

**EVALUACIÓN DE LA EFICACIA *IN VITRO* E *IN VIVO* DE LAS
APLICACIÓN DE SILICE EN FRUTOS DE MANGO (*Mangifera indica*) VAR.
TOMMY ATKINS PARA EL CONTROL DE ENFERMEDADES
POSCOSECHA.**

LENINA ARAYA VARGAS

Tesis de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Fitotecnia

2010

Escuela de Agronomía
Facultad de Ciencias Agroalimentarias
Universidad de Costa Rica



UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
ESCUELA DE AGRONOMIA
TESIS DE LICENCIATURA

Vº.Bº. COMITÉ ASESOR DE TESIS

NOMBRE

FIRMA

LENINA ARAYA VARGAS
ESTUDIANTE

Dra. GERARDINA UMAÑA
DIRECTORA DE TESIS

Dr. LUIS FELIPE ARAUZ
MIEMBRO DEL COMITÉ

M. Sc. ERIC MORA N.
MIEMBRO DEL COMITÉ

M.Sc. CARLOS LUIS LORÍA
MIEMBRO DEL COMITÉ

Dr. ERIC GUEVARA BERGER
DIRECTOR, ESCUELA DE AGRONOMÍA

Fecha de comunicación sobre aprobación, al Comité Asesor

Aprobado el día: Reunión de la Comisión de Trabajos Finales de Graduación

AGRADECIMIENTOS

Primero que nada agradezco sinceramente el apoyo que recibe de mi directora de tesis, Gerardina Umaña para poder llevar a cabo este trabajo.

También agradezco al personal del Laboratorio de Tecnología Poscosecha, que me ayudaron de una u otra forma a resolver los problemas que se fueron presentando en la realización de esta tesis.

Agradezco sinceramente la ayuda incondicional de Mauricio Serrano, Fabián Barrantes y Jenkis, los cuales me brindaron su apoyo en la evaluación de los tratamientos.

También agradezco al Dr. Felipe Arauz por sus valiosas observaciones y al profesor Juan Ramón Navarro por su ayuda en parte estadística.

DEDICATORIA:
Primero a Dios por permitirme llevar a cabo esta investigación,
Después a mi hija Sofía la cual es mi mayor motivación
A mis padres por su apoyo incondicional
Y a mis hermanas que también me apoyaron cuando lo necesite.

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
INDICE GENERAL.....	v
INDICE CUADROS.....	vi
INDICE FIGURAS.....	vii
RESUMEN.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	10
1.1 Objetivo General.....	12
1.2 Objetivos Especificos.....	12
CAPITULO 2.....	13
REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.....	13
2.1 Generalidades del fruto de mango (<i>Mangifera indica</i>).....	13
2.2 Enfermedades del Mango.....	13
2.2.1 Antracnosis (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>).....	13
2.2.1.1 Importancia de la enfermedad.....	13
2.2.1.2 Etiología.....	14
2.2.1.3 Sintomatología.....	14
2.2.2 Pudrición basal (<i>Lasioidiploidia theobromae</i>).....	15
2.2.2.1 Importancia de la enfermedad.....	15
2.2.2.2 Etiología.....	15
2.2.2.3 Sintomatología.....	16
2.3 Control de enfermedades poscosecha en mango.....	16
2.4 Características del sílice.....	19
2.4.1 Papel en la nutrición de plantas.....	19
2.4.2 Transporte en las plantas.....	20
2.5 Papel del sílice en la relación planta- patógeno.....	21
2.5.1 Papel en la conformación de la pared celular.....	21
2.5.2 Sílice como inductor de resistencia.....	22
2.5.3 Sílice como promotor de fitoalexinas.....	23
2.6 Papel de sílice en la poscosecha.....	25
CAPITULO 3.....	28
METODOLOGÍA.....	28
3.1 Ensayo 1: Efecto <i>in vitro</i> del sílice sobre el crecimiento de micelio de <i>C. gloeosporioides</i> y <i>L. theobromae</i>	28
3.2 Ensayo 2: Efecto de los tratamientos de sílice sobre la germinación de esporas de <i>C. gloeosporioides</i>	28
3.3 Ensayo 3: Evaluación de los tratamientos de sílice sobre la incidencia y severidad de <i>C. gloeosporioides</i> y la incidencia de <i>L. theobromae</i> , en frutos de mango.....	29
3.3.1 Preparación del inóculo para aplicar en la fruta.....	29
3.3.2 Aplicación de los tratamientos en la fruta.....	30
3.3.3 Análisis de los datos.....	31
CAPITULO 4.....	32
RESULTADOS.....	32
4.1 Determinación del efecto <i>in vitro</i> del sílice sobre el crecimiento del micelio <i>C. gloeosporioides</i> y <i>L. theobromae</i>	32
4.2 Efecto del sílice en la germinación de esporas de <i>C. gloeosporioides</i>	33

