otros estudios reportan sinergia cuando se combinan dos sustancias contra *C. musae*. Por ejemplo, un efecto sinérgico de hasta 96% de inhibición de crecimiento micelial y germinación de conidios de *C. musae* se reporta en la combinación de hidroxianisol butilado (BHA) más TBZ (Khan *et al.*, 2001). También se reporta que la goma arábiga en combinación con quitosano reduce completamente el crecimiento micelial e inhibió en 92.5% la germinación conidial de *C. musae* (Maqbool *et al.*, 2010). Así mismo, el carbonato de sodio en combinación con surfactantes reducen el 65% de la PC (Alvindhia and Natsuaki, 2007). Los hallazgos de nuestra investigación coinciden con otros autores que reportan nula acción antifúngica al combinar sorbato de potasio más TBZ contra *Penicillium expansum* (Fadda *et al.*, 2015). Tampoco se encontró efecto sinérgico para controlar antracnosis en frutos de papaya causado por *C. brevisporum* al combinar SP con TBZ (Vidal-Vergara *et al.*, 2022). Sin embargo, el sorbato de potasio más agua caliente potencian la actividad del TBZ contra *P. digitatum* sensible al TBZ y resistente al TBZ (D' Aquino *et al.*, 2013b).

Por otro lado, nuestros resultados sugieren que *C. musae* ha desarrollado algún grado de insensibilidad o resistencia a TBZ a dosis comercial (450 ppm) en el área de Cucuyulapa, Tabasco, y es probable que por esta razón el productor bananero de esta área incrementó la dosis de TBZ a 600 ppm, la cual es efectiva vigente en la región. Estudios anteriores han reportado resistencia a benzimidazol (grupo químico al que pertenece el TBZ) en aislados de *C. truncatum*, en el gen TUB-2 (Torres-Calzada *et al.*, 2015), específicamente mutaciones del gen en varias especies de hongos (Downing, 2000). Las mutaciones conducen a la sustitución de aminoácidos de E198A, E198K y F200Y, que están involucrados en conferir resistencia a los fungicidas a base de bencimidazol (Peres *et al.*, 2004; Torres-Calzada *et al.*, 2015).

En general, el CP no afectó los parámetros de calidad de frutos de banano cv. Enano Gigante. Estudios similares al nuestro reportan que las concentraciones de sólidos solubles y acidez titulable no se ven afectada por tratamientos térmicos (Dissanayake *et al.*, 2015; Prasetia *et al.*, 2018 y Vilaplana *et al.*, 2018a). La firmeza y peso de fruto en cv. Gros Michel (Ummarat *et al.*, 2011) y *Musa acuminata* (Vilaplana *et al.*, 2018a) no se afecta negativamente con tratamiento térmico de 40 °C. Por lo tanto, los parámetros de calidad de frutos del banano se pueden mantener a través de tratamiento con agua caliente hasta 40 °C según los presentes resultados.

## 2.7. CONCLUSIÓN

El CP inhibe *in vitro* totalmente el crecimiento micelial y la germinación de conidios de *C. musae* y muestra actividad curativa tanto para la incidencia como para la severidad de PC en experimentos primarios *in vivo*. La temperatura de baño a 40°C incrementó la efectividad del CP. El tratamiento combinado de CP con dosis bajas de TBZ no mejoró la efectividad del control curativo sobre la PC. El CP no afecta la calidad de frutos del banano.

## CAPITULO III. EVALUATION OF POSTHARVEST TREATMENTS WITH SODIUM BICARBONATE AGAINST CROWN ROT IN BANANA CV. ENANO GIGANTE

### 3.1. ABSTRACT

The antifungal activity of sodium bicarbonate (SB) against postharvest crown rot (CR) on banana cv. Enano Gigante inoculated artificially with *Colletotrichum musae* and incubated at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  for 7 d was determined. Treatments with SB were tested through in *vitro* and *vivo* experiments.

The *in vivo* preliminary concentration of 500 mM SB was selected as the most effective and it was used in the dip temperature influence experiments on the SB effectiveness. Curative treatments of dip with SB at 500 mM at  $40^\circ\text{C}$  for 20 min applied alone or combined with low dose of thiabendazole (TBZ) were evaluated on CR as well as the effect of SB on the banana fruit quality. SB at 200 y 250 mM inhibited totally the mycelial growth and the conidia germination of *C. musae*, respectively.

In *in vivo* primary experiments, SB at 500 mM significantly reduced the incidence of CR in curative treatment (77.80%), whereas that the CR severity reduction was of 92.90%. Among the dips with SB at 500 mM for 20 min tested at different temperature, the curative dip temperature of  $40^\circ\text{C}$  was chosen as the most effective to be used in future experiments.

The SB combined with TBZ at 225 ppm improved the curative control effectiveness of CR. The SB did not affect the fruit quality of banana.

**Key words:** *Colletotrichum musae*, sodium bicarbonate, severity, thiabendazole, quality.

### 3.2. RESUMEN

Se determinó la actividad antifúngica del bicarbonato de sodio (BS) en postcosecha contra la pudrición de la corona (PC) del banano cv. 'Enano Gigante' inoculado artificialmente con *C. musae* e incubado a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 7 días.

Se probaron tratamientos de BS mediante experimentos in *vitro* y primarios in *vivo*. La concentración preliminar in *vivo* de 500 mM de BS se seleccionó como la más efectiva y

se usó en los experimentos de la influencia de la temperatura de baños en la efectividad del BS. Tratamientos de baños curativos de BS a 500 mM a 40°C durante 20 min aplicado solo o combinado con bajas dosis de tiabendazol (TBZ) se evaluaron sobre la PC, así como también el efecto del BS sobre la calidad del plátano. El bicarbonato de sodio a 200 y 250 mM inhibieron totalmente el crecimiento micelial y la germinación de conidios de *C. Musae*, respectivamente.

En experimentos primarios *in vivo*, la concentración de 500 mM de BS redujo la incidencia de la PC en tratamientos curativos (77.80%), mientras que la reducción de la severidad en tratamientos curativos fue de 92.90%. Entre los baños con bicarbonato de sodio a 500 mM durante 20 min probados a diferentes temperaturas, la temperatura de baño curativa de 40 °C fue seleccionada como la más efectiva y usada para experimentos subsecuentes.

El bicarbonato de sodio combinado con TBZ a 225 ppm mejoró la efectividad de control curativo sobre la PC. El bicarbonato de sodio no afectó la calidad de fruto del banano.

**Palabras clave:** *Colletotrichum musae*, bicarbonato de sodio, severidad, tiabendazol, calidad.

### 3.3. INTRODUCTION

Banana is the fresh fruit most export of the world respect to its volumen and value. It is cultivated in more than 150 countries, being India, Indonesia, Brazil, Ecuador and Philippines the main producer countries of banana (FAO, 2020). Mexico is the twelfth banana producer at wide world level with 2,354,479 ton annual (SIAP-SADER, 2019). However, the banana (*Musa acuminata* L.) is a tropical fruit very perishable, which it have a short postharvest life with huge losses after harvest (De Costa and Erabadupitiya, 2005), being the CR the major postharvest decay of banana. CR is a complex infection, resulted of the activity of several fungi, among them, *C. musae* is the most pathogenic specie. (Krauss and Johanson, 2000; Muirhead and Jones, 2000; Lassois *et al.*, 2010). CR causes high economic damages and losses in the mostly of the producer countries of banana (Krauss and Johanson, 2000). In Philippines it has been reported losses by more than 86% for chemically non-treated bananas (Alvindia *et al.*, 2000). The disease

control is carried out mainly with conventional synthetic chemical fungicides (prochloraz, imazalil and thiabendazole).

However, these fungicides can cause various problems, including contamination of environment, accumulation of residues in/into fruit for above the permissible limit, and appearance of strain resistant to fungicides (Mari *et al.*, 2003; Jinasena *et al.*, 2011; Gatto *et al.*, 2011). Several studies have documented effects inhibitory of products of low toxicity on fungi growth related with banana CR, such as organic and inorganic salts, and mixtures of these substances with chemical products at low doses (Zhu *et al.*, 2003; Alvindia *et al.*, 2004; Yasmin, 2015). The objectives of this research work were: i) to determine the *in vitro* effect of sodium bicarbonate (SB) on the mycelial growth of *C. musae*, ii) to evaluate the *in vitro* effect of SB on the conidia germination of *C. musae*, iii) to determine the *in vivo* primary effect of SB on CR, iv) to determine the influence of the dip temperature on the SB effectiveness, v) to evaluate the antifungal effect of SB alone or in combination with low doses of TBZ on CR, and vi) to evaluate the effect of SB on the banana fruit quality.

### **3.4. MATERIALS AND METHODS**

#### **3.4.1. Fungal pathogen**

The *C. musae* fungus was obtained from the fungal culture collection of the Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco. The fungus was cultured in Petri dishes containing potato dextrose agar medium (PDA) and incubated at 25°C for 7 to 14 days.

#### **3.4.2. *In vitro* experiments**

##### **3.4.2.1. Effect of the sodium bicarbonate on the mycelial growth of *C. musae***

To evaluate the effect of BS on the mycelial growth of *C. musae*, treatments with BS at 50, 100, 150, 200 and 250 mM, plus the control, were tested. A completely randomized experimental design was used. Each treatment consisted of five Petri dishes (each Petri dish was a replication). A stock aqueous solution was prepared at a concentration of 1000 mM sodium silicate, which was amended to the potato dextrose agar (PDA) culture

medium, when it was at a temperature of 45-50 °C, until achieve the desired final concentrations (Treatments) of SB. Approximately BS-amended PDA 20 mL was poured into each Petri dish. 24 h after, a 5 mm mycelium disk of a 7-day-old *C. musae* colony growing on PDA was transferred and placed in the center of another fresh Petri dish (90 mm of diameter), containing the desired final concentrations of BS and incubated at 25 °C. Two diameters (mm) of the *C. musae* colony were measured perpendicular to each other after 9 d of incubation. Mycelial growth was expressed as mycelial growth inhibition in percentage (% ICM), which was calculated using the following formula:

$$\% \text{ ICM} = ((\text{DCC}-\text{DCT}) / \text{DCC}) * 100$$

Where:

DCC = Diameter of the colony in the control in mm

DCT = Diameter of the colony in the treatment in mm

#### **3.4.2.2. Effect of the sodium bicarbonate on the conidia germination of *C. musae***

SB at concentrations of 50, 100, 150, 200 and 250 mM was tested on the conidia germination of *C. musae*. A complete randomized experiment design was used. The technique of the slide with concavity was used. Each treatment consisted of four replications (Each replication was one concavity). A stock aqueous solution of 1000 mM SB was prepared, which was amended in desired aliquots on the PDA culture medium when it was to a 45-50°C temperature in order to obtain the final desired concentrations (treatments) of BS. About BS-amended-PDA 100 µL were collocated into each slide concavity, using a micropipette.

After 24 h, an aliquot of 20 µL of a conidial suspension of *C. musae* from 14 d of age at a concentration of 10<sup>6</sup> conidia mL<sup>-1</sup> was inoculated on the slide concavity containing the BS-amended PDA. The slides with concavity were collocated into of a petri dish and then were incubated at 25°C for 12 h. The conidia germination was assessed until that at least the 80% of the conidia on the control germ. Germinated conidia of a 200 conidia total were recorded per treatment. The conidia were considered germinated when the germ tub length was equal or superior to the conidia diameter. The variable of conidia

germination was expressed as the conidia germination inhibition in percentage of *C. musae* (% CGI) and it was calculated through the formula following:

$$\%CGI = (1 - (CGT/CGC)) * 100$$

Where:

GCT= germinated conidia on the treatment

GCC= germinated conidia on the control

### **3.4.3. *In vivo* experiments**

#### **3.4.3.1. Fruit**

The experiments were conducted with bananas (*Musa paradisiaca*) cv. Enano Gigante. Banana fruit hands in bunches were collected in the commercial orchards growing in the Cunduacan area (Tabasco, México). Before each experiment, banana fruit hands in bunches were un-handled, washed with clear water to remove dust, floral remnants and latex, randomized and then dried at room temperature.

#### **3.4.3.2. Disinfection and artificial ripening of fruit**

0.5 h after the de-handled and washed of fruit, the fruit hands were disinfected with a sodium hypochlorite aqueous solution (sodium hypochlorite 5% v/v, Hycel reactivos químicos, Jalisco, México) at 1% for three min, rinsed to eliminate the residual chlorine and then dried at room temperature for 0.5 h. Once dried the fruit hands, these were treated with an aqueous solution of 2000 ppm etefon (ETHREL 21.7% LS, Bayer, México, México) for 1 min to its forced ripening. Before inoculation, the hand crown cut surface was disinfected with 70% alcohol for 30 s.

#### **3.4.3.3. Preparation of the conidia suspension of *C. musae***

Conidia of *C. musae* of a 14-old-day colony cultured on PDA culture medium were transferred into assay tube containing a 0.05% (p/v) aqueous solution of tween 80. The conidia suspension was filtered through a sterile cloth in order to separate fungal fragments and it was adjusted to a concentration of  $10^6$  conidia mL<sup>-1</sup> with a haemocytometer.



#### **3.4.3.4. Inoculation of *C. musae***

An aliquot of 100  $\mu\text{L}$  of a *C. musae* conidia suspension to a concentration of  $10^6$  conidia  $\text{mL}^{-1}$  was collocated on the crown cut surface using a micropipette and dispersed with a small brush.

#### **3.4.3.5. Effect of the sodium bicarbonate on the crown rot in *in vivo* primary experiments**

The more effective concentration of SB either to reduce the mycelial growth or to inhibit the conidia germination of *C. musae* in the *in vitro* experiments was taken into account as reference to determine the concentration range to evaluate in *in vivo* primary experiments. The disinfection and forced ripening of the fruit were carried out following the procedure mentioned in the disinfection and artificial ripening of fruit section of Materials and methods. Either for the preventive or curative treatment were applied the 250, 300, 350, 400, 450, 475 and 500 mM SB treatments, with a hand sprayer on the crown cut surface until run off.

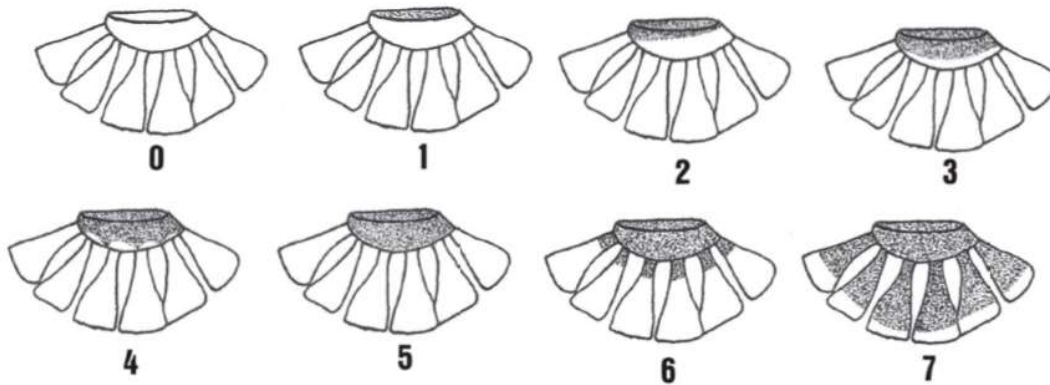
The crown cut surface was inoculated 1 h after or before the treatments, following the procedure indicated in the inoculation of *C. musae* section of Material and methods. A complete randomized experiment design was used. Each treatment was composed by three replications with three hands each (Each hand had 4-6 fruits). Banana hands with inoculated-treated crowns or vice-verse were collocated into a 10 kg plastic box and incubated at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  and 80-90% of RH for 7 d. The CR incidence (number of diseased crowns/number of crowns total multiplied by 100) and severity using the scale proposed by Alvindia *et al.* (2004; Figure 3.1) were assessed after 7 d of the inoculation. The disease incidence and severity were expressed as the incidence and the severity reduction in percentage, respectively, with respect to control treatment.

Where:

---

0	No discoloration or mycelial growth on the crown
1	Discoloration or mycelial growth limited on the crown cut surface
2	Discoloration or mycelial growth less than 10% of the crown area
3	11-40% of discoloration or mycelial growth on the crown area
4	41-70% of discoloration or mycelial growth on the crown area
5	71-100% of discoloration or mycelial growth on the crown area
6	Discoloration or mycelial growth advanced to finger stalks
7	Discoloration or mycelial growth reach the finger pulp

---



**Figure 3.1.** Severity visual mycelial CR in banana.

$$\text{Percentage of crown rot severity reduction} = \left( \frac{CRIC - CRIT}{CIC} \right) * 100$$

Where: CRIC is the crown rot index on the control and CRIT crown rot index on the treatment.

#### **3.4.3.6. Influence of dip temperature on the sodium bicarbonate effectiveness**

To determine the influence of the dip temperature on the effectiveness of BS on CR, several experiments were conducted with bananas cv. Enano Gigante. The disinfection and forced ripening of the fruit were carried out following the procedure mentioned in the disinfection and artificial ripening of fruit section of Materials and methods. The concentration of SB and dip time used in this experiment were 90 mM and 20 min,

respectively. It was evaluated the following treatments: i) treatment without inoculate (WI), ii) control (alone water at room temperature), iii) hot water at 30°C (HW 30°C), iv) hot water at 40°C (HW 40°C), v) hot water at 45°C (HW 45°C), vi) 500 mM sodium bicarbonate at 30°C (SB 30°C), 500 mM sodium bicarbonate at 40°C (SB 40°C), and vii) 500 mM sodium bicarbonate at 45°C (SB 45°C).

The crown cut surface was inoculated 1 h after or before the dip treatments following the procedure indicated in the inoculation of *C. musae* section of Material and methods. The dips were carried out in a plastic bath containing 18 L of an aqueous solution of 500 mM BS and when necessary heated with a manual resistance (Silverline, DC-CA, 1000 W). Before submerging the inoculated hand crowns in SB, the hand crowns were collocated into a 15 L multi-perforated plastic container, adjusted to the above-mentioned plastic bath and immersed in the treatment solution.

A complete randomized experimental design was used. Three replications of four hands (each hand with 4-6 fingers) each were used per treatment. The banana hands with inoculated-crowns were collocated into 10 kg plastic boxes and then incubated at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  and 80-90% of RH for 7 d. The crown rot incidence (number of diseased crowns/number of crowns total multiplied by 100) and severity using the scale propose by Alvindia *et al.* (2004, Figure 5.1) were assessed. The incidence and severity were expressed as the incidence and severity reduction in percentage, respectively, with respect to control treatment after 7 d of storage at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  and 80-90% of RH.

#### **3.4.3.7. Antifungal activity of sodium bicarbonate alone or combined with low doses of thiabendazole**

The dip treatment temperature of 40°C and the 500 mM SB were selected from previous experiments as the best to be used in the experiments with SB alone or combined with low doses of TBZ. Dip experiments were conducted with banana cv. Enano Gigante. The dips had a duration of 20 min. The fruit dis-infection and the forced maturation were done, following the procedure described in the disinfection and artificial ripening of fruit section of Materials and methods. The treatments tested were the followings: i) control (sterile distilled water), ii) treatment without inoculate (WI), iii) 500 mM SB applied alone (SB), iv)

500 mM SB + 225  $\mu\text{L L}^{-1}$  TBZ (SB+TBZ), v) 225  $\mu\text{L L}^{-1}$  TBZ (TBZ 225), vi) 450  $\mu\text{L L}^{-1}$  TBZ (TBZ 450), and vii) 600  $\mu\text{L L}^{-1}$  TBZ (TBZ 600).

The inoculation of the fungus was made following the procedure described in the inoculation of *C. musae* section of Materials and methods. The dips were carried out in a plastic bath containing 18 L of the different aqueous solution in their concentrations desired with BS (treatments) and when necessary heated with a manual resistance (Silverline, DC-CA, 1000 w). Before submerging the inoculated hand crowns in the treatments, the hand crowns were collocated into a 15 L multi-perforated plastic container, adjusted to the above-mentioned plastic bath and immersed in the treatment solution. For the case of the combined treatment of SB plus TBZ, both chemicals were mixed physically in clean water with their desired concentrations and then stirred with a plastic rod. It was used three doses of TBZ: one low dose of TBZ (TBZ at 225  $\mu\text{L L}^{-1}$ ), one commercial dose of TBZ (TBZ at 450  $\mu\text{L L}^{-1}$ ), and another regional dose of TBZ (TBZ 600  $\mu\text{L L}^{-1}$ ). A complete randomized experimental design was used. Each treatment consisted of three replications with four hands (each hand with 4-5 fingers) each. The hands with inoculated and treated crowns were collocated in 10 kg plastic boxes and then incubated at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  and 80-90% of RH for 7 d. The crown rot incidence (diseased crowns/ crown total multiplied by 100) and severity using the scale proposed by Alvindia *et al* (2004; Figure 5.1) were assessed after 7 d of the inoculation. The crown rot incidence and severity were expressed as the incidence and severity reduction in percentage, respectively, with respect to the control treatment.

#### **3.4.3.8. Effect of the sodium bicarbonate on the quality**

To determine the effect of the SB on the banana quality, the external and internal quality of fruit were assessed after 6 d of the applied treatments. A complete randomized experimental design was used. Twenty fingers of the hand second and third were used per treatment. The treatments tested were the followings: i) control (alone water for 1 min), ii) 500 mM SB at  $20^\circ\text{C}$  for 1 min, and iii) 500 mM SB at  $40^\circ\text{C}$  for 20 min.