4.3 Efectos de las aplicaciones de sílice sobre la incidencia y severidad de <i>C. gloeosporioides</i>	34
4.4 Efectos de las aplicaciones de sílice en fruta sobre la incidencia de <i>L. theobromae</i>	37
4.5 Efectos del sílice en la calidad poscosecha de frutos de mango.....	39
CAPITULO 5.....	42
DISCUSIÓN.....	42
5.1 Determinación del efecto <i>in vitro</i> del sílice sobre el crecimiento del micelio <i>C. gloeosporioides</i> y <i>L. theobromae</i>	42
5.2 Determinación del efecto <i>in vitro</i> del sílice sobre la germinación de esporas de <i>C. gloeosporioides</i>	42
5.3 Determinación del efecto de la aplicación de sílice en frutos de mango, sobre el desarrollo de la pudrición causada por <i>C. gloeosporioides</i> y <i>L. theobromae</i>	43
5.4 Efectos del sílice en la calidad poscosecha de frutos de mango.....	45
CAPITULO 6.....	47
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	47
LITERATURA CITADA.....	48
ANEXO.....	53

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág
Cuadro 1	Resultado de los tratamientos de sílice e imidazol sobre frutas de mango inoculadas con <i>C. gloeosporioides</i> , aplicados en dos tiempos diferentes, sobre variables de calidad poscosecha, evaluadas después de 15 días de almacenamiento a $11\pm 2^{\circ}$ C y 4 días a temperatura ambiente (aproximadamente 25° C).	39
Cuadro 2	Resultado de los tratamientos de sílice e imidazol, sobre frutas de mango inoculadas <i>C. gloeosporioides</i> , aplicados en dos tiempos diferentes sobre los componentes de color y evaluadas después de 15 días de almacenamiento a $11\pm 2^{\circ}$ C y 4 días a temperatura ambiente(aproximadamente 25° C).	40
Cuadro 3	Resultado de los diferentes tratamientos de sílice e imidazol, en frutas de mango inoculados con <i>L. theobromae</i> , sobre variables de calidad poscosecha, evaluadas después de 15 días de almacenamiento a $11\pm 2^{\circ}$ C y 4 días a temperatura ambiente (aproximadamente 25° C).	41
Cuadro 4	Resultados de los tratamientos de sílice e imidazol, en frutas de mango inoculados <i>L. theobromae</i> , sobre los componentes de color evaluadas después de 15 días de almacenamiento a $11\pm 2^{\circ}$ C y 4 días a temperatura ambiente (aproximadamente 25° C). Para el análisis estadístico no se incluyó el testigo absoluto.	41

INDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Efecto de diferentes tratamientos con sílice sobre el diámetro de crecimiento del micelio de <i>C. gloeosporioides</i> , en PDA, después de 15 días de incubación a 22° C.	32
2	Efecto de diferentes tratamientos con sílice sobre el diámetro de crecimiento del micelio de <i>L. theobromae</i> , en PDA después de 15 días de incubación a 22° C.	33
3	Efecto del porcentaje de germinación de esporas de <i>C. gloeosporioides</i> , bajo diferentes tratamientos de sílice, después de 42 horas, en cámara de incubación a 22° C.	34
4	Resultado de los tratamientos de sílice e imidazol en frutas de mango sobre la incidencia de <i>C. gloeosporioides</i> , después de permanecer en almacenamiento a $11 \pm 2^\circ$ C y evaluados a la salida de cámara, 4 días y 7 días después de permanecer a temperatura ambiente. Para el análisis estadístico no se incluyó el testigo absoluto y se graficaron los datos sin transformar.	35
5	Resultado de los tratamientos de sílice e imidazol en frutas de mango sobre la severidad de <i>C. gloeosporioides</i> , después de permanecer en almacenamiento a $11 \pm 2^\circ$ C y evaluados a la salida de cámara, 4 días y 7 días después de permanecer a temperatura ambiente. Para el análisis estadístico no se incluyó el testigo absoluto	36
6	Comportamiento de la severidad de <i>C. gloeosporioides</i> , según dosis de sílice aplicadas 24 horas antes de las inoculaciones con el hongo, después de permanecer en almacenamiento a $11 \pm 2^\circ$ C y evaluados a la salida de cámara, 4 días y 7 días después de permanecer a temperatura ambiente	37
7	Resultado de los tratamientos de sílice e imidazol en frutas de mango sobre la incidencia de <i>L. theobromae</i> , después de permanecer en almacenamiento a $11 \pm 2^\circ$ C y evaluados a la salida de cámara, 4 días y 7 días después de permanecer a temperatura ambiente. Para el análisis estadístico no se incluyó el testigo y se graficaron los datos sin transformar	38

RESUMEN

Un tema de actualidad es el uso del silicio como inductor de resistencia y fortalecedor de la pared celular, lo cual contribuye al combate de enfermedades en plantas tanto a nivel de campo como invernaderos, e inclusive se registran efectos positivos a nivel de poscosecha. Para corroborar esta hipótesis se realizó un estudio de la eficacia *in vitro* e *in vivo* de las aplicaciones de sílice en frutos de mango (*Mangifera indica*), para el control de las enfermedades poscosecha causadas por *Colletotrichum gloeosporioides* y *Lasiodioploidia theobromae*. En el caso de las pruebas *in vitro*, se incorporó el sílice en el medio de cultivo de PDA (papa-dextrosa-agar) + ácido láctico, se realizaron 10 repeticiones de un plato Petri por tratamiento. Se demostró que el crecimiento de los hongos disminuyó por un efecto en el aumento de la concentración de sílice, la dosis de 200 mM Si inhibió por completo el crecimiento del micelio. También se probó el efecto del sílice en la germinación de esporas de *C. gloeosporioides* con las dosis de 0,5, 5, 12,5, 25, 50 y 100 mM Si, las primeras dos dosis no tuvieron efecto en la germinación, pero a partir de 12,5 mM Si se inhibió la germinación de esporas. Para las pruebas en fruta se usaron 4 dosis de sílice, 25, 50, 100 y 200 mM Si, un testigo y un tratamiento con imidazol 1000 ppm, el diseño que se utilizó fue un irrestricto al azar, en el que se usaron 4 repeticiones de 6 frutas por tratamiento. Los tiempos de aplicación fueron 24 H antes y 24 H después de inocular la fruta con cada uno de los aislamientos de los hongos. Para los ensayos con antracnosis en los que se aplicaron los tratamientos de sílice 24H antes de la inoculación, se encontró menor severidad que cuando los tratamientos se aplicaron después, y la severidad de la enfermedad disminuyó al aumentar la concentración de sílice (fórmula $y = 8,92 - 0,03(x)$; $R = 0,36$, aunque esta no se diferenció estadísticamente del tratamiento control. La incidencia de antracnosis también fue menor cuando las aplicaciones se realizaron antes de la inoculación. En el caso de pudrición basal (*L. theobromae*), para la tercera evaluación se presentó un efecto significativo de los tratamientos, en donde las dosis de 200, 100 y 25 mM Si controlaron mejor la enfermedad que el imidazol. Se concluye que los tratamientos con sílice, afectan el crecimiento miceliar y germinación de esporas de *C. gloeosporioides* y el crecimiento del micelio de *L. theobromae* y disminuyen la severidad de la antracnosis así como la incidencia de pudrición basal, por lo que tienen un gran potencial para seguir siendo estudiados.

CAPITULO 1

INTROUCCION

El mango, es un cultivo cuyo mercado está creciendo continuamente a nivel mundial. Posee potencial, debido a sus múltiples usos, tiene sabor agradable y es nutritivo, siendo rico en vitaminas A, B y C, fructosa, fibra y proteínas. Por ello, las condiciones del mercado nacional e internacional para este producto, se han visto favorecidas, lo que ha hecho de esta, una actividad muy rentable (Rojas, 1993). Los principales importadores son Estados Unidos, Francia e Inglaterra y en los últimos años también Holanda y Alemania aumentaron las importaciones (Mora *et al.* 2002).