The quality parameters assessed were the followings:

## **External quality**

**Finger weight (g).** It was weighed the individual finger of twenty fingers per treatment, with the help of a digital balance with 1510 g capacity (Ohaus Corporation, USA)

**Weight loss (%).** It was measured the initial (before treatment) and final weight (7 d after treatment) of twelve hands per treatment. The weight loss was calculated resting the hand initial by the final weight divided by the hand final weight and then divided by 100.

**Pulp firmness (kgf).** Twenty fingers were cut on their medium portion and then it was measured the flesh firmness with a digital fruit penetrometer (model GY-4), using an 8 mm probe in diameter.

**Pulp and rind weight (g).** Twenty fingers were peeled and then both the flesh and rind were weighed separately.

**Pulp to rind ratio.** This fruit quality parameter was calculated by dividing the pulp between rind weights.

## **Internal quality**

**Titrateable acidity (% of malic acid).** Three samples per treatment were used and each sample consisted of 5 fingers from the second and third hand. 30 g of banana pulp tissue from the transverse section of the fruits in 90 ml of distilled water were blended for 2 min and then filtered through muslin cloth. 25 ml of the filtrate were transferred into a 125 ml flask and then 25 ml of distilled water was poured. Titrateable acidity was determined by titration with 0.1N Na OH in the presence of phenolphthalein indicator and expressed as percent malic acid (AOAC, 2005).

**Soluble solids concentration (SSC).** Three samples per treatment were used and each sample consisted of 5 fingers from the second and third hand. 30 g of banana pulp tissue from the transverse section of the fruits in 90 ml of distilled water was blended for 2 min and then filtered through muslin cloth. 300  $\mu$ L of the filtrate were placed on the prism of a digital refractometer (ATAGO Pal-1, Japan). The TSSC was expressed in B° (AOAC, 2005).

#### **3.4.3.9. Statistical mycelial**

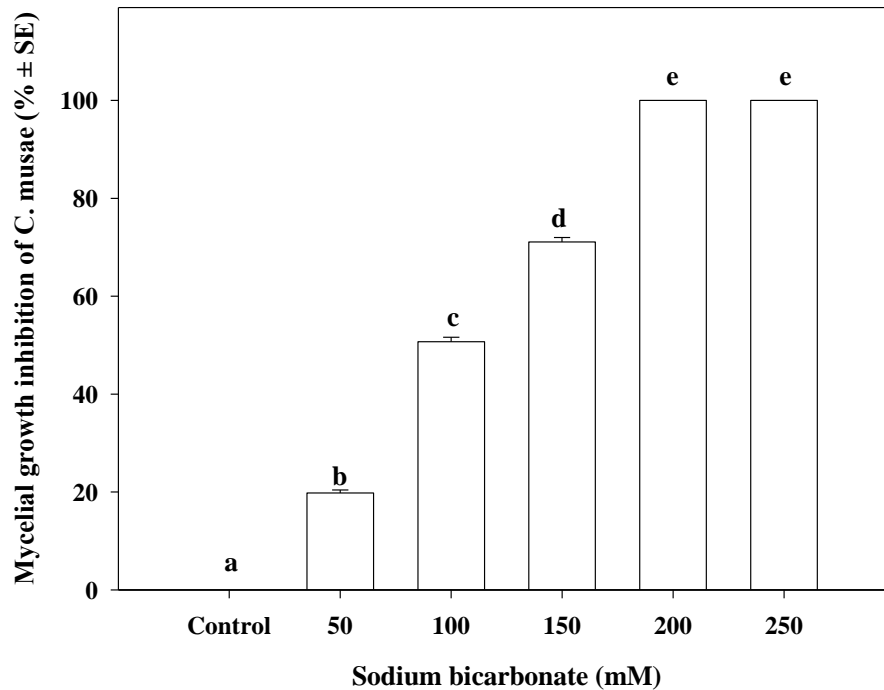
Data from crown rot incidence and severity reduction as well fruit quality parameters were analyzed by analysis of variance with statgraphics software (Statgraphics plus, version 5.1). Data from crown rot incidence and severity reduction in percentage were transformed to the arcsine of the square root of the proportion of diseased crown to assure the homogeneity of variances. Statistical significance was judged at the level of  $P \leq 0.05$ . When appropriated, the Fisher's Protected Least Significant Difference (LSD) test was applied to separate means. Shown values are non-transformed data.

### **3.5. RESULTS**

#### **3.5.1. *In vitro* Experiments**

##### **3.5.1.2. Effect of sodium bicarbonate on the mycelial growth of *C. musae***

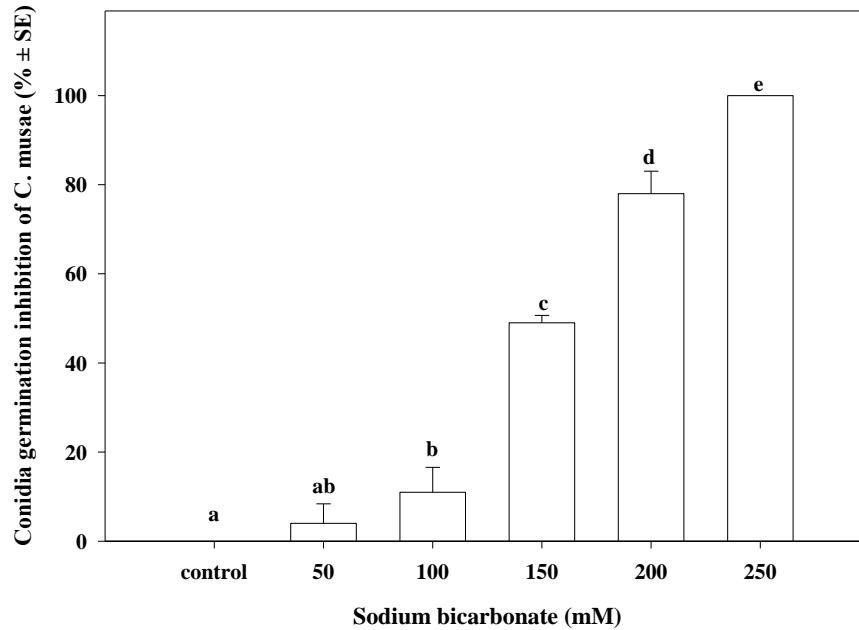
Overall, SB amended on a potato dextrose agar (PDA) medium significantly inhibited the mycelial growth of *C. musae* at 25°C. SB at 200 and 250 mM inhibited totally the mycelial growth of *C. musae*, followed by SB at 150 and 100 mM with values of 71.1 and 50.7% of inhibition of mycelial growth, respectively. While SB at 50 mM was the least effective to inhibit the mycelial growth of the fungus (19.8% of inhibition of *C. musae*; Figure 3.2)



**Figure 3.2.** Effect of the sodium bicarbonate on the mycelial growth of *Colletotrichum musae* at 25°C after 9 d of incubation. Columns with different letters are significantly different according to Fisher's protected LSD test ( $P \leq 0.05$ ) applied after an ANOVA. Error bars indicate the standard error among the mean values of inhibition of mycelial growth of five replicates for each treatment. Mean values of mycelial growth inhibition are the average of two experiments. Mycelial growth inhibition values were arcsine-transformed. Non-transformed means are shown.

### 3.5.1.3. Effect of sodium bicarbonate on the conidia germination of *C. musae*

In general, sodium bicarbonate amended on a potato dextrose agar (PDA) medium significantly inhibited the conidia germination of *C. musae* at 25°C. SB at 250 mM inhibited totally the conidia germination of the fungus, followed by the 200 mM SB treatment with a value of inhibition of conidia germination of 78.0%. The 150 mM SB treatment inhibited the conidia germination of *C. musae* in a 49.0%, whereas the rest of the treatments had an inhibition of conidia germination of *C. musae* lower (Figure 3.3).



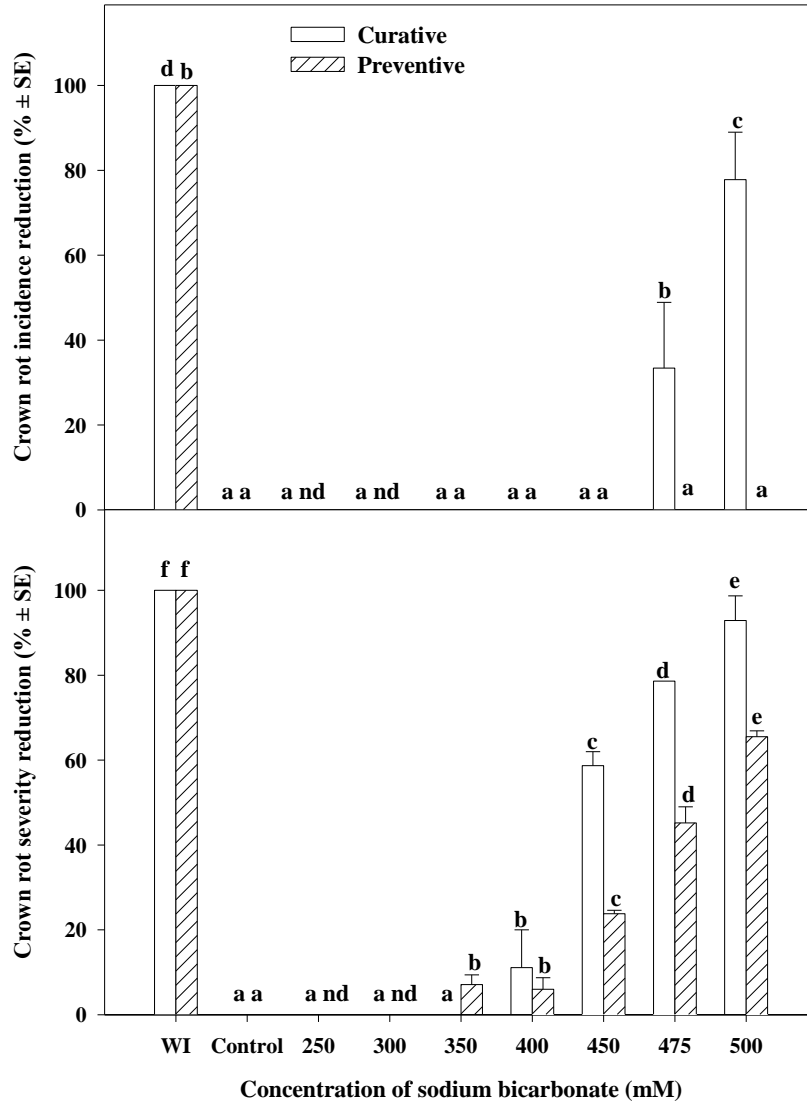
**Figure 3.3.** Effect of the sodium bicarbonate on the conidia germination of *Colletotrichum musae* at 25°C after 12 h of incubation. Columns with different letters are significantly different according to Fisher's protected LSD test ( $P \leq 0.05$ ) applied after an ANOVA. Error bars indicate the standard error among the mean values of inhibition of mycelial growth of four replicates for each treatment. Mean values of inhibition of conidia germination are the average of two experiments. Values of inhibition of conidia germination were arcsine-transformed. Non-transformed means are shown.

#### 3.5.1.4. *In vivo* primary effect of sodium bicarbonate on the crown rot disease

##### Curative effect

In general, of all the treatments evaluated with BS on banana CR in *in vivo* curative primary experiments, only the treatments with SB at 500 and 475 mM significantly reduced the incidence of CR, with values of 77.8 and 33.4% of incidence reduction of CR. The rest of the treatments had no significant effect on the disease incidence with respect to the control treatment. Moreover these same treatments were the most effective to reduce the CR severity with values of severity reduction of 92.9 and 78.6% followed by the treatments with SB at 450 and 400 mM, with values of 58.7 and 11.1% of crown rot severity reduction, respectively. The rest of the treatments were totally ineffective to reduce the disease severity (Figure 3.4).





**Figure 3.4.** Curative and preventive effect of sodium bicarbonate at different concentrations on mycel rot (CR) in *in vivo* primary experiments in banana cv. Enano Gigante artificially inoculated with *Colletotrichum musae* treated 1 h before or after, and incubated for 7 d at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  and 80-90% RH. Reductions of disease incidence and severity were determined with respect to control treatment treated with mycel (incidence of 100% and severity of 95.2-100% for curative effect, and 100% either disease incidence or severity in preventive effect. For each treatment type, columns with different letters are significantly different according to Fisher's protected LSD test ( $P \leq 0.05$ ) applied after an ANOVA. Incidence and severity reduction values were arcsine-transformed. Non-transformed means are shown. Nd indicates not determined. WI = Treatment without inoculate

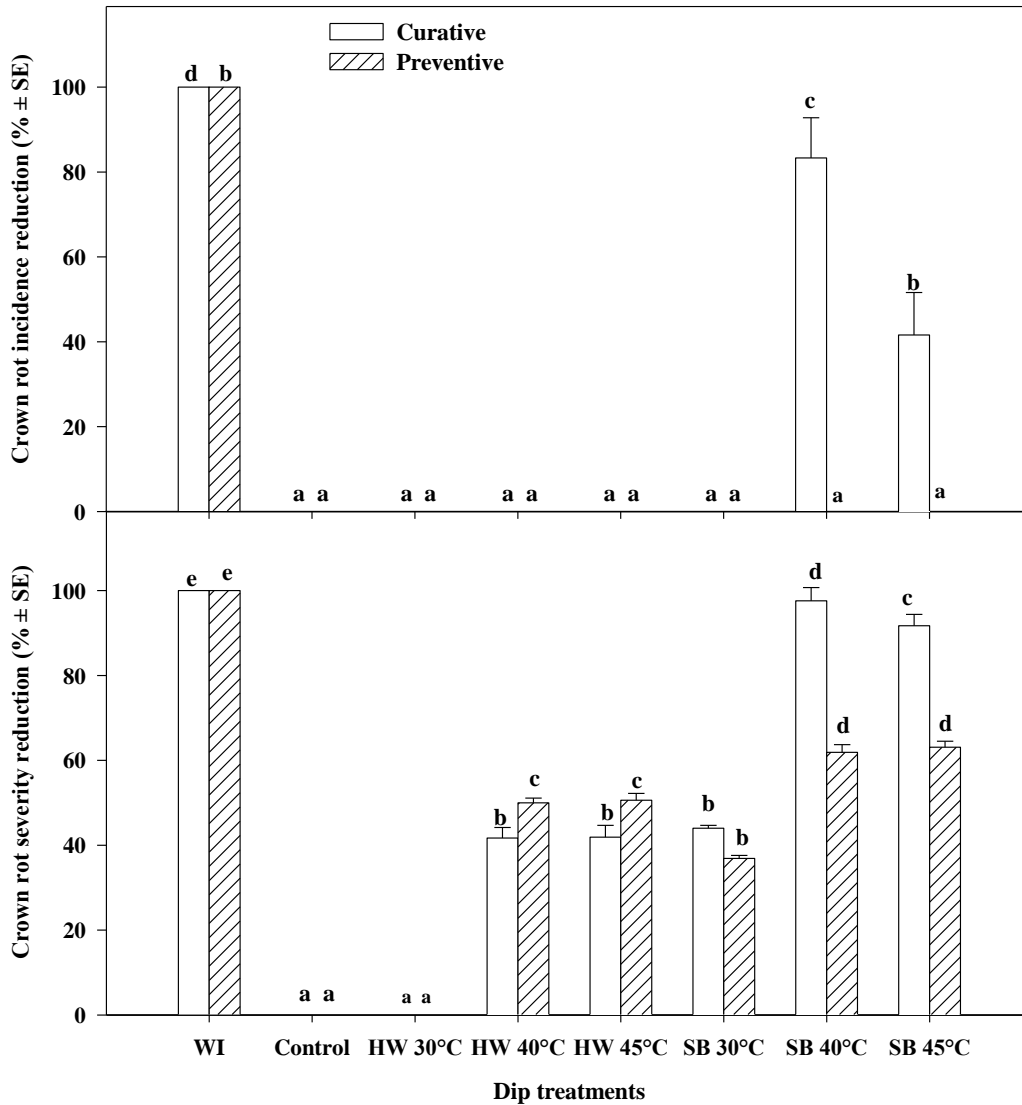
### **Preventive effect**

Overall, no significant effect was observed on the banana CR incidence when applied the different treatments with SB on the crown and then inoculated artificially with *C. musae* and incubated for 7 d at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  and 80-90% of RH in *in vivo* primary experiments. In contrast, SB significantly prevented the severity of CR. For example, the 500 mM BS treatment was the most effective to reduce the severity, with a value of 65.5% of severity reduction of CR followed by the 475 mM SB treatment with a value of 45.2% of severity reduction of CR. The rest of the treatments with SB had an effect on the severity of CR low (Figure 3.4). Thus, the concentration of 500 mM SB was selected as the most effective to further experiments.

#### **3.5.1.5. Influence of the dip temperature on the sodium bicarbonate effectiveness**

### **Curative effect**

In general, of all the treatments evaluated to determine the influence of the dip temperature in the application of BS at 500 mM for 20 min, only the SB 40°C treatment had a significant effect on the incidence of CR, with values of 83.3% of incidence reduction of CR followed by the SB 45°C treatment with a value of 41.6% of incidence reduction of CR. The rest of the treatments had a null effect on the incidence of CR. Also, these same treatments (SB 40°C and SB 45°C) were the most effective to reduce the severity of CR with values of severity reduction of 90.5 and 91.7% of CR. The rest of the treatments moderately reduced the severity of CR, ranging from 41.7 to 44.0% of severity reduction of CR, with exception of the HW 30°C treatment (0% of CR severity reduction) (Figure 3.5).



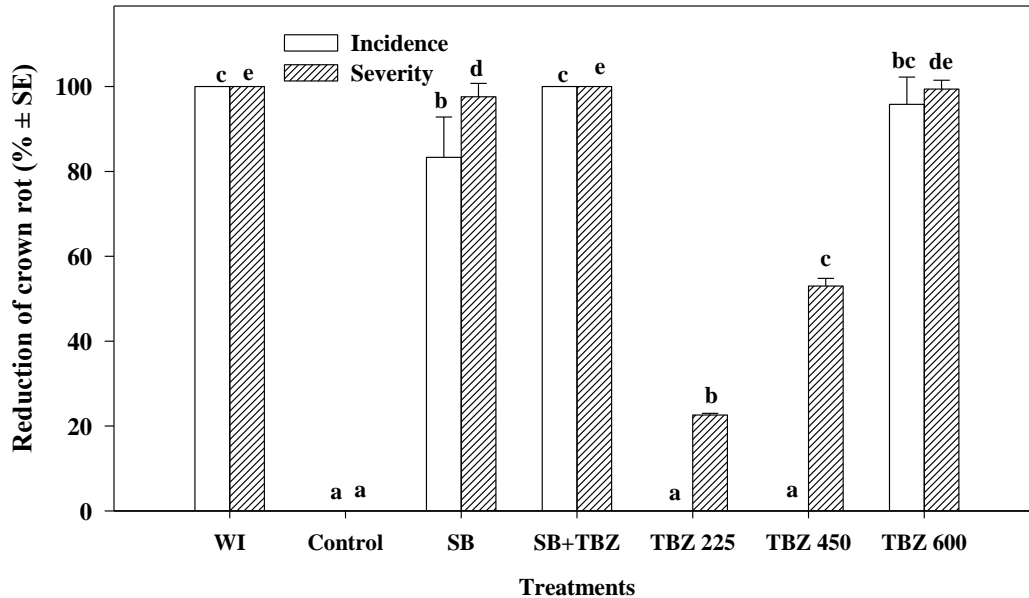
**Figure 3.5.** Effect of dip temperature on the effectiveness of water alone or 500 mM sodium bicarbonate (SB) for 20 min to control crown rot (CR) on banana cv. Enano Gigante artificially inoculated with *Colletotrichum musae*, treated 1 h before or after, and incubated for 7 d at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  and 80-90% RH. Reductions of disease incidence and severity were determined with respect to control crown treated with water (incidence and severity of 100% for both treatment types for all temperatures). For each treatment type, columns with different letters indicate significantly different dip temperature, according to Fisher's protected LSD test ( $P \leq 0.05$ ) applied after an ANOVA to the arcsine-transformed values. Non-transformed means are shown. WI = Treatment without inoculate.

## **Preventive effect**

Overall, all the treatments with SB evaluated to determine the influence of the temperature on the preventive dips had no significant effect on the incidence of CR of banana cv. Enano Gigante inoculated with *C. musae* and incubated at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  and 80-90% of RH for 7 d of incubation. On the contrary, these same treatments significantly reduced the severity of CR, with the exception of the HW  $30^\circ\text{C}$  treatment. The SB  $40^\circ\text{C}$  and SB  $45^\circ\text{C}$  were the most effective treatments to reduce the severity of CR, with values of 61.9 and 63.1% of severity reduction of CR, respectively, followed by the treatments of HW  $40^\circ\text{C}$ , HW  $45^\circ\text{C}$ , and SB  $30^\circ\text{C}$ , with values of 50.0, 50.6, and 36.9% of severity reduction of CR, respectively (Figure 3.5). Based on the results above-mentioned, we have decided to select the SB  $40^\circ\text{C}$  treatment immersed for 20 min in a curative treatment.

### **3.5.1.6. Effect of sodium bicarbonate alone or combined with thiabendazole fungicide**

The 500 mM SB treatment (SB) applied alone significantly reduced the incidence of CR with a value of 83.3% of incidence reduction and its curative effect was statistically similar to the 600 ppm TBZ treatment (TBZ 600; regional dose) with a 95.8% of incidence reduction of CR. The combined treatment of SB plus  $225 \mu\text{L L}^{-1}$  TBZ (TBZ 225) significantly improved the curative control of the CR compared with SB applied alone with a total control of the CR (100 % of incidence reduction of CR) and its effectiveness was statistically equal to that of the treatment of  $600 \mu\text{L L}^{-1}$  TBZ. The  $450 \mu\text{L L}^{-1}$  TBZ treatment (commercial dose) had a null effect on the incidence of CR. Similarly, the combined treatment of SB plus TBZ 225 improved the control of the severity of The CR with a value of 100% of severity reduction of CR, whereas the SB treatment applied alone had a severity reduction of 97.6%.



**Figure 3.6.** Effectiveness of 500 mM sodium bicarbonate alone (SB), 225  $\mu\text{L L}^{-1}$  tiabendazole (TBZ 225), 450  $\mu\text{L L}^{-1}$  tiabendazole (TBZ 450), 600  $\mu\text{L L}^{-1}$  tiabendazole (TBZ 600) and combination of 500 mM SB and 225  $\mu\text{L L}^{-1}$  TBZ (SB + TBZ) to control crown rot (CR) on banana cv. Enano Gigante artificially inoculated with *Colletotrichum musae*, treated 1 h later for 20 min at 40°C, and incubated for 7 d at 25  $\pm$  1°C and 80-90% RH. Reductions of disease incidence and severity were determined with respect to control crown treated with water (incidence and severity of 100%). For each variable, columns with different letters are significantly different according to Fisher's protected LSD test ( $P \leq 0.05$ ) applied after an ANOVA to the arcsine-transformed values. Non-transformed means are shown. WI = Treatment without inoculate.

### 3.5.1.7. Effect of sodium bicarbonate on banana quality

In general, the sodium bicarbonate did not affect the quality parameters of banana fruit (Table 3.1), with the exception of the peel weight and weight loss parameters. SB at 500 mM heated at 40°C for 20 min significantly diminished the peel weight, with a value of 63.14 g, whereas it was observed a value of 68.6 g of peel weight in the control treatment. Likewise, this same treatment and the 500 mM SB at 20°C for 60 s treatment significantly increased the weight loss until 6.17 and 6.21 g, respectively, compared to control treatment, with a value of 5.37 g weight loss of the fruit (Table 3.1).

**Table 3.1.** Effect of sodium bicarbonate on the quality of banana fruit

Treatment	Pulp Weight(g)	Peel Weight (g)	Pulp to peel weight ratio	Weight Loss (%)	Firmness (kgf)	SSC (Brix)	TA (% malic acid)
Control	150.73 a	68.6 a	2.19 a	5.37 a	0.46 a	18.8 a	0.28 a
Sodium bicarbonate at 500 mM at 20°C for 1 min	149.52 a	64.45 ab	2.32 a	6.21 b	0.43 a	18.05 a	0.26 a
Sodium bicarbonate at 500 mM heated at 40°C for 20 min	143.17 a	63.14 b	2.2 a	6.17 b	0.44 a	18.4 a	0.29 a

SSC= soluble solids concentration; TA= Titratable acidity

Columns followed with the different letters are significantly different according to Fisher's protected LSD test ( $P = 0.05$ ) applied after an ANOVA.

### 3.6. DISCUSSION

In this research work the mycelial growth of *C. musae* was totally inhibited at starting from 200 mM of SB (Figure 3.2), whereas that the conidia germination was inhibited initially with 250 mM SB (Figure 3.3). Studies similar to our reported a total inhibition of the mycelial growth of *C. musae* to concentrations of 250, 275, 300, 325, and 350 mM SB (Chi and Anh, 2019). De Costa and Gunawardhana (2012) reported a total inhibition of the mycelial growth and conidia germination of *C. musae* at starting from 100 mM SB. Zoeir *et al.* (2017) revealed that applications of SB at 4% reduced until 67.8% the mycelial growth of *C. musae*. Other salts containing sodium such as sodium carbonate ( $4 \text{ g L}^{-1}$ ), sodium hypochlorite ( $5 \text{ g L}^{-1}$ ), and sodium chloride ( $6 \text{ g L}^{-1}$ ) inhibited completely the conidia germination of *C. musae* (Alvindhia and Koabyashi, 2004)).

Basil, cinnamon and rosemary oil at 0.1% completely inhibited the mycelial growth of *C. musae* (Idris *et al.*, 2015), the clove oil ( $0.1 \mu\text{l ml}^{-1}$ ) suppressed totally the mycelial growth of *C. musae* (Rizwana, 2018). A more recent study informed that the  $20 \text{ mg l}^{-1}$  hinokitiol

inhibited completely the mycelial growth of *C. musae* (Qiao *et al.*, 2022). In our study, SB was more efficient to inhibit the mycelial growth of *C. musae* than that reported by Chi and Anh (2019), but it was minor to that found by De Costa and Gunawardana (2012).

The use of the basil is an alternative method very important to control *C. Musae*, but the utilization of the plant at local level demand studies to know the phytochemical concentration, given that the concentration vary with the used cultivar (Orlando *et al.*, 2019). The hinokitiol is another substance important used as control alternative, but its cost is 210 times more expensive than SB.

Regarding the SB curative effect on CR applied in dips, applications of SB at 500 mM at 40°C for 20 min was effective to control CR, reducing the incidence (83.3% of reduction) and severity (97.6% of reduction). Our results of incidence reduction were superior to that reported (62% at 300 mM) by De Costa and Gunawardhana (2012). These differences are due to a major concentration of SB and probably to two times the fruit immersion time in hot water. Chi and Anh (2019) mentioned that concentration of SB at 250, 275, 300, 325, and 350 mM for 25 min had no control on the incidence of CR, which coincide with our results. Alvindia *et al.* (2004) found a severity reduction of 86% of CR when applied 6 g l<sup>-1</sup> of SB in curative treatment, whereas that Qiao *et al.* (2022) indicated a CR severity reduction of 72.47%, when applied 100 mg l<sup>-1</sup> of hinokitiol. These CR severity reduction values reported by these authors were inferior to those obtained in the present research work.

In the curative dip treatments, the doses evaluated with SB applied on the crown cut did not inhibit the CR incidence, suggesting that many conidia of *C. musae* stayed viable after the exposition to SB, thus, SB had no significant preventive effect on CR (Alvindia and Natsuaki, 2007). Possibly, a time superior to 20 min of immersion could have a positive effect in the control of CR, given that the salts glasses could accumulate into the wound occupied by the pathogen. The CR severity reduction (61.9%) when applied SB at 500 mM it was very similar to that obtained (65%) with 5 g l<sup>-1</sup> SB plus 2.5 ml l<sup>-1</sup> of surfactant (Alvindia and Natsuaki, 2007). Also, the CR disease incidence was reduced until 83.3% in curative treatment in comparison to those of the dips with SB at 500 mM heated at 40°C (0% of CR incidence reduction). In curative treatments, treatments with hot water at

40 and 45°C, lowered the CR severity up to 41% compared with the control treatment. Thus, heated SB increased the protection percentage of fruit that when it was not heated. The increase of the effectiveness of heated SB, in the study, could be by the complementary effect of each individual treatment.

The treatments of heated water alone have an effectiveness more high on the CR severity than on the incidence. It is known that treatments with hot water increase the SB effectiveness against blue (*Penicillium italicum*) (Palou *et al.*, 2001) and green mold (*Penicillium digitatum*) (Cocco *et al.*, 2008; Schirra *et al.*, 2008) of citrus. Previous studies mention that the treatment with hot water induce fruit tissue resistance which impact on the reduction of the pathogen growth (De Costa and Erabadupitiya, 2012; Dissanayake *et al.*, 2015). The treatment with hot water have more effectiveness in curative treatment because the hot water seem to destroy mainly the fungal inoculum (Alvindia, 2012). Likewise, it have a direct effect, inhibiting the fungal germ tube elongation or inactivating the conidia of fungus (Francesco *et al.*, 2018). Hot water, also, may have an indirect effect on the fungus affecting the development trough of the physiological responses of the fruit tissue (Schirra *et al.*, 2000). Additionally, the hot water may modify the chemical ambient of the fruit rind by active the antimicrobial compounds present in it (De Costa and Erabadupitiva, 2005).

The hot water is a fungistatic and don't has residual action to prevent the fungi development after the thermal treatment (Alvindia, 2012), which explanation, in our study, the low induction of defense mechanism by application of the preventive treatments with hot water single against *C. musae*. In this research work, the combination of the hot water plus SB significantly reduced the CR incidence and severity in comparison with the alone treatments, which are in agreement with the results obtained by Alvindia (2013) who showed that the thermal treatment improve the properties of the salts.

It is known that the direct or indirect effects of the bicarbonate salts on the microorganisms is due to the reduction of the turgor pressure of the fungal cells, causing collapsed hyphae and conidia (Ilić *et al.*, 2018). Also it is possible that the bicarbonate ion increases the leakage of the cell membrane of fungus to the ionic species, decreasing the turgor pressure in the fungus (Fallik *et al.*, 2004).



When the effect of SB applied alone or in combination with low dose of TBZ was determined against CR in curative treatments, the combined treatment of 500 mM SB plus 225 ppm TBZ (SB+TBZ), not only improved the CR severity control (100% of severity reduction) but also improved the CR incidence (100% of incidence reduction), suggesting that the diffusion and penetration rate of TBZ in the cuticle wax of fruit increased noticeably in presence of SB (Schirra *et al.*, 2008; D'Aquino *et al.*, 2013). Likewise, we could suggest that there was a synergistic effect between the two substances than when SB was applied alone, in fact, TBZ applied single (225 ppm) did not significantly reduce the incidence of CR. Also the combination (SB+TBZ) was much more effective than the commercial dose of TBZ (450 ppm), and it was lightly superior to the regional dose of TBZ (600 ppm). A synergistic effect it is reported in the combination of 400 mg/L of TBZ plus 0.5% SB at 40°C, against the incidence of green mold (*P. digitatum*) sensitivity to TBZ (85.8%) and resistant to TBZ (83.3%) of citrus (Schirra *et al.*, 2008).

Another study reported that the combination of butylated hydroxyanisole plus TBZ had a synergistic effect of until 96% of mycelial growth and conidia germination inhibition of *C. musae* (Khan *et al.*, 2001). Moreover, it was reported that the gum Arabic in combination with chitosan completely reduced the mycelial growth and inhibited the conidia germination of *C. musae* in a 92.5% (Maqbool *et al.*, 2010). Likewise, the findings of this investigation differ to those reported by Vidal-Vergara *et al.* (2022) who did not find a synergistic effect to control postharvest anthracnose decay on papaya fruit caused by *Colletotrichum brevisporum* when combined potassium silicate with TBZ.

On the other hand, results obtained in this research work, suggest that *C. musae* have a development level of resistance to TBZ at commercial dose (450 ppm) in the area of Cucuyulapa, Cunduacán, Tabasco, Mexico, and for this reason the banana producer of this area increased the dose of TBZ at 600 ppm, which it is the effective dose used in the region. Previous studies have revealed the appearance of resistance of isolates of *C. truncatum* to benzimidazole (TBZ belongs to this chemical group), specifically in the TUB-2 gene (Torres-Calzada *et al.*, 2015) and mutations of gene in various species of fungi (Dowing, 2000).

In general, in this study, the SB at 500 mM heated or non-heated for 20 min did not affect the fruit quality of banana cv. Enano Gigante. Similar results were found by Kapila *et al.* (2015), Prasetia *et al.* (2018), and Vilaplana *et al.* (2018) where the concentrations of total soluble solids and titratable acidity were not affected by thermal treatments. Similarly the fruit firmness and weight in banana cv. Gros Michel (Ummarat *et al.*, 2011) and *Musa acuminata* (Vilaplana *et al.*, 2018) were not affected when applied hot water at 40°C.

### **3.7. CONCLUSSION**

SB inhibited efficiently the mycelial growth and conidia germination of *C. musae* under *in vitro* conditions and showed curative activity against the incidence and severity of CR in *in vivo* primary experiments. The dip temperature of 40°C increased the SB effectiveness. The combined treatment of SB with low dose of TBZ was highly effective against CR, reducing either the incidence or the severity of decay in curative treatments. SB did not affect the fruit quality of banana cv. Enano Gigante.

# CAPÍTULO IV. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA PREVENTIVA Y CURATIVA DEL SILICATO DE SODIO SOBRE LA PUDRICIÓN DE LA CORONA EN BANANO CV. ENANO GIGANTE

## 4.1. RESUMEN

Se evaluó la actividad antifúngica del silicato de sodio (SS) sobre la pudrición de la corona (PC) del banano cv. 'Enano Gigante' inoculado artificialmente con *Colletotrichum musae* e incubado a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 7 días. Se probaron tratamientos de SS mediante experimentos *in vitro* y primarios *in vivo*.

Se eligió la concentración preliminar *in vivo* de 130 mM de SS preventiva como la más efectiva y se usó en los experimentos de la influencia de la temperatura de baños en la efectividad del SS. Tratamientos de baños preventivos de SS a 130 mM a  $40^\circ\text{C}$  durante 20 min aplicado solo o combinado con bajas dosis de tiabendazol (TBZ) se evaluaron sobre la PC, así como también el efecto del SS sobre la calidad del plátano. El SS a 70 mM inhibió totalmente el crecimiento micelial y concentraciones de 110 mM de SS inhibió (84.00%) la germinación de conidios de *C. musae*.

En experimentos primarios *in vivo*, la concentración de 130 mM de SS redujo la severidad de la PC en tratamientos preventivos (78.57%) y curativo (50.00%) de reducción de la PC, no hubo reducción de la incidencia de la PC. Entre los baños con SS a 130 mM durante 20 min probados a diferentes temperaturas, el baño a  $40^\circ\text{C}$  preventivo redujo la incidencia y la severidad de la PC en un 66.70 y 95.20%, respectivamente con respecto al testigo.

El SS a 130 mM combinado con TBZ a 225 ppm no mejoró la efectividad de control preventivo sobre la PC. El SS no afecta la calidad de fruto de banano.

**Palabras claves:** *Colletotrichum musae*, tiabendazol, postcosecha, severidad, sustancias GRAS

## 4.2. ABSTRACT

The antifungal activity of sodium silicate (SS) on crown rot (CR) of banana cv. 'Enano Gigante' artificially inoculated with *C. musae* and incubated at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  for 7 days was determined. SS treatments were tested in *in vitro* and *in vivo* primary experiments.

The *in vivo* preventive preliminary concentration of 130 mM SS was chosen as the most effective and it was used in the experiments on the influence of dip temperature on the effectiveness of SS. Preventive dip treatments of SS at 130 mM at  $40^\circ\text{C}$  for 20 min applied alone or combined with low doses of thiabendazole (TBZ) were evaluated on PC, as well as the effect of SS on banana fruit quality. SS at 70 and 110 mM totally inhibited mycelial growth and the germination of *C. musae* conidia (84.00%), respectively.

In *in vivo* primary experiments, the concentration of 130 mM SS reduced the severity of PC in preventive (78.57% of reduction) and curative (50.00% of reduction) treatments, but not the incidence of PC. Among the dips with SS at 130 mM for 20 min tested at different temperatures, the preventive dip at  $40^\circ\text{C}$  reduced the incidence and severity of PC by 66.70 and 95.20%, respectively, with respect to the control.

The SS at 130mM combined with TBZ at 225 ppm did not improved the preventive control effectiveness on CR. SS did not significantly affect the quality of banana fruit.

**Keywords:** *Colletotrichum musae*, thiabendazole, postharvest, severity, GRAS substances.

## 4.3. INTRODUCCIÓN

El plátano es una planta herbácea monocotiledónea que pertenece a la familia *Musáceae*, siendo el tercer producto más importante del mundo en el grupo de los frutos y un alimento básico para más de 400 millones de personas (Holscher *et al.*, 2014); su cultivo se ve afectado por varias enfermedades fúngicas postcosecha incluyendo la pudrición de la corona (Kulkarni *et al.*, 2021), la antracnosis (Vilaplana *et al.*, 2018) y la pudrición del cigarro (Youssef *et al.*, 2020), siendo la pudrición de la corona la enfermedad más importante económicamente (Krauss and Johanson, 2000; Lassois *et al.*, 2011; Kamel *et al.*, 2016; Yahan *et al.*, 2019).

La pudrición de la corona causada por un complejo fúngico, *Colletotrichum musae* (Finlay and Brown, 1993), *Lasiodiplodia theobromae* (Kulkarni *et al.*, 2021) y *Fusarium musae* (Tava *et al.*, 2021), es la principal enfermedad en postcosecha en México y en todas las áreas productoras de banano en todo el mundo (Lassois and De Bellaire, 2014). El control de la enfermedad se realiza principalmente con fungicidas químicos sintéticos convencionales (procloraz, imazalil y tiabendazol). Sin embargo, estos fungicidas traen consigo varios efectos negativos como la contaminación del medio ambiente, acumulación de residuos en el fruto por arriba del límite permisible y aparición de cepas del hongo resistentes a los fungicidas (Mari *et al.*, 2003; Jinasena *et al.*, 2011; Gatto *et al.*, 2011).

Ante esta problemática, se deben aplicar métodos culturales, físicos, químicos de baja toxicidad y biológicos como una alternativa a los fungicidas sintéticos convencionales para controlar las enfermedades postcosecha de los frutos del plátano (Alvindhia and Natsuaki, 2007; Lassois *et al.*, 2008). Las sustancias químicas de baja toxicidad reconocidas como GRAS incluyen algunos aceites esenciales, extractos de plantas y otros compuestos naturales, pero también algunas sales orgánicas e inorgánicas tales como, el cloruro de calcio, carbonatos, sorbatos, benzoatos, acetatos, sales silicatos, entre otras (Palou and Pérez-Gago, 2021).

El silicato de sodio es una sustancia GRAS, que se ha probado contra varias enfermedades fúngicas con éxito. Por ejemplo, Bi *et al.* (2006) la evaluó contra el patógeno *Alternaria alternata* en melones Hami (*Cucumis melo* L.var. inodoro Jacq.). Pavanello *et al.* (2016) la probó sobre *Monilinia fructicola* en melocotón. Mientras que Youssef *et al.* (2020) lo evaluó contra *Musicillium theobromae* en banano.

## **4.4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.4.1. Patógeno fúngico**

El hongo *Colletotrichum musae* se obtuvo de la colección de cultivos fúngicos del Campus Tabasco. El hongo fue resembrado y cultivado en medio papa dextrosa agar (PDA) e incubado a 25°C durante 7 a 14 días.

#### 4.4.2. Experimentos *in vitro*

##### 4.4.2.1. Efecto del silicato de sodio en el crecimiento micelial de *Colletotrichum musae*

Para evaluar el efecto del SS (38.7 % de ingrediente activo, silicat, 1.4 g cm<sup>3</sup>, PQ (Corporation) sobre el crecimiento micelial de *C. musae*, se probaron los siguientes tratamientos: 30, 50, 70, 90 y 110 mM, más el control. Se usó un diseño experimental completamente al azar. Cada tratamiento consistió de 5 cajas de Petri conteniendo PDA adicionado con las diferentes concentraciones de SS (cada caja de Petri fue una repetición). Se preparó una solución acuosa madre o stock concentrada a 1000 mM de SS, la cual se adicionó al medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), cuando dicho medio estaba a la temperatura de 45-50°C para lograr las concentraciones (Tratamientos) finales deseadas de SS.

Aproximadamente 20 ml de medio PDA con el SS adicionado se vaciaron en cada caja Petri. 24 horas después del vaciado en las cajas de Petri, un disco de micelio de 5 mm de diámetro con medio de cultivo PDA de *Colletotrichum musae* de 7 días de edad, se tomó de la colonia y se colocó en el centro de otra caja de Petri (100 mm de diámetro), conteniendo las concentraciones deseadas de SS adicionado en el PDA y se incubó a 25°C a obscuridad. El experimento se realizó por duplicado. Se midieron dos diámetros (mm) de la colonia de *C. musae* de manera perpendicular uno del otro a los 9 días de incubación. El crecimiento micelial se expresó como la inhibición de crecimiento micelial en porcentaje (%ICM), la cual se calculó mediante la siguiente formula:

$$\%ICM = ((DCC - DCT) / DCC) * 100$$

Dónde:

DCC= Diámetro de la colonia en el control en mm

DCT= Diámetro de la colonia en el tratamiento en mm

#### **4.4.2.2. Efecto del silicato de sodio en la germinación de conidios de *Colletotrichum musae***

Se evaluaron cinco tratamientos con SS a 30, 50, 70, 90 y 110 mM, más el control sobre la germinación de conidios de *C. musae*. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar. El ensayo se realizó usando la técnica del portaobjeto con concavidad. Cada tratamiento con 4 repeticiones (cada repetición fue una concavidad). Se preparó una solución acuosa madre a la concentración de 1000 mM de SS, la cual se adicionó al medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), cuando dicho medio estaba a la temperatura de 45-50°C. Para lograr las concentraciones finales deseadas de SS, aproximadamente 100 µl de PDA con el SS adicionado de los diferentes tratamientos se colocaron en cada concavidad de los portaobjetos, usando una micropipeta.

Transcurrido 24 horas, se colocó y distribuyó una alícuota de 20 µL de una suspensión de conidios de *Colletotrichum musae* a la concentración de  $10^6$  conidios mL<sup>-1</sup> de 14 días de edad sobre la superficie del PDA añadido con SS contenida en las concavidades de los portaobjetos. Los portaobjetos con concavidad se colocaron dentro de cajas Petri y se incubaron a 25°C. Se valoró la germinación de conidios hasta que germinó más del 80% de los conidios en el control. Se realizó el conteo de conidios germinados de un total de 200 conidios por tratamiento (4 repeticiones por tratamiento) a las 12 h después de la inoculación. Los conidios se consideraron germinados cuando la longitud del tubo germinativo correspondía a la mitad o más del diámetro del conidio. El experimento se realizó dos veces. La variable se expresó como el porcentaje de la inhibición de germinación de conidios de *C. musae* (%IGC) y se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\%IGC = (1 - (CGT/CGC)) * 100$$

Dónde:

CGT= número de conidios germinados en el tratamiento

CGC= número de conidios germinados en el control

#### **6.2.3. Experimentos *in vivo***

#### **4.4.2.3. Fruta**

Los experimentos se realizaron con bananas (*Musa paradisiaca*) cv. 'Enano Gigante'. Los racimos de plátano se recolectaron en campos de producción comercial del área de Cucuyulapa, Cunduacán, Tabasco. Antes de cada experimento, los racimos fueron desmanados, y las manos fueron seleccionadas libre de daños, aleatorizadas, lavadas con agua de la llave, y secadas a temperatura ambiente.

#### **4.4.2.4. Desinfección y maduración artificial de la fruta**

El agua de la llave para la limpieza de la fruta y deslataje, se desinfectó con hipoclorito de sodio (hipoclorito de sodio 5% v/v, Hycel reactivos químicos, Jalisco, México) a 250 ppm y luego se secó a temperatura ambiente. Después de 0.5 h de secado, la fruta se desinfectó con una solución acuosa de hipoclorito de sodio al 1.0% durante 2 min y se enjuagó para eliminar el cloro residual y se secó a temperatura ambiente por 0.5 h. Posteriormente la fruta se trató con una solución acuosa de etefón a 2000 ppm (ETHREL 21.7% LS, Bayer, México, México) durante 1 min para su maduración forzada. Finalmente, las coronas de las manos de plátano se desinfectaron por inmersión durante 30 s con alcohol etílico al 70%.

#### **4.4.2.3. Preparación de la suspensión de conidios de *C. musae***

Los conidios de *C. musae* de una colonia de 14 días de edad se tomaron de la superficie de las cajas de Petri conteniendo PDA y se transfirieron a un tubo de ensayo que contenía una solución de agua estéril con 0.05% (p/v) de Tween 80. Posteriormente la suspensión de conidios contenida en el tubo de ensayo se filtró usando una gasa estéril para eliminar los fragmentos miceliales del hongo. En seguida dos alícuotas de la suspensión de conidios filtrado fueron colocadas sobre un hemacitómetro para finalmente ajustar una concentración de  $10^6$  conidios mL<sup>-1</sup> del hongo.

#### **4.4.2.4. Efecto del silicato de sodio sobre la pudrición de corona en experimentos primarios *in vivo***

La concentración de SS que inhibió completamente el crecimiento micelial o que obtuvo el mayor porcentaje de inhibición de germinación de los conidios de *C. musae* se usaron



como punto de partida para definir el rango de concentraciones a probar en ensayos primarios *in vivo* utilizando frutos de plátano cv. Enano Gigante en madurez fisiológica de tamaño uniforme y libre de daños. Se removieron los remanentes florales, la suciedad y las impurezas.

Tanto para el tratamiento preventivo como curativo, la fruta se desinfectó y maduró siguiendo el procedimiento de la sección de “desinfección y maduración artificial de la fruta” de Materiales y Métodos”. La preparación del inóculo fúngico se realizó siguiendo el procedimiento descrito en la sección de “preparación de la suspensión de conidios de *C. musae*” de Materiales y Métodos. Se aplicaron los tratamientos de 50, 70, 90, 110, 130, 150, 200, 250 y 300 mM de SS más un testigo y un tratamiento sin inocular (TSI) con un atomizador sobre la superficie de corte de la corona hasta cubrirlo completamente. La inoculación se realizó 1 h después (tratamiento preventivo) o antes (tratamiento curativo) de la aplicación de los tratamientos, colocando 100  $\mu\text{L}$  de la suspensión de  $10^6$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  de *C. musae* en la superficie de corte de la corona y se dispersó con ayuda de una brocha o pincel.

Se usó un diseño experimental completamente al azar y cada tratamiento consistió de tres repeticiones con tres manos de 4-6 frutos cada una. Posteriormente la fruta inoculada y tratada o viceversa se colocó en cajas de plástico de 10 kg y se incubaron a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y 80-90% de humedad relativa (HR) durante 7 días. La lectura de severidad se tomó a los 7 días tras la inoculación del hongo.

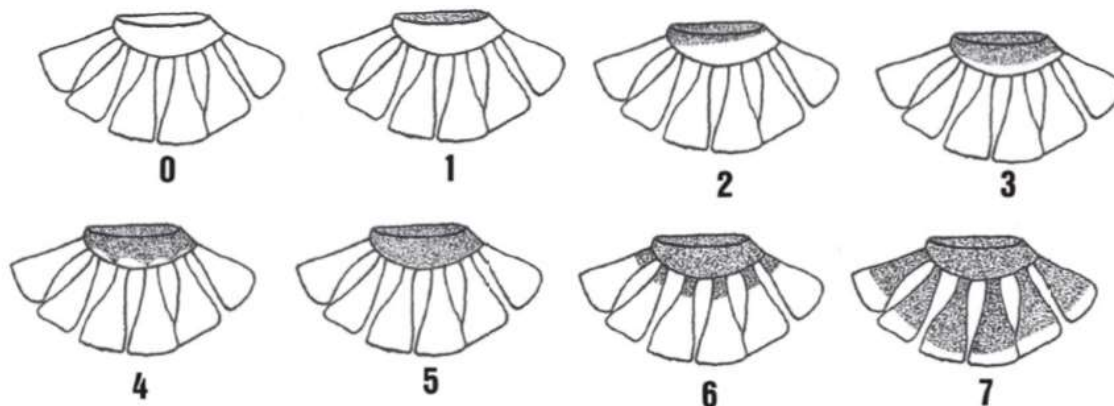
Se valoró la severidad de la pudrición de corona usando la escala de severidad (Figura 4.1) propuesta por Alvindia *et al.* (2004) y se expresó como el porcentaje de reducción de severidad de la enfermedad.

Donde:

---

0	Ninguna decoloración o crecimiento micelial sobre la corona
1	Decoloración o crecimiento micelial limitado a la superficie del corte de la corona
2	Decoloración o crecimiento micelial menos de 10% del área de la corona
3	11-40% de decoloración o crecimiento micelial sobre el área de la corona
4	41-70% de decoloración o crecimiento micelial sobre el área de la corona
5	71-100% de decoloración o crecimiento micelial sobre el área de la corona
6	Decoloración o crecimiento micelial sobre el pedicelo de los dedos
7	Decoloración o crecimiento micelial alcanza la pulpa de los dedos

---



**Figura 4.1.** Índice de clasificación visual de severidad de la pudrición de la corona de la mano del banano.

$$\% \text{ de reducción de la severidad de la pudrición de la corona} = \left( \frac{IPC - IPT}{IPC} \right) * 100$$

Donde: IPC es índice de la pudrición de la corona en el control y IPT es índice de la pudrición de la corona en el tratamiento.

#### **4.4.2.5. Influencia de la temperatura de baño en la efectividad del silicato de sodio**

Para determinar la influencia de la temperatura de baño preventivos o curativos se usó la concentración más efectiva de SS (130 mM) seleccionada en los experimentos primarios *in vivo* y se realizaron ensayos utilizando frutos de plátano cv. Enano Gigante en madurez fisiológica. La fruta se desinfectó y maduró siguiendo el procedimiento de la

sección de “desinfección y maduración artificial de la fruta” de Materiales y Métodos”. La preparación del inóculo fúngico se realizó siguiendo el procedimiento descrito en la sección de “preparación de la suspensión de conidios de *C. musae* de Materiales y Métodos. Los tratamientos evaluados fueron los siguientes: i) tratamiento sin inocular (TSI), ii) testigo (solo agua sin calentar), iii) agua caliente a 30°C (AC 30°C), iv) agua caliente a 40°C (AC 40°C), v) agua caliente a 50°C (AC 50°C), vi) silicato de sodio a 130 mM a 30°C (SS 30°C), vii) silicato de sodio a 130 mM a 40°C (SS 40°C), y viii) silicato de sodio 130 mM a 50°C (SS 50°C). Todos los tratamientos de baño calentados se sometieron a 20 minutos de inmersión.

Los tratamientos en baños fueron aplicados antes (tratamiento preventivo) o después (tratamiento curativo) de la inoculación del hongo. La inoculación se realizó colocando 100 µL de la suspensión de  $10^6$  conidios mL<sup>-1</sup> de *C. musae* en la superficie de corte de la corona y se dispersó con ayuda de una brocha o pincel. Los tratamientos aplicados en baños se realizaron en neveras de plástico con un volumen de 18 L y los tratamientos que necesitaron ser calentados a las diferentes temperaturas fueron hechos con la ayuda de un calentador eléctrico manual para agua de capacidad de 21 L (Silverline, DC-CA, 1000 W). Para la actividad curativa los baños se realizaron aproximadamente 1 h después de la inoculación del hongo.

Los tratamientos fueron evaluados en un diseño experimental completamente al azar y se usaron 3 repeticiones de 4 manos (4-6 frutos por cada mano) por cada tratamiento. Las manos con fruta tratada e inoculada o viceversa se colocaron en cajas de plástico de 10 kg y se incubaron a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y 80-90% de HR durante 7 días en un cuarto de incubación del Campus Tabasco. Se valoraron la incidencia de la enfermedad (expresado como el porcentaje de reducción de la incidencia) y la severidad (expresado como el porcentaje de reducción de la severidad) de la pudrición de corona después del periodo de incubación.

#### **4.4.2.6. Actividad antifúngica del silicato de sodio solo o combinado con dosis bajas de tiabendazol**

El SS en solución acuosa a 130 mM calentado a 40°C durante 20 min en tratamiento preventivo fue el tratamiento más efectivo seleccionado de experimentos previos (experimentos primarios para el caso de la concentración de SS e influencia de la temperatura de baño sobre la efectividad de SS para el caso de la temperatura de baño y tipo de tratamiento) se usó para determinar la efectividad del SS solo o combinado con bajas dosis de tiabendazol (TBZ). Los ensayos se realizaron utilizando frutos de plátano cv. Enano Gigante. La fruta se desinfectó, se maduró con etileno y se realizó la inoculación de acuerdo a los procedimientos respectivos descritos previamente en la sección de Materiales y Métodos.

Los tratamientos utilizados fueron: tratamiento sin inocular (TSI), testigo (solo agua sin calentar), SS a 130 mM aplicado sólo a 40°C durante 20 min (SS 40°C), SS a 130 mM más TBZ a 225 ppm a 40°C durante 20 min (SS+TBZ), TBZ a 225 ppm durante 1 min (TBZ 225), TBZ a 450 ppm durante 1 min (TBZ 450) y TBZ a 600 ppm durante 1 min (TBZ 600). Los tratamientos aplicados en baños se realizaron en neveras de plástico con un volumen de 18 L y los tratamientos que necesitaron calentarse fueron hechos con la ayuda de un calentador eléctrico manual para agua de capacidad de 21 L (Silverline, DC-CA, 1000 W). Para el caso del tratamiento combinado de SS más TBZ, ambos químicos fueron mezclados físicamente en agua limpia en sus cantidades respectivas y agitados con una varilla de plástico. Se usaron 3 dosis de TBZ, una dosis baja (TBZ a 225 ppm), una dosis comercial (TBZ a 450 ppm) y una dosis regional (TBZ a 600 ppm). El diseño experimental fue un completamente al azar. Cada tratamiento consistió de 3 repeticiones de 4 manos (4-6 frutos por cada mano) cada una.

Las manos con frutos se colocaron en cajas de plástico y se incubaron a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y 80-90% de HR durante 7 días. Se valoró la incidencia en porcentaje (no. De coronas enfermas/ no. De coronas totales) y la severidad de la pudrición de corona después del periodo de incubación. La incidencia fue expresada como la reducción de la incidencia en porcentaje, y la severidad fue expresada como la reducción de la severidad en

porcentaje. Para medir la severidad se utilizó la escala de severidad propuesta por Alvindia *et al.* (2004) mencionado previamente.

#### **4.4.2.7. Efecto del silicato de sodio en la calidad del banano**

Para determinar el efecto del SS sobre la calidad de la fruta. Se determinó la calidad externa e interna de la fruta después de 6 días de la aplicación de los tratamientos.

Se usó un diseño experimental completamente al azar, con 20 frutos (cada fruto fue una repetición y se usaron frutos de la segunda y tercera mano del racimo). Los tratamientos evaluados fueron: Testigo (sólo agua) durante 1 min, SS a 130 mM a temperatura ambiente durante 1 min y SS a 130 mM a 40 °C durante 20 min. Los parámetros de calidad valorados fueron:

##### **Calidad externa**

- Pérdida de peso (%). Se midió el peso inicial (antes del tratamiento) y final (6 días después del tratamiento) de 12 manos por cada tratamiento.
- Peso de fruto (g). Se pesó el fruto individual de 20 frutos por tratamiento con ayuda de una balanza digital de 1510 g de capacidad con dos dígitos después del punto decimal.
- Firmeza del fruto (kgf). Se cortaron transversalmente los frutos en su parte media, luego se midió la firmeza con un penetrómetro usando un puntal de 8 mm de diámetro.
- Peso de pulpa y cáscara (g). Se pelaron 20 frutos y se pesaron separadamente la pulpa y la cáscara de los frutos.
- Relación peso de pulpa/peso de cáscara del fruto. Se obtuvieron dividiendo peso de pulpa entre peso de cáscara en 20 frutos.

##### **Calidad interna**

- Acidez titulable (% de ácido málico). Se realizó por titulación usando hidróxido de sodio a 0.1 N y fenolftaleína como indicador de la siguiente manera: se licuo 30 g de pulpa de plátano en 90 ml de agua destilada durante 2 min y filtro en tela organza. Se transfirió 25 ml de jugo filtrado a un matraz de 125 ml. Se adicionó 25 ml de agua destilada y 4-5 gotas del indicador fenolftaleína. Se llenó una bureta de 25 ml con

hidróxido de sodio (NaOH) a 0.1 N y se ajustó a la marca cero después de eliminar las burbujas. Se tituló con hidróxido de sodio 0.1 N hasta que el jugo cambio a color rosa. Se registró el volumen de NaOH a 0.1 N gastado en la titulación. Los resultados se expresaron como % de ácido málico.

- Contenido de sólidos solubles totales (CSST, °B). Se licuó 30 g de pulpa de plátano en 90 ml de agua destilada durante 2 min y se filtró en tela organza. Se colocó 3-4 gotas del filtrado en la superficie del prisma. Se realizó la lectura con el refractómetro. (AOAC, 2005).

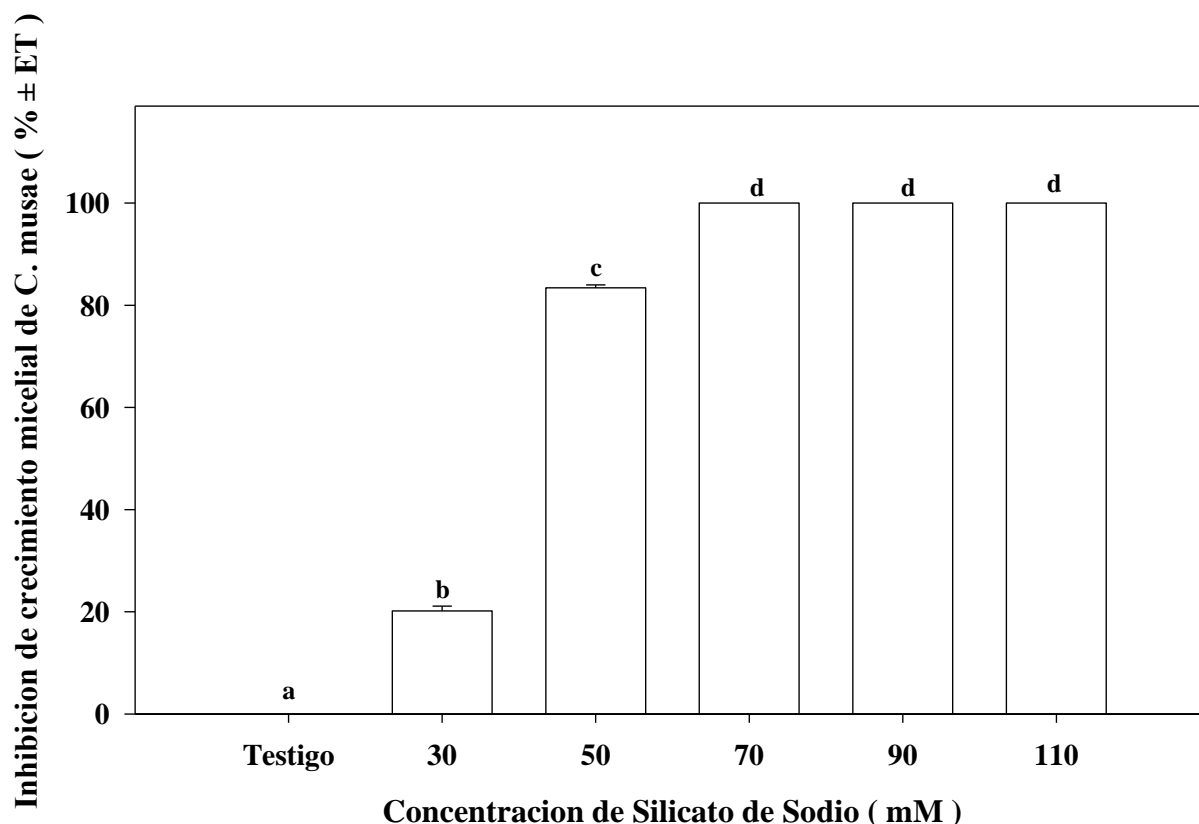
#### **4.4.2.8. Análisis estadístico**

Los datos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) con el software Statgraphics (Statgraphics Plus, v 5.1; Manugistics Inc., Rockville, Maryland, EE.UU.). Las reducciones de incidencia o severidad de la PC con respecto a los tratamientos testigo se calcularon como porcentajes. Los datos de reducción de severidad o incidencia en porcentaje de la pudrición de corona se transformaron al arco-seno de la raíz cuadrada antes de ser sometidas al ANOVA. La significancia estadística se consideró en el nivel  $P = 0.05$ . Se aplicó la prueba de medias de la diferencia mínima significativa (DMS) de Fisher para separar medias cuando fue necesario. Los valores mostrados son medias no transformadas.

### **4.5. RESULTADOS**

#### **4.5.1. Efecto del silicato de sodio en el crecimiento micelial de *Colletotrichum musae***

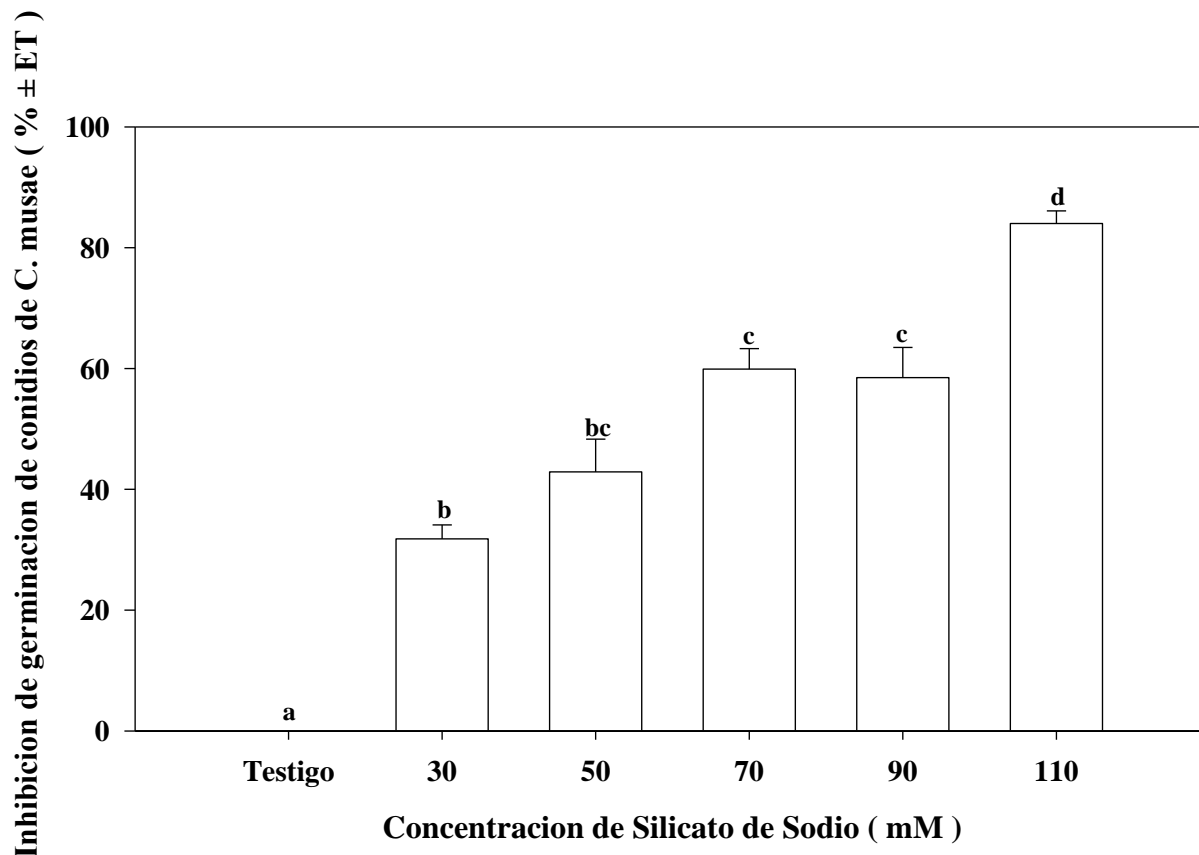
El análisis de varianza mostró un efecto estadístico significativo ( $P \leq 0.05$ ) del SS sobre la inhibición del crecimiento micelial de *C. musae* después de un periodo de incubación de 9 días a 25°C a obscuridad (Figura 4.2). Las concentraciones de 70, 90 y 110 mM de SS suprimieron totalmente el crecimiento micelial de *C. musae*, seguidos por la concentración de 50 mM de SS con un valor de inhibición del crecimiento micelial de 83.4%.



**Figura 4.2.** Efecto *in vitro* del silicato de sodio sobre la inhibición de crecimiento micelial de *C. musae* después de 9 días de incubación a 25°C a oscuridad. Letras diferentes en columnas significan diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de la diferencia mínima significativa de Fisher ( $P \leq 0.05$ ) aplicado a datos transformados al arcoseno. Barra es el error típico (ET;  $n = 5$ ). Se muestran las medias de inhibición de crecimiento micelial no transformadas de dos experimentos.

#### 4.5.2. Efecto del silicato de sodio en la germinación de conidios de *Colletotrichum musae*

Con respecto al efecto del SS en la inhibición de la germinación de conidios de *C. musae*, se observaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) después de 12 h de incubación a 25°C a oscuridad. La concentración más efectiva de SS fue 110 mM, la cual inhibió 84.00% (Figura 4.3). El resto de las concentraciones de SS tuvieron inhibiciones de germinación de conidios más bajas.



**Figura 4.3.** Efecto del silicato de sodio sobre la germinación de conidios de *C. musae* incubados a 25°C a oscuridad durante 12 h. Columnas con letras diferentes indican diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de la diferencia mínima significativa de Fisher ( $P \leq 0.05$ ) aplicado a datos transformados al arcoseno. Barra indica error típico (ET;  $n = 4$ ). Se muestran medias de inhibición de germinación de conidios no transformadas de dos experimentos.

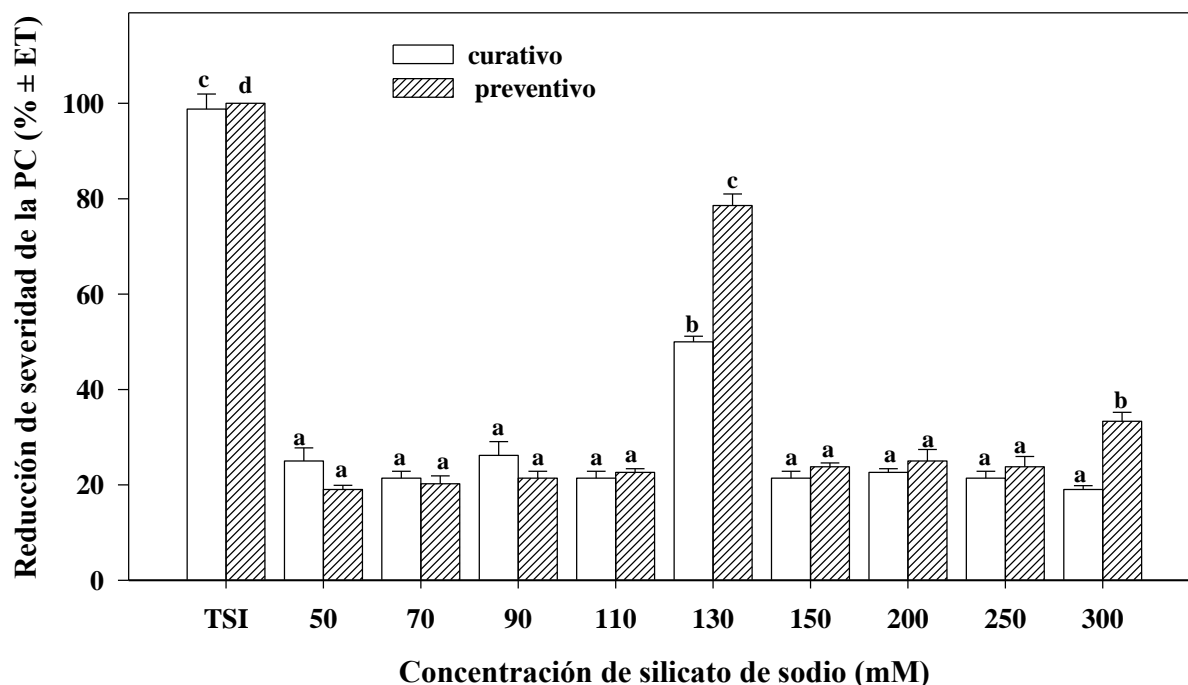
#### 4.5.3. Efecto del silicato de sodio sobre la pudrición de corona en experimentos primarios *in vivo*

Los resultados mostraron significativamente diferencia en el porcentaje de reducción de la severidad de la PC del banano tanto en tratamientos curativos como preventivos con SS a 130 mM, después de siete días de la inoculación de la corona con *C. musae* e incubadas a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y 80-90% de HR. Los tratamientos preventivos con silicato de sodio tuvieron un efecto significativo ( $p \leq 0.05$ ) sobre la severidad de la PC (78.57%), en la concentración de 130 mM, mientras que en tratamientos curativos se obtuvo una reducción de la severidad de 50.00 % (Figura 4.4).

En base a nuestros resultados sobre el efecto preventivo del silicato de sodio en la severidad en la pudrición de corona del banano Cv Enano Gigante, la concentración de



130 mM de SS fue seleccionado como el tratamiento más efectivo para realizar trabajos subsecuentes.

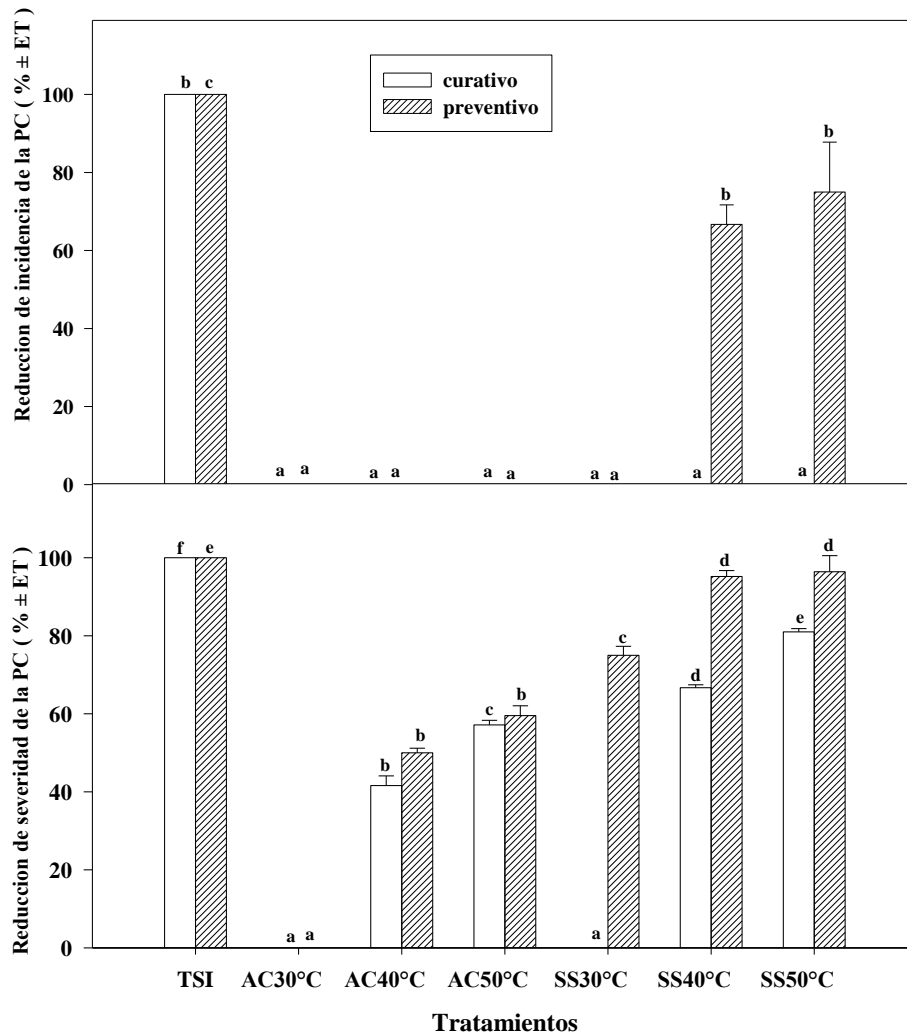


**Figura 4.4.** Efecto del silicato de sodio sobre la pudrición de la corona en banana cv. Enano Gigante en experimentos primarios *in vivo*. Para cada tipo de tratamiento, columnas con letras diferentes indican diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher ( $P \leq 0.05$ ) aplicado a datos transformados al arco seno. Barra indica error típico (ET;  $n = 3$ ). TSI= tratamiento sin inocular. Se muestran valores de medias no transformadas.

#### 4.5.4. Influencia de la temperatura de baño en la efectividad del silicato de sodio

Respecto a la influencia de las diferentes temperaturas de baño en la efectividad del SS, sobre el desarrollo de la PC del banana, únicamente el tratamiento preventivo tuvo un efecto significativo para reducir la incidencia de la PC. Los tratamientos más efectivos fueron el SS40°C y SS50°C, con reducciones de incidencia de la enfermedad de 66.70 y 75.00%, respectivamente con respecto al testigo (Figura 4.5). En cuanto a la reducción de severidad de la PC por la aplicación de tratamientos con SS, en general, tanto SS preventivo como curativo tuvieron un efecto estadístico significativo en la reducción de la severidad de la PC. Los tratamientos preventivos y curativos de SS40°C y SS50°C fueron

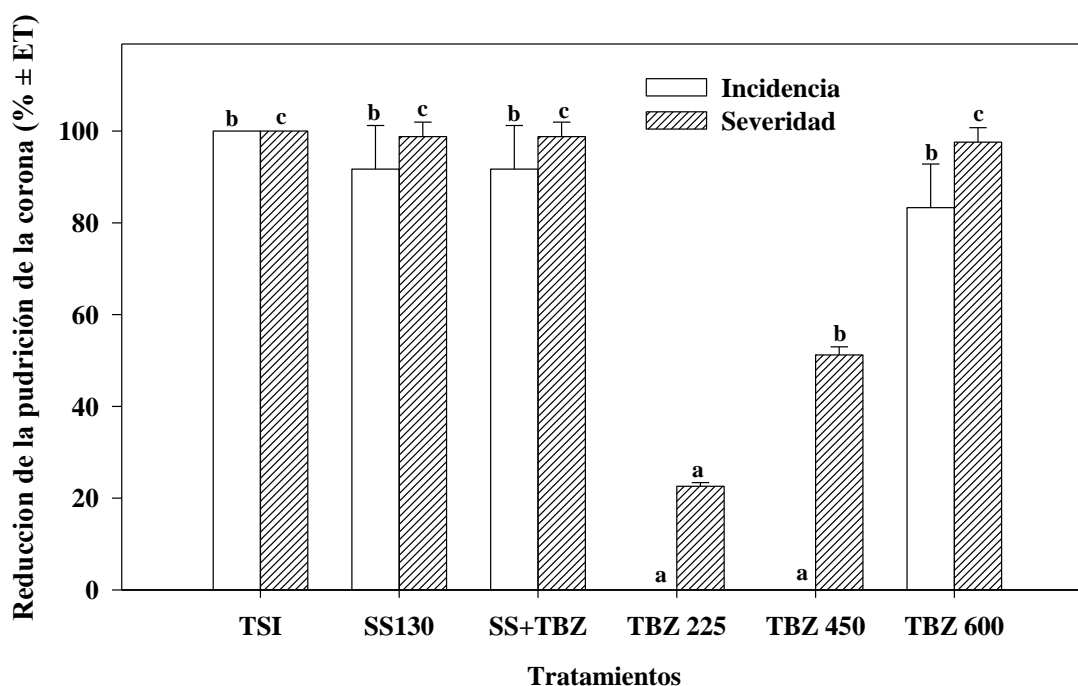
los más efectivos para reducir la severidad de la PC, con valores de 95.20 y 96.40% y 66.70 y 81.00% de reducciones, respectivamente. En base a estos resultados, la temperatura de baño preventivo de SS a 130 mM por 20 min seleccionada fue de 40°C fue seleccionada como la más efectiva para realizar trabajos subsecuentes.



**Figura 4.5.** Efecto de la temperatura de baño sobre la efectividad del silicato de sodio a 130 mM durante 20 min sobre la pudrición de la corona en banano. Para cada tipo de tratamiento de baño, columnas con letras diferentes indican diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de la diferencia mínima significativa de Fisher ( $P \leq 0.05$ ) aplicado a datos transformados al arco seno. Barras indican error típico (ET;  $n = 4$ ). AC agua caliente, CP = carbonato de potasio, TSI = tratamiento sin inocular. Se muestran valores de medias no transformados.

#### 4.5.5. Actividad antifúngica del silicato de sodio solo o combinado con dosis bajas de tiabendazol

En la figura 4.6 se muestran los efectos de la combinación de SS y TBZ sobre la incidencia y severidad de la PC. Los resultados muestran que los tratamientos SS130, SS+TBZ y TBZ 600, fueron estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) similares tanto en el control de la incidencia como en la severidad de la PC (Figura 4.6). SS130 y SS+TBZ redujeron 91.70% la incidencia de la PC, la cual fue superior a la dosis comercial TBZ600, con 83.30% de reducción de incidencia de la PC. Los tratamientos TBZ 225 y TBZ 450 tuvieron efecto nulo sobre la incidencia de PC del banano (Figura 6.6). Con respecto al control de la severidad los tratamientos SS130 y SS+TBZ presentaron una reducción de la severidad del 98.80%, mientras que la dosis regional TBZ600 redujo 97.60% la severidad. Los tratamientos TBZ 225 y TBZ 450 tuvieron una reducción de la severidad de la PC de 22.60 y 51.20%, respectivamente.



**Figura 4.6.** Efecto del silicato de sodio solo o combinado con TBZ sobre la pudrición de la corona en plátano cv. Enano Gigante. Columnas con letras diferentes indican diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de la diferencia mínima significativa de Fisher ( $P \leq 0.05$ ) aplicado a datos transformados al arco seno. Barras indican error típico (ET;  $n = 4$ ). SS = silicato de sodio, TBZ = tiabendazol, TSI = tratamiento sin inocular. Se muestran valores de medias no transformados.

#### 4.5.6. Efecto del silicato de sodio en la calidad del banano

El SS a 130 mM durante 20 min calentado (40°C) o no calentado (20°C durante 1 min) no tuvo efecto significativo ( $p \leq 0.05$ ) sobre los atributos de calidad del fruto de banano (Cuadro 4.1).

**Cuadro 4.1.** Efecto del silicato de sodio en la calidad del banano.

Tratamientos	FF (kgf)	PPMF (%)	PFI (g)	PCF (g)	PPF (g)	CSST (B°)	AT ácido málico (%)
Testigo	0.410±0.05 a	8.53±0.5 a	173.76±23 a	56.06±6.7 a	117.07±12 a	17.81±0.7 a	0.22±0.03 a
SS 130mM	0.390±0.04 a	8.84±1.3 a	174.19±20 a	55.87±6.0 a	118.32±7.2 <sup>a</sup>	17.68±1.0 a	0.21±0.01 a
SS 130mM a 40°C	0.402±0.03 a	8.87±0.9 a	176.56±12 a	57.88±5.2 a	118.68±5.5 <sup>a</sup>	17.08±0.4 a	0.22±0.00a

No se encontraron significancia estadística ( $p \leq 0.05$ ); n = 20 repeticiones por tratamiento.

Firmeza de fruto (FF), pérdida de peso de mano de fruto (PPMF), peso de fruto individual (PFI), peso de cáscara de fruto (PCF), peso de pulpa de fruto (PPF), contenido de sólidos solubles totales (CSST) y acidez titulable (AT).

#### 4.6. DISCUSIÓN

El crecimiento micelial de *C. musae* se inhibe por completo con silicato de sodio (SS) a 70 mM, y la germinación de conidios tuvo una inhibición de 84.00% a 110 mM de SS. Otros estudios han reportado que el silicato de sodio al 4% inhibe por completo el crecimiento micelial de *Musicillium theobromae* en banano (Youssef *et al.*, 2020). Ge *et al.* (2017) reportan que la concentración de 200 mM de silicato de sodio inhibe el 76.10% del crecimiento micelial de *Trichothecium roseum*. Bi *et al.* (2006) estudiaron el efecto del silicato de sodio para controlar *Alternaria alternata*, *Fusarium semitectum* y *Trichothecium roseum*, encontrando que a 100 mM el crecimiento micelial de los hongos se inhibieron. Un estudio más reciente revela que concentraciones de 2.5 y 3% de silicato de sodio inhibe hasta el 100% el crecimiento del micelio de *C. brevisporum* aislado de frutos con antracnosis en papaya Maradol (Vidal-Vergara *et al.*, 2022). El silicato de sodio al 0.5 y 1.0% inhiben solo el 9% del crecimiento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* en papaya (Rayón-Díaz *et al.*, 2021). Concentraciones de 2000  $\mu\text{g mL}^{-1}$

de silicato de potasio inhiben completamente el crecimiento micelial de *Colletotrichum sp* (Nikagolla *et al.*, 2021).

En varias investigaciones se reporta actividad antifúngica con otras sales, el hipoclorito de sodio a 90 g l<sup>-1</sup> reduce el crecimiento micelial de *C. musae* hasta 85.00%. Aplicaciones de 15 mM de ácido propiónico reducen hasta 75% el crecimiento micelial de *C. musae* (Khan *et al.*, 2001). De Costa and Gunawardhana (2012) reportan que una concentración de 300 mM de bicarbonato de sodio inhibe completamente la esporulación y reduce el crecimiento del micelio en un 95 %.

Alvindhia and Natsuaki 2007 estudiaron diversas sales (g l<sup>-1</sup> de carbonato de sodio, 5 g l<sup>-1</sup> de hipoclorito de sodio, bicarbonato de sodio, cloruro de calcio y 6 g l<sup>-1</sup> de cloruro de sodio) para control de la PC en banano causada por *Lasiodiplodia theobromae*, *Colletotrichum musae*, *Thielaviopsis paradoxa* y *Fusarium verticillioides* inhibiendo completamente la germinación de conidios. Recientemente Qiao *et al.* (2022) reportan que concentraciones de 20 mg l<sup>-1</sup> de hinokitiol inhibe completamente el crecimiento micelial y la germinación de esporas de *C. musae*. Otras investigaciones han informado que el aceite de clavo (0.1 µl/ml) suprime totalmente el crecimiento micelial y la germinación de conidios de *C. musae* (Rizwana, 2018).

El control del crecimiento micelial y germinación de conidios *in vitro* de *C. musae* por aplicaciones de tratamientos con SS probablemente ha causado cambios morfológicos y deshidratación de las hifas como parte de su mecanismo fungistático, así como escasez de micelio, asimetría, hinchazón, alteraciones de las paredes de las células, disolución de los orgánulos celulares, y membrana plasmática o material electrodensado en las células hifales (Li *et al.*, 2009; Shen *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2010; Niu *et al.*, 2016). Así como disminución en el tamaño y producción de conidios (Datnoff and Heckman, 2014). También se ha demostrado que la aplicación de silicio induce la producción de compuestos antifúngicos después de la penetración del patógeno en la epidermis de las células (Cai *et al.*, 2009) y actúa como modulador de la resistencia del huésped a patógenos (Fauteux *et al.*, 2005; Van Bockhaven *et al.*, 2013).

En los experimentos primarios *in vivo*, los resultados obtenidos con 130 mM de SS en la reducción de severidad preventivo (78.57%) son inferiores a los reportado por Youssef *et al.* (2020) para el control de la pudrición de la punta del cigarro (*Musicillium teobromae*) en banano en reducción de severidad (86.7%), aunque la concentración utilizada de SS fue superior (4%) a la utilizada en el presente estudio. Otras investigaciones reportan una reducción del 45% de la incidencia de PC en tratamientos preventivos cuando se utiliza 300 mM de bicarbonato de sodio (De Costa and Gunawardhana, 2012). Estudios realizados por Vidal-Vergara *et al.* (2022) con silicato de sodio preventivo al 1% lograron reducir la severidad de *Colletotrichum brevisporum* en frutos de papaya cv. Maradol.

En los ensayos sobre la influencia de la temperatura de baño en la efectividad de silicato de sodio en la reducción de la incidencia y severidad solo los tratamientos de 40°C y 50°C tuvieron efectividad. Sin embargo, la temperatura de 50°C no es recomendable su uso, dado que la cáscara del fruto presentó quemaduras. Ummarat *et al.* (2011) reportan resultados similares de quemadura de cáscara del fruto en cv. Gros Michel, a 50°C. Aunque en banano 'Prata-Ana' Moraes *et al.* (2006) afirman que un tratamiento de termoterapia de 56°C por 6 min produce la disminución de lesiones en la cáscara. Para la ejecución del presente trabajo se utilizó el cv. Gros Michel (Musa AAA), lo cual sugiere que es más sensible que el cultivar 'Prata- Ana' (Musa AAB) a los tratamientos térmicos.

El tratamiento de baño preventivo a 40°C con SS a 130 mM durante 20 min (SS 40°C) presentó el mayor porcentaje (95.20%) de reducción de severidad de PC. Nuestro resultado es superior al valor de severidad obtenido con carbonato de sodio (65%), hipoclorito de sodio (61%), cloruro de calcio (61%) (Alvindia and Natsuaki (2007), bicarbonato de sodio a 5 g l<sup>-1</sup> calentado a 50°C (77.59%) (Alvindia, 2013) y al de 300 mM de bicarbonato de sodio (45%) (De Costa and Gunawardhana, 2012). También hubo reducción de la incidencia en tratamientos SS a 130 mM de 66.70%.

La eficiencia del tratamiento con agua caliente es fungistático y no tiene acción residual para prevenir el desarrollo de hongos después del tratamiento (Alvindia, 2012) y actúa directamente sobre la viabilidad de las esporas y su esporulación (Fallik, 2004). Otras investigaciones reportan un efecto sinérgico similar entre agua caliente y quitosano en términos de mejorar la resistencia de la fruta contra la infección de *C. musae* (Prasetia

*et al.*, 2018). El tratamiento combinado de SS a 130 mM más 225 ppm de TBZ redujo la severidad (98.80%) y la incidencia (97.70%). Se ha reportado un efecto sinérgico de hasta 96% de inhibición de crecimiento micelial y germinación de conidios de *C. musae* en la combinación de hidroxianisol butilado (BHA) más TBZ (Khan *et al.*, 2001). Alvindia and Natsuaki, (2007) reportaron que el carbonato de sodio en combinación con surfactantes reducen el 65% de la PC. Otras investigaciones reportan nula acción antifúngica al combinar sorbato de potasio más TBZ contra *Penicillium expansum* (Fada *et al.*, 2015). Así mismo tampoco se encontró efecto sinérgico para controlar la antracnosis en frutos de papaya causado por *C. brevisporum* al combinar SS al 1.0% con TBZ (Vidal-Vergara *et al.*, 2022).

En esta investigación se utilizó la dosis regional de TBZ a 600 ppm, la cual controla la enfermedad, lo que sugiere que *C. musae* ha desarrollado algún grado de insensibilidad o resistencia a TBZ a dosis comercial (450 ppm) en el área de Cucuyulapa, Tabasco, y es probable que por esta razón el productor bananero de esta área incrementó la dosis. Torres-Calzada *et al.* (2015) han reportado resistencia a benzimidazol (grupo químico al que pertenece el TBZ) en aislados de *C. truncatum*, en el gen TUB-2.

En relación al efecto del SS a 130 mM sobre la calidad de frutos de banano, no se afectó las concentraciones de sólidos solubles y acidez titulable. Estudios similares al nuestro reportan que las concentraciones de sólidos solubles y acidez titulable no se ven afectada por tratamientos térmicos (Kapila *et al.*, 2015; Vilaplana *et al.*, 2018). En un estudio realizado por Nikagolla *et al.*, (2019) con tratamiento con sílice se encontró un aumento en los niveles de Si total en la cáscara de la fruta de banano y también un aumento en la firmeza de la fruta. Por otra parte, la firmeza de y de peso de fruto en cv. Gros Michel (Ummarat *et al.*, 2011) y *Musa acuminata* (Vilaplana *et al.*, 2018) no se afecta negativamente con tratamiento térmico de 40 °C. Por lo tanto, la calidad de la fruta se puede mantener a través de tratamiento con agua caliente hasta 40 °C según los presentes resultados.

#### **4.7. CONCLUSIÓN**

El silicato de sodio (SS) inhibe el crecimiento micelial y germinación de conidios de *C. musae in vitro* y muestra actividad preventiva únicamente contra la severidad de PC en experimentos primarios *in vivo*. La temperatura de baño a 40°C incrementó la efectividad del SS. El tratamiento combinado de SS a 130 mM más dosis bajas de TBZ (225 ppm) fue altamente efectivo contra la PC, reduciendo tanto la incidencia como la severidad de la enfermedad en tratamientos preventivos. El SS no afecta la calidad de frutos del banano.



## DISCUSIÓN GENERAL

La presente discusión se realiza en base a los resultados de las cuatro sustancias GRAS evaluadas en la presente tesis de investigación. En la evaluación *in vitro* del efecto de las sustancias GRAS sobre el hongo *Colletotrichum musae* causante de la pudrición de corona (PC), se encontró que las cuatro sustancias GRAS inhiben el 100% del crecimiento micelial. El silicato de potasio (200 mM) y silicato de sodio (110 mM) inhibieron 97% y 84% la germinación de conidios, el carbonato de potasio (150 mM) y el bicarbonato de sodio (250 mM) inhibieron el 100% la germinación de conidios.

Las sales redujeron al 100% el crecimiento micelial y 99-100% la germinación de conidios de *C. musae*. En la literatura se reporta que la mayoría de estas sales se clasifican como conservantes de alimentos y tienen una conocida actividad antimicrobiana general. Aunque las formas ácidas también poseen actividad antimicrobiana en algunos casos, se prefieren las sales para tratamientos postcosecha debido a su solubilidad en agua, facilidad de aplicación y actividad antifúngica adicional de cationes como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  o  $\text{NH}_4^+$  (Smilanick *et al.*, 1999).

Para el carbonato de potasio (CP), no se encontraron estudios para el control de *C. musae* en la pudrición de la corona del banano que puedan servir como parámetros de comparación, sin embargo, nuestros resultados muestran que el CP tiene actividad antifúngica para inhibir la germinación de conidios y el crecimiento micelial de *C. musae* similar al carbonato de sodio, bicarbonato de sodio, hipoclorito de sodio, cloruro de sodio y cloruro de calcio. La germinación de conidios y el crecimiento micelial se inhiben a concentraciones más bajas de 150 mM y 200 mM de CP, comparado al bicarbonato de sodio (300 mM) (De Costa and Gunawardhana, 2012) ó 250 mM de bicarbonato de sodio (Chi and Anh, 2019).

Los efectos directos e indirectos de las sales de bicarbonato sobre los microorganismos se deben en parte a la reducción de la presión de turgencia de las células fúngicas, lo que resulta en hifas y esporas colapsadas y contraíbles y, por lo tanto, en la incapacidad de los hongos para esporular (Ilić *et al.*, 2018).

También es posible que el ion bicarbonato aumente la permeabilidad de la membrana celular del hongo a las especies iónicas, lo que podría resultar en una disminución de la presión de turgencia en el hongo (Fallik *et al.*, 2004).

En cuanto a los silicatos, investigaciones previas muestran que la aplicación de silicio induce la producción de compuestos antifúngicos después de la penetración del patógeno en la epidermis de las células (Cai *et al.*, 2009) y actúa como modulador de la resistencia del huésped a patógenos (Fauteux *et al.*, 2005; Van Bockhaven *et al.*, 2013). También el silicio tiene un efecto indirecto sobre el hospedero, formando barreras físicas o mecánicas a la penetración de patógenos a nivel de la pared celular (Datnoff *et al.*, 2001; Buonauro *et al.*, 2009). Además, el silicio puede inducir mecanismos de defensa bioquímica de las plantas, incluyendo la acumulación de lignina, compuestos fenólicos y proteínas relacionada a patogénesis (Edson *et al.*, 2015).

En la determinación del efecto curativo o preventivo de sustancias de baja toxicidad sobre la pudrición de corona en experimentos primarios *in vivo* (Cuadro 2) Los silicatos estudiados en esta investigación, el SP (90 mM) y SS (130 mM) tuvieron una actividad antifúngica curativa y preventiva, respectivamente, contra *C. musae* en la reducción de la severidad, pero no redujeron la incidencia de la PC, por lo que tales actividades inhibitoras y/o antifúngicas contra *C. musae* podrían deberse a diferentes modos de acción del silicato (De Costa and Gunawardhana, 2012) y se comportaron como reguladores de crecimiento, es decir, fueron efectivos a una dosis óptima. Por su parte, las sales de CP (175 mM) y BS (500 mM) controlaron la incidencia y severidad de la pudrición de la corona, estas sales pueden tener una actividad antifúngica debido a su catión potasio o sodio (Palou, 2018), o a las interacciones tejido-sal que pueden involucrar reacciones bioquímicas que contribuyen a los mecanismos de defensa contra enfermedades (Alvindhia, 2013).

**Cuadro 2.** Comparación de las sustancias GRAS en la reducción de incidencia y severidad de la pudrición de la corona en banano

Sustancias	Preventivo		Curativo	
	Red. Incidencia	Red. Severidad	Red. Incidencia	Red. Severidad
SP 90 mM (*)	0	+	0	+
PC 175 mM (*)	0	0	/	+++
BS 500 mM (*)	0	/	++	+++
SS 130 mM (*)	0	++	0	+
SP 90 mM + 40°C	0	++	0	++
CP 175 mM + 40°C	0	++	+++	+++
BS 500 mM + 40°C	0	+	+++	+++
SS 130 mM + 40°C	++	+++	0	+
SP 90 mM + TBZ 225 ppm	0	0	+++	+++
CP 175 mM + TBZ 225 ppm	0	0	+++	+++
BS 500 mM + TBZ 225 ppm	0	0	+++	+++
SS 130 mM + TBZ 225 ppm	+++	+++	0	0
TBZ 225 ppp	0	/	0	/
TBZ 450 ppp	0	++	0	++
TBZ 600 ppp	+++	+++	+++	+++

0 = Sin reducción; /= 20 – 45 %; + = 50 – 60%; ++ = 70 – 80 %; +++ = 90 – 100 %

CP = Carbonato de potasio

BS = Bicarbonato de sodio

SS = Silicato de sodio

(\*) Experimentos *in vivo*

TBZ = Tiabendazol

Por el sólo hecho de que estas sales de carbonato (carbonato de potasio y bicarbonato de sodio) tuvieron la capacidad de reducir la incidencia de la PC, contrariamente a los silicatos, lo que sugiere que estos carbonatos tienen mejor potencial para el control de la PC en banano en tratamientos curativos.

Cuando se observan los valores de reducción de incidencia de la PC para ambos carbonatos, se puede sugerir que el bicarbonato de sodio tiene mejor potencial en tratamientos de baños para controlar la incidencia (77.8% de reducción) de la PC que el carbonato de potasio (33.3% de reducción de la incidencia de la PC); aunque claro está, la dosis de BS es mayor (500 mM) que la del carbonato de potasio (175 mM). Cabe también señalar que el CP y el BS se comportaron como un fungicida sintético

convencional en cuanto a su efectividad de control, es decir, a mayor dosis mayor control y viceversa.

En la optimización del tiempo de baño con las sustancias de baja toxicidad sobre la pudrición de corona. Los silicatos (SP 40°C y SS 40°C), redujeron la severidad de la PC, esto sugiere que existe una relación sinérgica entre los tratamientos térmicos y los silicatos; además, SS 40°C también fue capaz de reducir la incidencia en tratamiento preventivo. Estudios anteriores mencionan que el tratamiento con agua caliente induce resistencia tisular de la fruta que impacta en la reducción del crecimiento de patógenos (Mansour *et al.*, 2006; De Costa, Erabadupitiya, 2012; Dissanayake *et al.*, 2015).

Las sales CP y BS al calentarlas redujeron aún más la incidencia (91.6 y 83.3% de reducción de la PC, respectivamente) o severidad de la PC en comparación con los tratamientos individuales de solo agua caliente, y esto es consistente con el trabajo de Alwindia (2013b) quien mostró que el tratamiento térmico mejora las propiedades de las sales. Así mismo la reducción de la incidencia de la PC pasaron de 77.8 y 33.3% en los experimentos primarios curativos *in vivo* a 83.3 y 91.6% en los tratamientos aplicados en baños de BS y CP, respectivamente; lo que sugiere que la sal CP tiene el mejor potencial para ser evaluado en experimentos semi-comerciales o comerciales en el futuro cercano.

En el caso de los silicatos, el SP pasó de 59.5% de reducción de la severidad de la PC en experimentos primarios curativos *in vivo* a 77.4% en experimentos de baños, respectivamente. Por su parte el SS pasó de 0 y 78.57% de reducción de la incidencia y severidad de la PC en experimentos primarios preventivo *in vivo* a 66.70 y 95.2% en experimentos de baños, respectivamente. Estos incrementos de la efectividad en el control tanto de la incidencia como de la severidad de la PC, posiblemente se deba a que en los experimentos primarios *in vivo* el método de aplicación de los tratamientos sobre la corona fue con un atomizador manual, mientras que, en los experimentos de baños, los tratamientos se aplicaron a 40°C durante 20 min lo cual implica un mayor tiempo de exposición del hongo inoculado, además de la temperatura de baño (40°C) de las 4 sales evaluadas.

Al evaluar la actividad antifúngica de las sustancias de baja toxicidad combinado con dosis bajas de tiabendazol sobre la PC se encontró, dentro de los silicatos, que solo la combinación de SP más TBZ no sólo mejoraron la efectividad de la severidad, sino también controlaron o mejoraron la actividad sobre la incidencia de la enfermedad comparado con la efectividad de la sal aplicada sola.

Mientras que la combinación de SS más TBZ no mejoraron la efectividad tanto de la incidencia como de la severidad de la PC. Así mismo, la sal, BS, combinado con TBZ mejoraron el control tanto de la severidad como de la incidencia de la PC. Esto nos sugiere que existe un efecto de sinergia entre las dos sustancias que cuando se aplica solamente SP o BS incluso la combinación fue mucho más efectiva que la dosis comercial de TBZ (450 ppm) y fue similar a la dosis regional de TBZ (600 ppm). Mientras que la sal, CP, combinado con TBZ no incremento la efectividad en el control de la incidencia y severidad de la enfermedad. Por lo tanto, solo el BS y el SP pueden mezclarse con el TBZ, según este estudio, con el propósito de incrementar la efectividad sobre la PC, disminuir costos de control y evitar o retardar la aparición de cepas resistentes al TBZ.

Al determinar el efecto de las sustancias de baja toxicidad en la calidad del plátano. Las sales, SP, SS, CP y BS, no afectaron la calidad de frutos del banano. Estudios similares al nuestro reportan que las concentraciones de sólidos solubles y acidez titulable no se ven afectada por tratamientos térmicos (Kapila *et al.*, 2015; Prasetia *et al.*, 2018 y Vilaplana *et al.*, 2018), ni por tratamientos de silicato de potasio (Nikagolla *et al.*, 2019). La firmeza de fruto y de peso de fruto en cv. Gros Michel (Ummarat *et al.*, 2011) y *Musa acuminata* (Vilaplana *et al.*, 2018) no se afecta negativamente con tratamiento térmico de 40 °C. Por lo tanto, la apariencia del banano se puede mantener a través de tratamiento con agua caliente hasta 40 °C, según los presentes resultados, por lo que estos tratamientos pueden ser utilizados para estudios de la calidad sensorial.

## CONCLUSIÓN GENERAL

En experimentos *in vitro*, las cuatro sustancias GRAS inhiben el 100% del crecimiento micelial. El SP (200 mM), SS (110 mM) inhibieron el 97 y 84% la germinación de conidios, respectivamente, en tanto que el CP (150 mM) y el BS (250 mM) inhibieron el 100% la germinación de conidios. En experimentos primarios *in vivo*, el SP a 90 mM redujo 59.50% la severidad de PC, mientras que el tratamiento preventivo con SS a 130 mM la reduce hasta 78.57%.

Los silicatos tienen efecto nulo sobre la incidencia de pudrición de la corona. En experimentos primarios *in vivo*, el CP a 175 mM y el BS a 500 mM, en tratamientos curativos reducen 90.47 y 92.9% la severidad y 33.33 y 77.80%, la incidencia de PC, respectivamente. Las sustancias GRAS mejoran su efectividad en el control de la PC del banano con temperatura de baños a 40°C. El SP (90 mM) reduce la severidad en 77.40% en baños curativos, el SS (130 mM) reduce hasta 95.20% la severidad y 66.70% la incidencia en baños preventivo, el CP (175 mM), reduce 98.80% la severidad y 91.66% la incidencia en baños curativos.

El BS (500 mM) reduce 90.5% la severidad y 83.3% la incidencia en baños curativos. Sólo dos sustancias GRAS (SP y BS) de las cuatro combinadas con dosis bajas de tiabendazol (TBZ; 225 ppm) mejoraron o incrementaron la efectividad de control contra la PC, reduciendo tanto la incidencia como la severidad.

El SP (90 mM + TBZ 225 ppm) redujo 98.8% la severidad y 91.60% la incidencia de PC. y el bicarbonato de sodio (500 mM + TBZ 225 ppm) reducen el 100% la incidencia y la severidad de PC. Las cuatro sustancias GRAS, en tratamientos solo a temperatura ambiente o calentados (40° C) no alteran la calidad física y química del fruto del banano.

## LITERATURA CITADA

- Aceves-Navarro L.A., Juárez-López J.F., Palma-López D.J., López-López R., Rivera-Hernández B., Rincón Ramírez J.A., Morales-Colorado R., Hernández-Alvarado R. 2008. Estudio para determinar zonas de alta potencialidad del cultivo del plátano enano gigante (*Mussa spp.*) en el estado de Tabasco. Informe Técnico. N0. 48. Colegio De Postgraduados-Sagarpa-Inifap-Oeidrus.
- Aghdam, M.S., and., Bodbodak, S. 2014. Postharvest heat treatment for mitigation of chilling injury in fruits and vegetables. *Food Bioprocess Technol.*, 7(1): 37–53. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1207-4>
- Agrios, G.1996. Fitopatología 2da. Ed. México D.F. Limusa. 530p.
- Aguilar, A.R., G.R.R. Briggitt., B.J.A. Dulanto., B. Maldonado., and E.A. Duque. 2013. Hongos asociados a la pudrición de la corona en frutos de banana orgánico (*Musa spp.* L.) en Piura, Perú. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental.* 4(1): 81-88. <https://doi.org/10.22490/21456453.983>
- Akter, B., Talukder, N., Bari, L., and Rabeta, M.S. 2020. Evaluation of ripening period, shelf-life, and physiological properties of Sobri (*Musa cavendish*) and Sagor (*Musa oranta*) bananas triggered by ethephon and calcium carbide. *Food Res.*, 4(2): 407–412. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1207-4>
- Álvarez, J.M., Rosales, F.E. 2013. Guía para la identificación y caracterización de banano y plátano híbrido de la FHIA. Bioversity Internation. N0. Pag. 15. Disponible en [http://banana-networks.org/musalac/files/2013/01/guia\\_fhia\\_spa.pdf](http://banana-networks.org/musalac/files/2013/01/guia_fhia_spa.pdf).
- Álvarez-Hernández, M. H., Martínez-Hernández, G. B., Avalos-Belmontes, F., Miranda-Molina, F. D., and Artés-Hernández, F. 2020. Postharvest quality retention of apricots by using a novel sepiolite-loaded potassium permanganate ethylene scavenger. *Postharvest Biology and Technology.* [doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.111061](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.111061).
- Alvindia, D. G., Kobayashi, T., Natsuaki, K., and Tanda, S. 2004. Inhibitory influence of inorganic salts on banana postharvest pathogens and preliminary application to control crown rot. *J Gen Plant Pathol*, 70(1), 61-65. [doi: 10.1007/s10327-003-0084-5](https://doi.org/10.1007/s10327-003-0084-5).
- Alvindia, D.G. 2012. Revisiting hot water treatments in controlling crown rot of banana cv. Buñgulan. *Crop Protection* 33: 59-64. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.09.023>.
- Alvindia, D.G. 2013a. An integrated approach with hot water treatment and salt in the control of crown rot disease and preservation of quality in banana. *International Journal of Pest Management* 59(4):271-278. <http://dx.doi.org/10.1080/09670874.2013.845927>.

- Alvindia, D.G. 2013b. Sodium bicarbonate enhances efficacy of *Trichoderma harzianum* DGA01 in controlling crown rot of banana. J Gen Plant Pathol 79:136-144. <https://doi.org/10.1007/s10327-013-0432-z>.
- Alvindia, D.G. 2013c. Enhancing the bioefficacy of *Bacillus amyloliquefaciens* DGA14 with inorganic salts for the control of banana crown rot. Crop Protection 51. 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.03.013>.
- Alvindia, D.G., and Natsuaki, K.T. 2007. Control of crown rot-causing fungal pathogens of banana by inorganic salts and a surfactant. Crop Protection 26:1667-1673. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2007.02.008>.
- Alvindia, D.G., Kobayashi, T., Yaguchi, Y and Natsuaki, K.T. 2000. Symptoms and the associated fungi of post-harvest diseases on non-chemical bananas imported from the Philippines. Jpn. J. Trop. Agric., 44, 87-93.
- Alvindia, D.G., Kobayashi, T., Yaguchi, Y., and Natsuaki, K.T. 2002. Pathogenicity of fungi isolated from non-chemical bananas. Jpn. J. Trop. Agric. 44, 215e223.
- Amiri, A and Bompeix, G. 2005. Diversity and population dynamics of *Penicillium spp.* On apples in pre- and postharvest environments: consequences for decay development. Plant Pathol. 54, 74-81. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01112.x>
- AOAC international. 2005. AOAC Official Method 942.15. Acidity (Titratable) of Fruit Products. Official method of Analysis, ed. 18, 37, 10.
- Askarne, L., Boubaker, H., Boudyach, E.H., Aoumar, A.A.B. 2013. Use of food additives to control postharvest citrus blue mold disease. Atlas Journal of Biology 2(2): 147-153. <http://dx.doi.org/10.5147/ajb.2013.0128>.
- Barbosa-Canovas, G.V., Fernandez-Molina, J.J., Alzamora, S.M., Tapia, M.S., López-Malo, A., and Chanes, J.W. 2003. (eds). Handling and Preservation of Fruits and Vegetables by Combined Methods for Rural Areas. Technical Manual, Rome, Italy, FAO Agricultural Services Bulletin. pp. 149.
- Basel, R.M., Racicot, K., and Senecal, A.G. 2002. Long Shelf Life Banana Storage Using MAP Storage Coupled with Postharvest MCP Treatment, Annual Meeting and Food Expo Anaheim, California, 76C-26
- Bekker, T.F., Kaiser C., Merwe R.V.D., & Labuschagne N. 2006. In-vitro inhibition of mycelial growth of several phytopathogenic fungi by soluble potassium silicate. S. Afr. J. Plant Soil, 23(3): 169-172. <https://doi.org/10.1080/02571862.2006.10634750>.
- Bhadoria, P., Nagar, M., Bahrioke, V., and Bhadoria, A.S. 2015. Effect of ethephon on the liver in albino rats: A histomorphometric study. Biomed. J., 38(5): 421–427. doi: 10.4103/2319-4170.155589.



- Bi, Y., Tian, S. P., Guo, Y. R., Ge, Y. H., and Qin, G. Z. 2006. Sodium silicates reduces postharvest decay on Hami melons: Induced resistance and fungistatic effects. *Plant Disease*, 90(3): 279–283. <http://doi.org/10.1094/PD-90-0279>.
- Buonaurio, R., Iriti, M., Romanazzi, G 2009. Induced resistance to plant diseases caused by oomycetes and fungi. *Petria* 19,130-148.
- Cai, K, Gao, D, Chen, J, Luo, S. 2009. Probing the mechanisms of silicon-mediated pathogen resistance. *Plant Signal Behav.* 4(1):1-3. [doi: 10.4161/psb.4.1.7280](https://doi.org/10.4161/psb.4.1.7280). [PMID: 19568332](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19568332/); [PMCID: PMC2634059](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC2634059/).
- Céspedes, C.M 2004. Calidad de frutasen bananos de exportación: algunas implicaciones de manejo. Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IDIAF). Santo Domingo, DO. Primera edición. 62 p.
- Cocco, M., Vázquez, D.E., Albors, A., Cháfer, M., Meier, G.E., Bello, F. 2008. Combinación de tratamientos térmicos y bicarbonato de sodio para el control de *Penicillium digitatum* en frutos cítricos. *Rev. Iberoam. Tecnol. Postcos.* 9, 55–62, <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=81311226008>.
- Corbo, M.R., Altieri, D., Dcamato, D., Campaniello, D., Del Nobile, M.A., and Sinigaglia, M. 2004. Effect of temperature on shelf life and microbial population of lightly processed cactus pear fruit. *PostharvestBiol Tech.* 31:93-104.
- Cox, M.L. and Irwin, J.A.G. 1988. Conidium and apressorium variation in Australian isolates of the *Colletotrichum gloeosporioides* group and closely related species. *Australian Systematic Botany* 1:139-144. <https://doi.org/10.1071/SB9880139>
- Chi, K.J and Anh, V.T.T. 2019. Effect of apple cider vinegar, baking soda and salt on growth of *Colletotrichum musae* and development of anthracnose disease on banana fruits. *Int. J. Postharvest Technology and Innovation* 6(4): 239-256. <http://dx.doi.org/10.1504/IJPTI.2019.10028128>.
- Chillet, M., Jannoyer, M. 1996. Selección de bolsas para optimizar las condiciones de crecimiento del banano. *InfoMusa* 5(1):25-27.
- D' Aquino, S., Fadda, A., Barberis, A., Palma, A., Angioni, A., Schirra, M. 2013a. Combined effects of potassium sorbate, hot water and thiabendazole against green mould of citrus fruit and residue levels. *Food Chemistry*.141(2):858-864. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.083>.
- D'Aquino, S., Palma, A., Angioni, A., Schirra, M. 2013b. Residue levels and efficacy of fludioxonil and thiabendazole in controlling postharvest green mold decay in citrus fruit when applied in combination with sodium bicarbonate. *J. Agric. Food Chem.* 61, 296–306. <https://doi.org/10.1021/jf304081z>
- Dadzie, B. K 1997. Evaluación rutinaria postcosecha de híbridos de bananos y plátanos: criterios y métodos. INIBAP, s.d. 63 p.

- Datnoff, L. E., and Heckman., J. R. 2014. Silicon fertilizers for plant disease protection. In Proc. of the 16th World Fertilizer Congress of CIECRIO. De Janeiro-RJ, Brazil, 20–24 October, pp. 37–38.
- Datnoff, L.E., Seebold, K.W and Correa V.F.J. 2001. The use of silicon for integrated disease management: reducing fungicide applications and enhancing host plant resistance. In: Datnoff LE, Snyder GH, Korndorfer GH (eds) Silicon in Agriculture. Elsevier Science BV, Netherlands, pp. 171-183
- De Costa, D.M., and Erabadupitiya, H.R.U.T. 2005. An integrated method to control postharvest diseases of banana using a member of the Burkholderia cepacia complex. Postharvest Biology and Technology. 36, 31-39. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.11.007>
- De Costa, D.M., and Gunawardhana, H.M.D.M. 2012. Effects of sodium bicarbonate on pathogenicity of *Colletotrichum musae* and potential for controlling postharvest diseases of banana'. Postharvest Biology and Technology 68:54-63. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.02.002>
- Deliopoulos, T., Kettlewell, P.S., and Hare, M.C. 2010. Fungal disease suppression by inorganic salts: a review. Crop Prot 29, 1059–1075. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.05.011>
- Dissanayake, P. K., Disssanayak, M. L. M. C and Wijesekara, W.M.A.U.M. 2015. Effect of hot water treatment on postharvest life of Seeni Kesel Banana (*Musa* spp. cv. Seeni Kesel-Pisang Awak, ABB). J. Agric. Ecol. Res. Int, 2(4), 209-218. doi: 10.9734/JAERI/2015/14011.
- Downing, K.H. 2000. Structural basis for the action of drugs that affect microtubule dynamics. Emerg. Ther. Targets. 4: 219-237. <https://doi.org/10.1517/14728222.4.2.219>
- Edson A.P., Adélia-Aziz A.P and Deila-Magna D.S.B. 2015. Silicon in plant disease control. Revisao de literature. Rev. Ceres Vicosa. 62:323-331.
- El-Mohamedy, R.S.R, Abdel-Kader, M.M, Abd-El-Kareem, F, El-Mougy, N.S. 2013. Essential oils, inorganic acids and potassium salts as control measures against the growth of tomato root rot pathogens *in vitro*. Journal of Agricultural Technology 9(6):1507-1520.
- El-Mougy, N.S., El-Gamal, N.G., and Abd-El-Kareem, F. 2008. Use of organic acids and salts to control postharvest diseases of lemon fruits in Egypt. Archiv Phytopathol Plant Prot 41, 467–476.
- Fadda, A., Barberis, A., D´Aquino, S., Palma, A., Angioni, A., Lai, F., Schirra, M. 2005. Residue levels and performance of potassium sorbate and thiabendazole and their co-application againsts blue moldo f apples whwn applied as wáter dip treatments at 20 or 53°C. Postharvests Biology and Technology, 106, 33-43. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.04.003>

- Fadiji, T., Coetzee, C., Chen, L., Chukwu, O., and Opara, U.L. 2016. Susceptibility of apples to bruising inside ventilated corrugated paperboard packages during simulated transport damage. *Postharvest Biol. Technol.*, 118: 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.04.001>
- Fallik, E. 2004. Prestorage hot water treatments (immersion, rinsing and brushing). *Postharvest Biology and Technology*, 32, 125-134. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.10.005>
- Fatemi, S., Jafarpour, M., and Borji, H. 2011. Postharvest application of heat treatments and thibendazole, sodium bicarbonate fungicides on decay control and characteristics quality and quantity in the “Valencia” orange. *African Journal of Agricultural Research* 6:2420–2424.
- Fauteux, F., Rémus-Borel, W., Menzies, J., and Belanger. 2005. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. *FEMS Microbiology Letters*, 249: 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.06.034>
- Fernando, I., Fei, J., Stanley, R., Enshaei, H., and Eyles, A. 2019. Quality deterioration of bananas in the post-harvest supply chain –an empirical study. *Mod. Supply Chain Res. Appl.*, 1(2): 135–154. <https://doi.org/10.1108/MS CRA-05-2019-0012>.
- Finlay, A.R., and Brown, E.A. 1993. The relative importance of *Colletotrichum musae* as a crown rot pathogen on Windward Island bananas. *Plant Pathol.* 40, 568e575. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1993.tb01471.x>
- Flores-López, H.E., Chávez-Durán A.A., Ruíz-Corral J.A., Mora-Orozco C., Ramírez-Ojeda G., y Martínez-Díaz T. E. 2014. Análisis de la cadena agroalimentaria del plátano (*Musa paradisiaca*) en Colima, con énfasis en el sistema de producción y potencial productivo. Libro Técnico Núm. 02. Campo Experimental Centro-Altos de Jalisco, México. 151 p.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2020. FAOSTAT statistics database 2019. 16 enero. 2023. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- Francesco, A.D., Mari, M., Roberti, R. 2018. Defense response against postharvest pathogens in hot water treated apple. *Scientia Horticulturae* 227:181-186. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.09.039>
- Garrido-Ramírez E. R., Hernández-Gómez E. y Noriega-Cantú D. H. 2011. Manual de producción de banano para la región del Soconusco. Estrategias para el Manejo de la Sigatoka Negra. Folleto Para Productores N° 10. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Pacífico Sur. Campo Experimental Centro de Chiapas, Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas, México. 35 p.
- Gatto, M.A, Ippolito, A., Linsalata, V., Cascarano, N. A., Nigr, F., Vanadia, S., and Venere, D.D. 2011. Activity of extracts from wild edible herbs against postharvest fungal

- diseases of fruits and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 61(1), 72-82. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.02.00510>
- Ge, Y., Chen, Y., Li, C., Wei, M., Lv, J and Meng, K. 2017. Inhibitory effects of sodium silicate on the fungal growth and secretion of cell wall- degrading enzymes by *Trichothecium roseum*. *Journal of Phytopathology*, 165 (9): 620-625 <http://doi.org/10.1111/jph.12600>.
- González, M. 1987. Enfermedades del cultivo de banano. San José (C.R) Programa de Educación Agrícola de la Universidad de Costa Rica 102 p.
- Gruda, N. 2005. Impact of environmental factors on product quality of greenhouse vegetables for fresh consumption. *Crit Rev Plant Sci.* 24:227-247. <https://doi.org/10.1080/07352680591008628>
- Gunasinghe, R.N., Ikiriwatte, C.J., and Karunaratne, A.M. 2004. The use of *Pantoea agglomerans* and *Flavobacterium sp.* to control banana pathogens. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 79:1002-1006. <https://doi.org/10.1080/14620316.2004.11511852>
- Gunasinghe, W. K. R., and Karunaratne, A.M. 2009. Interactions of *Colletotrichum musae* and *Lasiodiplodia theobromae* and their biocontrol by *Pantoea agglomerans* and *Flavobacterium sp.* in expression of crown rot of “Embul” banana. *Bio Control.* 54,587-596. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9210-4>
- Guo, Y., Liu, L., Zhao, J., and Bi, Y. 2007. Use of silicon oxide and sodium silicate for controlling *Trichothecium roseum* postharvest rot in Chinese cantaloupe (*Cucumis melo* L.). *International Journal of Food Science and Technology.* 42: 1012-1018.
- Guynot, M.E., Ramos, A.J., Sanchis, V, and Marín, S. 2005. Study of benzoate, propionate, and sorbate salts as mould spoilage inhibitors on intermediate moisture bakery products of low pH (4,5-5,5). *International Journal of Food Microbiology.* 101,161-168. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.11.003>
- Hailu, M., Workneh, T.S., and Belew, D. 2013. Review on postharvest technology of banana fruit. *African Journal of Biotechnology* 12: 635–647. <https://doi.org/10.5897/AJBX12.020>
- Hirata, T., Kimishima, E., Aoki, T., Nirenberg, H.I., and O'Donnell, K. 2001. Morphological and molecular characterization of *Fusarium verticillioides* from rotten banana imported into Japan. *Mycoscience* 42, 155e166.
- Holscher, D.S., Dhakshinamoorthy T., Alexandrov M., Becker T., Bretschneider A., Buerkert A.C., Crecelius D., Waele A., Elsen D.G., Heckel H., Hertweck C., Kai M., Knop K., Krafft. C., Maddula R.K., Matthaus C., Popp J., Schneider B., Schubert U. S., Sikora R., Svato A., and Swennen, R.L. 2014. Phenalenone-type phytoalexins mediate resistance of banana plants (*Musa* spp.) to the burrowing nematode *Radopholus similis*, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111: 105-110.

- Hostachy, B., Vegh, I., Leroux P., Jacquemot, E., Foucher S., and Pigou, R. 1990. Bananes de la Martinique. Incidence des problèmes fongiques sur la qualité. *Phytoma*. 37-44.
- Huang, H., Jian, Q., Jiang. Y., Duan, X., and Qu, H. 2016. Enhanced chilling tolerance of banana fruit treated with malic acid prior to low-temperature storage. *Postharvest Biol. Technol.*, 111: 209–213.
- Idris, M.F., Ibrahim, M.A., Forsido, F.S. 2015. Essential oils to control *Colletotrichum musae* in vitro and in vivo on banana fruits. *Am-Eur. J. Agric. Environ. Sci.* 15(3):291-302.
- lilić, Z.S., Fallik E., Manojlović, M., Kevrešan, Z and Mastilović, J. 2018. Postharvest Practices for Organically Grown Products. *The Serbian Journal of Agricultural Sciences ISSN (Online) 2466-4774 UDC: 63(497.1) (051)- "540.2". DOI: 10.2478/contagri-2018-0011.*
- Jaramillo, R. 1982. Las principales características morfológicas del fruto de banano, variedad Cavendish Gigante (Musa AAA) en Costa Rica. *Unión de Países Exportadores de Banano. Panamá.*
- Jeandet, P., Adrian, M., Breuil, A.C., Sbaghi, M., Debord, S., Bessis, R., Weston, L.A., Harmon, R. 2000. Chemical induction of phytoalexin synthesis in grapevines: application to the control of grey mould in the vineyard. *Acta Horti* 528:591-596. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2000.528.88>.
- Jhon, V. D. 2015. Diseño y presupuesto de un sistema de transporte, un cable de apoyo y una empacadora para 10ha de plátano. Zamorano – Honduras.
- Jimenez, M., Logrieco, A., and Bottalico, A. 1993. Occurrence and pathogenicity of *Fusarium species* in banana fruits. *J. Phytopathol.* 137, 214-220. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1993.tb01341.x>
- Jinasena, D., Pathirathna P., Wickramarachchi, S and Marasinghe, E. 2011. Use of chitosan to control anthracnose on “Embul” banana. In *International Conference on Asia Agriculture and Animal, IPCBEE (Vol. 13, pp. 56-60).*
- Jinasena, D., Pathirathna, P., Wickramarachchi, S., and Marasinghe, E. 2011. Use of chitosan to control anthracnose on “Embul” banana. In *International Conference on Asia Agriculture and Animal, IPCBEE (Vol. 13, pp. 56-60).*
- Johanson, A and Blasquez, B. 1992. Fungi associated with banana crown-rot on field-packed fruit from the Windward Islands and assessment of their sensitivity to the fungicides thiabendazole, prochloraz, and imazalil. *Crop Protection.* 11:79-83. [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(92\)90084-l](https://doi.org/10.1016/0261-2194(92)90084-l)
- Jones, D.R. (ed.) 2000. *Diseases of Banana, Abacá and Enset.* CABI Publishing. Wallingford, Oxon, UK. 544p.

- Kamel, M.A., Cortesi, P., Saracchi, M. 2016. Etiological agents of crown rot of organic bananas in Dominican Republic. *Postharvest Biol and Tech.*120:112-20.
- Kapila, D.P., Chandrika, D. M. L. M and Wijesekara, W.M.A.U.M. 2015. Effect of hot water treatments on postharvest life of seeni kesel banana (*Musa spp.*cv. Seeni Kesel-Pisang Awak, ABB). *Journal of Agriculture and Ecology Research International.* 2(4): 209-218.
- Kesari, R., Trivedi, P and Nath, P. 2007. Ethylene-induced ripening in banana evokes expression of defense and stress related genes in fruit tissue. *Postharvest Biology and Technology.* 46, 136-143. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.04.010>
- Khan, S.H, Aked, J., Magan, N. 2001. Control of the anthracnose pathogen of banana (*Colletotrichum musae*) using antioxidants alone and in combination with thiabendazole or imazalil. *Plant Pathology* 50: 601-608. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2001.00599.x>.
- Knee, M. 2008. Bases biológicas de la calidad de la fruta. Zaragoza, España: Acribia. do.pdf.
- Krauss, U and Johanson, A. 2000. Recent advances in the control of crown rot of banana in the Windward Islands. *Crop Prot.* 19: 151-160. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(99\)00097-6](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(99)00097-6).
- Krauss, U., Matthews, P., Bidwell, R., Hocart M., and Anthony, F. 2001. Strain discrimination by fungal antagonists of *Colletotrichum musae*: implications for biocontrol of crown rot of banana. *Mycological Research.* 105, 67-76. <https://doi.org/10.1017/S095375620000318X>
- Kulkarni, S.A., Sellamuthu, P.S., Anitha, D.P.M., Madhavan, T 2021. *In vitro* and in silico evaluation of antifungal activity of cassia (*Cinnamomum cassia*) and holy basil (*Ocimum tenuiflorum*) essential oils for the control of anthracnose and crown-rot postharvest diseases of banana fruits. *Chemical. Papers.* 75:2043-2057. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01434-5>
- Kyu, K. W. N., P. Jitareerat., S. Kanlayanarat., and S. Sangchote. 2007. Effects of cinnamon extract, chitosan coating, hot water treatment and their combinations on crown rot disease and quality of banana fruit. *Postharvest Biology and Technology.* 45, 333-340. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.01.020>.
- Lassois, L and Bellayre, L.L. 2014. Crown rot disease of bananas. In *Postharvest Decay. Control Strategies*, S. Bautista-Baños, ed. (California, U.S.A: Academic Press), p. 103–130. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411552-1.00003-X>
- Lassois, L, Bellaire, L., Jijakli, M.H. 2008. Biological control of crown rot of bananas with *Pichia anomala* strain K and *Candida oleophila* strain O, *Biological Control* 45; 410-418. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.013>.



- Lassois, L., Bastianse, H., Chillet, M., Jullien, A., Jijakli, M.H., de Lapeyre de Bellaire, L. 2010. Hand position on the bunch and source-sink ratio influence the banana fruit susceptibility to crown rot disease. *Ann. Appl. Biol.*, 156(2), 221- 229. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2009.00381.x>
- Lassois, L., Frettinger, P., de Lapeyre de Bellaire, L., Lepoivre, P., Jijakli, H. 2011. Identification of genes involved in the response of banana to crown rot disease. *Mol Plant Microbe Interact.* 24(1):143-53. [https://doi: 10.1094/MPMI-01-10-0020](https://doi:10.1094/MPMI-01-10-0020). PMID: 20854111.
- Latunde-Dada, O.A 2001. *Colletotrichum*; tales of forcible entry, stealth, transient confinements and breakout. *Mol Plant Pathol.* 2,187-198. <https://doi.org/10.1046/j.1464-6722.2001.00069.x>
- León, L and Mejía, L. 2002. Determinación del tiempo de crecimiento para cosecha y comportamiento fisiológico postcosecha del banano variedad "Gross Michael". Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales, Manizales.
- Li, Y.C., Bi, Y., Ge, Y.H., Sun, X.J and Wang, Y. 2009. Antifungal activity of sodium silicate on *Fusarium sulphureum* and its effect on dry rot of potato tubers. *J. Food Sci.*, 74(5): 213-217. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01154.x>
- Liu, J., Zong, Y.Y., Qin, G.Z., Li, B.Q., & Tian, S.P. 2010. Plasma membrane damage contributes to antifungal activity of silicon against *Penicillium digitatum*. *Current Microbiol.* 61:274-279. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9607-4>
- Lobo, M. G and Montero-Calderón, M. 2020. Harvesting and Postharvest Technology of Banana. *Handbook of Banana Production, Postharvest Science, Processing Technology, and Nutrition*, 61-80. <https://doi.org/10.1002/9781119528265.ch4>
- Maduwanthi, S.D.T., and Marapana, R.A.U.J. 2019. Induced ripening agents and their effect on fruit quality of banana. *Int. J. Food Sci.*, 2019: 2520179. <https://doi.org/10.1155/2019/2520179>
- Mansour, F.S., Abd-El-Aziz S, A and Helal, G.A. 2006. Effect of fruit heat treatment in three mango varieties on incidence of postharvest fungal disease. *J. Plant Pathol.* 88: 141-148.
- Maqbool, M., Ali A., Ramachandran, S., Smith, D.R, Alderson, P.G. 2010. Control of postharvest anthracnose of banana using a new edible composite coating. *Crop Protection* 29(10): 1136-1141. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.06.005>.
- Mari, M., Bertolini, P., Pratella, G.C. 2003. Non-conventional methods for the control of post-harvest pear diseases. *J Appl Microbiol.*94(5):761-6. [https://doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.01920.x](https://doi:10.1046/j.1365-2672.2003.01920.x). PMID: 12694440.
- Martínez, G., O. Tremont., and J. Hernández. 2004. Manual técnico para la propagación de *Musáceas*. *Revista CENIAP HOY* 4.

- Menezes, M. 2004. Características fisiomorfológicas de aislados de *Colletotrichum musae* Fitopatología Brasileña 412 p. Disponible en <http://www.postharvest.ucdavis.edu/produce/Facts/español/platano.pdf>.
- Millán L y Ciro H. 2012. Caracterización mecánica y físico-química del banano tipo exportación (*Cavendish valery*). Corporación Universitaria Lasallista.
- Mirshekari, A., Ding, P., Kadir, J., and Ghazali, H. M. 2012. Effect of hot water dip treatment on postharvest anthracnose of banana var. Berangan. Afr. J. Agric. Res. 7(1): 6-10. <https://doi.org/10.5897/AJAR11.056>
- Mohamed, A.M.K., Cortesi, P., Saracchi, M. 2016. Etiological agents of crown rot of organic bananas in Dominican Republic. Postharvest Biology and Technology.120, 112-120. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.06.002>.
- Montero, E.H. 1998. Paquete de capacitación en manejo pos-cosecha y comercialización del plátano. Servicio Nacional de Aprendizaje de Colombia (SENA). Departamento para el Desarrollo Internacional (Department for International Development - DFID). Instituto de Recursos Naturales (Natural Resources Institute - NRI) de la Universidad de Greenwich del Reino Unido. 363p.
- Moraes, W., Zambolim, L., Lima, J.R., Do Vale, F., Salomao, L. 2006. Termoterapia e Quimioterapia de Banana 'Prata-Ana' Asociadas à Temperatura de Armazenamiento no Controle de Podridões em Pós- Colheita. Fitopatol. Bras. 31(1).
- Moscoso-Ramírez P.A., and Palou L. 2014a. Preventive and curative activity of postharvest potassium silicate treatments to control green and blue molds on orange fruit. Eur J Plant Pathol, 138:721-732. <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0345-x>
- Moscoso-Ramírez, P and Palou, L. 2014b. Control de las podredumbres verde y azul en naranjas mediante tratamientos de poscosecha con silicato potásico. Levante Agrícola: Revista internacional de cítricos, 422, 179-184.
- Muirhead, I.F and Jones, D.R. 2000. Fungal diseases of banana fruit. Post-harvest diseases. In: Jones D.R., ed. Diseases of banana, abaca and ensete. Wallingford, UK: CABI
- Nelson, S.C. 2008. Mango anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). Honolulu (HI): University of Hawaii. 9 p. (Plant Disease; PD-48). <http://hdl.handle.net/10125/12410>
- Nikagolla, N.G.D.N., Ganehenege, M.Y and Daundasekera, W.A.M. 2021. Direct inhibitory effect and enhanced antifungal activity of postharvest soluble silica treatment against anthracnose and crown rot pathogens in banana. Ceylon Journal of Science 50 (Special Issue): 415-419. <http://doi.org/10.4038/cjs.v50i5.7931>



- Nikagolla, N.G.D.N., Udugala-Ganehenege, M.Y., Daundasekera, W.A.M. 2019. Postharvest application of potassium silicate improves keeping quality of banana[J]. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 94(6): 735-743. <https://doi.org/10.1080/14620316.2019.1614486>
- Niu, L., Bi, Y., Bai, X., Zhang, S., Xue, H., Li, Y. and Calderón-Urrea, A. 2016. Damage to *Trichothecium roseum* caused by sodium silicate is independent from pH. *Canadian Journal of Microbiology*, 62 (2): 1–12. <https://doi.org/10.1139/cjm-2015-0657>
- Orlando, G.; Zengin G.; Ferrante, C.; Ronci, M.; Recinella, L.; Senkardes, I.; Gevrenova, R.; Zheleva, D. D.; Chiavaroli, A.; Leone, S.; Di S. S.; Brunetti, L.; Picot, A. C.; Mahomoodally, M. F.; Sinan, K. I and Menghini, L. 2019. Comprehensive chemical profiling and multidirectional biological investigation of two wild anthemis species (*Anthemis tinctoria* var. *Pallida* and *A. cretica* subsp. *tenuiloba*): focus on neuroprotective effects. *Molecules*. 24(14):2582-2607.
- Osorio, O., R.J. Cibrián., T.E. De la Cruz., and G.S. Ramírez. 2007. Uso de atrayentes para la captura masiva del picudo del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar). Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, Tabasco, México. 16 p.
- Palou, L, Pérez-Gago, B. 2021. GRAS Salts as Alternative Low-Toxicity Chemicals for Postharvest Preservation of Fresh Horticultural Products. In: Spadaro, D., Droby, S., Gullino, M.L. (eds) *Postharvest Pathology. Plant Pathology in the 21st Century*, vol 11. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-56530-5\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-030-56530-5_11)
- Palou, L. 2018. Postharvest treatments with GRAS salts to control fresh fruit decay. *Horticulturae* 4(46):1-15. <https://doi.org/10.3390/horticulturae4040046>
- Palou, L., Smilanick, J. L., Usall, J and Viñas, I. 2001. Control of postharvest blue and green molds of oranges by hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate. *Plant Disease*, 85(4), 371-376. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.4.371>
- Pavanello, EP., Brackmann, A., Da Costa, DIF., Both, V., Ludwi, V. 2016. Use of sodium metasilicate for management of peach brown rot. *Agropec. Trop.*, Goiânia, v. 46, n. 3, p. 245-253. <https://doi.org/10.1590/1983-40632016v4641221>
- Perera, O., and Karunaratne, A. M. 2002. Postharvest calcium chloride treatments do not help to increase shelf-life of bananas. *Fruits*. 57:87-94. <https://doi.org/10.1051/fruits:2002008>
- Perera, O., and Karunaratne, A.M. 2001. Response of bananas to postharvest acid treatments. *J Horticult Sci Biotechnol*. 76:70-76. <https://doi.org/10.1080/14620316.2001.11511329>
- Perés, N.A.R., de Souza, N.L., Peever, TL., Timmer, L.W. 2004. Benomyl sensitivity of isolates of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* from citrus. *Plant Dis* 88:125-130. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.2.125>.

- Prasetia, H.A., Panjaitan, L., Salbiah, W and Setiabudi, D.A. 2018. The role of hot water treatment and chitosan coating in controlling a latent infection of *Colletotrichum musae* on banana var. Mas kirana. *Asian J Agri & Biol.*6(4):576-586.
- Qiao, Y., Xu, L, Xu, G., Cao, Y., Gao, Y., Wang, Y., Feng, J. 2022. Efficacy and potential mechanism of hinokitiol against postharvest anthracnose of banana caused by *Colletotrichum musae*, 161: 113334. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113334>.
- Ranasinghe, L.S., Bimali, J., and Krishanthi, A. 2003. Use of waste generated from cinnamon bark oil (*Cinnamomun zeylanicum*) extraction as a post Harvest treatment for Embul banana. *Journl of Food, Agriculture and Environment* 1(2): 340-344.
- Rayón-Díaz, E., Birke-Biewendt, A. B., Velázquez-Estrada, R. M., González-Estrada, R. R., Ramírez-Vázquez, M., Rosas-Saito, G. H., Gutiérrez-Martínez, P. 2021. Sodium silicate and chitosan: an alternative for the in vitro control of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from papaya (*Carica papaya* L.). *Revista Bio Ciencias* 8, e1059. doi: <https://doi.org/10.15741/revbio.08.e1059>
- Riofrio, J. 2003. Manejo post cosecha del Banano y Plátano, Tomo III Guayaquil Ecuador.
- Rizwana H. 2018. Postharvest control of anthracnose lesions and its causative agent, *Colletotrichum musae* by some oils. *Cell Mol Biol.* 64(4): 52-58. Doi: <http://dx.doi.org/10.14715/cmb/2018.64.4.9>.
- Robinson, J.C. 1996. Bananas and Plantains. CAB International, Wallingford, WK. 238 p.
- Robinson, J.C., and Galán-Sauco, V. 2010. Bananas and plantains. Institute for Tropical and Subtropical Crops, South Africa. CAB International. 2nd ed. Wallingford, UK.
- Sai, G.J., and Pongener, N. 2022. Management of blue mould of mandarin. *The Pharma Innovation Journal* 11:589-594. [www.ThePharmaJournal.com](http://www.ThePharmaJournal.com).
- Saltveit, M.E. 1999. Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.*, 15(3): 279–292. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(98\)00091-X](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00091-X)
- Schirra, M., D’Aquino, S., Palma, A., Angioni, A and Cabras, P. 2008. Factors Affecting the Synergy of Thiabendazole, Sodium Bicarbonate, and Heat To Control Postharvest Green Mold of Citrus Fruit. *J. Agric. Food Chem.* 2008, 56, 22,: 10793–10798. <https://doi.org/10.1021/jf802295m>.
- Schirra, M., D’hallewin, G., Ben-Yehoshua, S and Fallik, E. 2000. Host-pathogen interactions modulated by heat treatment. *Postharvest Biol. Technol.* 21:71-85. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00166-6](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00166-6)
- Schulze, K., and Schönherr, J. 2003. *Calcium hydroxide*, potassium carbonate and alkyl polyglycosides prevent spore germination and kill germ tubes of apple scab (*Venturia inaequalis*). *Z. Pflanzenk. Pflanzen. J. Plant Dis. Protect* 110: 36-45.

- Shen, G.-H., Xue, Q.H., Tang, M., Chen, Q., Wang, L.-N., Duan, C.-M., Xue, L., and Zhao, J. 2010. Inhibitory effects of potassium silicate on five soil-borne phytopathogenic fungi in vitro. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 117(4): 180-184.
- SIAP- SADER. 2019. Atlas agroalimentario. Panorama Agroalimentario. Pag.129-130. [www.gob.mx/siap](http://www.gob.mx/siap).
- Sinha, A., and Bawa, K.S. 2002. Harvesting techniques, hemiparasites and fruit production in two non-timber forest tree species in south India. *Forest Ecol Manag.* 168:289-300.
- Smilanick, J.L., Margosan, D.A., Mlikota, F., Usall, J. and Michael, I.F. 1999. Control of citrus green mold by carbonate and bicarbonate salts and the influence of commercial postharvest practices on their efficacy. *Plant Dis* 83, 139–145. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.2.139>
- Soto, M. 1992. Cosecha y empaque de la fruta. En: M. Soto, editor, *Bananos: cultivo y comercialización*. 2nd ed. Litografía e Imprenta LIL S.A., San José, Costa Rica. p. 367-438.
- Soto, M. 2008. *Bananos: Técnicas de Producción, Manejo Poscosecha y Comercialización*. Tercera Edición. San José, Costa Rica. Litografía e Imprenta LIL. 1 disco compacto, 8mm. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_nlinks&ref=000147&pid=S0304-847200500020001200016&lng](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000147&pid=S0304-847200500020001200016&lng).
- Stow, J.R., Jameson, J., and Senner, K. 2004. Storage of cherries: the effects of rate of cooling, store atmosphere and store temperature on storage and shelf-life. *J Hort Sci Biotech.* 79:941-946. <https://doi.org/10.1080/14620316.2004.11511870>
- Tarabih, M. E.; El-Eryan, E. E., and El-Metwally, M. A. 2014. Physiological and pathological impacts of potassium silicate on storability of Anna apple fruits. *American Journal of Plant Physiology*; 9 (2):52-67.
- Tava, V., Prigitano, A., Cortesi, P., Esposto, M.C., Pasquali, M. 2021. *Fusarium musae* from diseased bananas and Human patients: Susceptibility to fungicides used in clinical and agricultural settings. *Journal of fungi* 7, 784:1-13. <https://doi.org/10.3390/jof7090784>.
- Thompson, A.K., and Seymour, G.B. 1982. Comparative effects of acetylene and ethylene gas on initiation of banana ripening. *Ann. Appl. Biol.*, 101(2): 407–410. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1982.tb00837.x>
- Torres, R., Nunes, C., García, J.M., Abadías, M., Viñas, I., Manso, T., Olmo, M. and Usall, J. 2007. 'Application of *Pantoea agglomerans* CPA-2 in combination with heated sodium bicarbonate solutions to control the major postharvest disease affecting citrus fruit at several Mediterranean locations', *European Journal of Plant Pathology*, Vol. 118, No. 1, pp.73–83.

- Torres, S. 2012. Guía práctica para el manejo de banano orgánico en el valle del Chira. Primera edición. 72p.
- Torres-Calzada, C., Tapia-Tussell, R., Higuera-Ciapara, I., Martin-Mex, R., Nexticapan-Garcez, A., and Perez-Brito, D. 2015. Sensitivity of *Colletotrichum truncatum* to Four Fungicides and Characterization of Thiabendazole-Resistant Isolates. Plant disease. 99(1): 1590-1595. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-14-1183-RE>
- Umana-Rojas, G.; García Jiménez, J. 2011a. Frequency of Organisms Associated with Crown Rot of Bananas in Integrated and Organic Production Systems. Acta Horticulturae. 906:211-217. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.906.27>
- Ummarat, N., Matsumoto, T.K., Wall, M.M., Seraypheap, K. 2011b. Changes in antioxidants and fruit quality in hot water-treated 'Hom Thong' banana fruit during storage. Horticulture (Amst.) 130(4):801-807. <https://doi.org/doi.10.1016/j.scienta.2011.09.006>.
- Van Bockhaven, J., Vleesschauwer, D.D and Hofte. 2013. Towards establishing broad-spectrum disease resistance in plants: silicon leads the way. Journal of Experimental Botany, 64: 1281–1293. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers329>
- Vidal-Vergara A., Moscoso-Ramírez P., García-De la Cruz R., Landero-Valenzuela N. 2022. Antifungal Effect of Silicon against Anthracnose on Fruit in Papaya Maradol. Silicon 1-12. <https://doi.org/10.1007/s12633-021-01588-1>.
- Vilaplana, R, Hurtado, G, Valencia-Chamorro, S. 2018a. Hot water dips elicit disease resistance against anthracnose caused by *Colletotrichum musae* in organic bananas (*Musa acuminata*). LWT 95: 247-254. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.085>.
- Vilaplana, R, Pazmiño, L, Valencia-Chamorro, S. 2018b. Control of anthracnose, caused by *Colletotrichum musae*, on postharvest organic banana by thyme oil. Postharvest Biol. Technol. 138:56-63. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.12.008>
- Wang, Y., Bi, Y., Li, YC, Yin, Y. y Ge, Y.H. 2010. Actividad antifúngica del silicato de sodio sobre *trichothecium roseum* in vitro. Acta Hortica. 877, 1683-1690 DOI: 10.17660/ActaHortic.2010.877.231 <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.877.231>
- Wang, Z., Pu, H., Shan, S., Zhang, P., Li, J., Song, H., and Xu, X. 2021. Melatonin enhanced chilling tolerance and alleviated peel browning of banana fruit under low temperature storage. Postharvest Biol. Technol., 179: 111571. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111571>
- Watkins, C.B., Erkan, M., Nock, J. E., lungerman, K.A., Beaudry, R.M., and Moran, R.E. 2005. Harvest date effects on maturity, quality and storage disorders of 'Honeycrisp' apples. Hort Sci. 40:164-169.

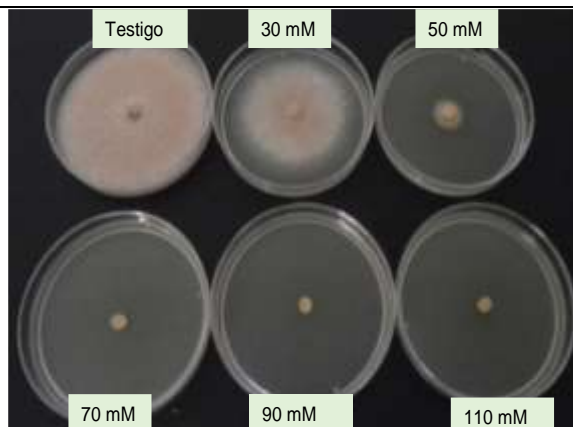
- Xu, F, Liu, Y, Xu, J., and Fu, L. 2019. Influence of 1-methylcyclopropene (1-MCP) combined with salicylic acid (SA) treatment on the postharvest physiology and quality of bananas. *J. Food Process. Preserv.*, 43(3): 1–7. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13880>
- Yahan, Md S., Lia, R.S., Chowdhury, Md E.K., Hasan. Md F., Islam. Md A., Sikdar. B., Khalekuzzaman. Md. 2019. Characterization of crown rot disease of banana fruit and eco-friendly quality improvement approach during storage. *Microbiology Research Journal International* 27: 1-13. [DOI: 10.9734/MRJI/2019/v27i330099](https://doi.org/10.9734/MRJI/2019/v27i330099).
- Yasmin, M.A., El-Samawaty, A.R.M.A., Moslem, M.A., Sayed, S.R.M. 2016. Evaluation of potassium and sodium silicates against fusarium spp. causing *damping-off* disease of cotton seedling. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25(4): 1117-1124.
- Youssef, K., Mustafa, Z.M.M., Kamel, M.A.M., Mounir, G.A. 2020. Cigar end rot of banana caused by *Musicillium theobromae* and its control in Egypt. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. <https://doi.org/10.1080/03235408.2020.1735139>.
- Youssef, K., Roberto, S.R. 2014. Applications of salt solutions before and after harvest affect the quality and incidence of postharvest gray mold of 'Italia' table grapes. *Postharvest Biol. Technol* 87: 95-102. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.08.011>.
- Zeebroeck, M.V., Linden, V.V., Darius, P., Ketelaere, B.D., Ramon, H., and Tijskens, E. 2007. The effect of fruit properties on the bruise susceptibility of tomatoes. *Postharvest Biol. Technol.*, 45(2): 168–175.
- Zhimo, V.Y., Dilip, D., J. Sten., V.K. Ravat., D.D. Bhutia., B. Panja., and J. Saha. 2017. Antagonistic Yeasts for Biocontrol of the banana postharvest anthracnose pathogen *Colletotrichum musae*, *J. Phytopathol.* 165, 35-43. <https://doi.org/10.1111/jph.12533>
- Zhu, Y.J., Qiu, X., Moore, P.H., Borth, W., Hu J., Ferreira, S., and Albert, H.H. 2003. Systemic Acquired Resistance induced by BTH in papaya. *Physiol. Mol. Plant Path.* 63:237-248. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2004.03.003>
- Zoeir, H.A., El Zahaby, H.M., Ziedan, E.H and Maswada, H.F. 2017. Efficacy of antifungal activity of essential oils, salts and antioxidants acids on pathogenic fungi and their application methods for controlling postharvest diseases on banana fruits. *African Journal Microbiol. Research*, 11(29): 1162-1170. <https://doi.org/10.5897/AJMR2017.8607>



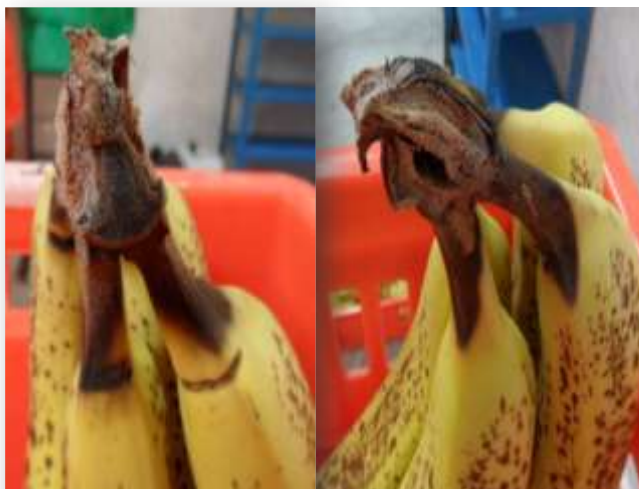
## ANEXOS



Colonia de *Colletotrichum musae* creciendo en PDA a 25°C a obscuridad.



Efecto *in vitro* del silicato de sodio sobre la inhibición de crecimiento micelial de *C. musae*.



Testigo inoculado con *C. musae*



Tratamiento sin inocular



Desinfección de la corona con alcohol al 70 %



Aplicación tratamientos con atomizador



Inoculacion de la corona con *Colletotrichum musae*