Solo en el 2008, las exportaciones totales fueron de 8.806 mil TM, con un valor FOB de US \$ 6.7 millones, de acuerdo con los datos de PROCOMER. Sin embargo desde 1999, los precios en el mercado internacional han tendido a una disminución (Porrás, 2006), por lo que, una alta calidad de fruta es indispensable para poder competir, así como una disminución de costos sin afectar la productividad del cultivo.

Uno de los mayores retos, para la exportación de esta fruta es controlar las enfermedades poscosecha y la mosca de la fruta (*Anastrepha obliqua*). Entre las principales enfermedades se encuentra la antracnosis, causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc in Penz, (Arauz y Umaña, 1986; Arauz *et al.* 1994; Arauz, 2000) y la pudrición peduncular causada por el hongo *Lasiodiplodia theobromae* (Pat) Griffon & Maubl (Arauz y Umaña, 1986; Arauz, 2000).

Generalmente estas dos enfermedades se combaten en forma conjunta mediante diferentes tratamientos. Entre los fungicidas que se pueden utilizar en aplicaciones poscosecha para el control de estas enfermedades se encuentra el prochloraz, sin embargo solo es permitido en el mercado Europeo y no provee un buen control para la pudrición peduncular (Arauz, 2000; González, 1997). El prochloraz actúa sobre un evento específico del proceso metabólico del hongo (inhibe la biosíntesis del ergosterol) por lo que resulta más fácil que se seleccione una población menos susceptible del patógeno (Agrios, 1991; Dekker, 1976,

citado por Madrigal 1997).

Otro tratamiento alternativo utilizado comercialmente es el hidrocalentamiento, el cual proporciona es usado para el control de antracnosis y de pudrición peduncular, debido a que elimina infecciones latentes del campo, pero se debe cuidar el tiempo de inmersión debido a que la fruta puede ser deteriorada con facilidad si se sobrepone al calor por ejemplo daño de lenticelas y aumentó de la susceptibilidad a otros patógenos (Molina *et al.* 1996). También se ha visto que es poco efectivo, por lo que se ha tenido que combinar con otros tratamientos como los fungicidas (Cuendis, 1988; Arauz, 2000).

Uno de los desafíos que enfrenta la agricultura actualmente es que aunque los agroquímicos pueden ser herramientas útiles en el control de enfermedades, incluso en poscosecha, en la actualidad el consumidor prefiere productos libres de estos compuestos por lo que la tendencia, es a la reducción de su uso, y la implementación de tecnologías más limpias.

En el campo de la fitopatología han surgido nuevas alternativas, por ejemplo, el uso de controladores biológicos, sustancias GRAS (generalmente reconocidas como seguras), también se están probando sustancias inductoras o promotoras de resistencia, que son capaces de estimular la producción de fitoalexinas e inclusive genes de estrés, por lo que se aumentan las defensas naturales de las plantas contra los patógenos. Entre los elementos que se han encontrado que pueden inducir estas respuestas se encuentra el sílice.

El sílice estimula la resistencia a las enfermedades y aumenta la actividad de la peroxidasa y quitinasa, enzimas relacionadas con la resistencia de las plantas a los hongos fitopatógenos. La primera induce el reforzamiento de la pared celular y está involucrada en la biosíntesis de lignina y la quitinasa hidroliza la pared celular de hongos fitopatogénicos. También se ha observado que el sílice en plantas afectadas por hongos estimula la aparición de compuestos precursores de fitoalexinas (Fawe *et al.*, 1998; Epstein, 1999, 2001; Bi *et al.*, 2006), y se ha encontrado que tiene efectos en disminución de enfermedades, en melón

y manzana (Bi *et al.*, 2006; Biggs, 2004), por lo que tiene potencial para ser usado o investigado en poscosecha.

Objetivo General

Evaluar el efecto del sílice sobre el crecimiento *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Lasiodiplodia theobromae*, y sobre el desarrollo de antracnosis y pudrición peduncular en frutos de mango (*Mangifera indica*), a nivel poscosecha.

4. Objetivos Específicos

1. Determinar el efecto *in vitro* del sílice sobre el crecimiento del micelio y germinación de esporas de *C. gloeosporioides*.
2. Determinar el efecto *in vitro* del sílice sobre el crecimiento del micelio de *L. theobromae*.
3. Determinar el efecto de la aplicación de sílice en frutos de mango, 24 horas antes y 24 horas después, sobre el desarrollo de la pudrición causada por *C. gloeosporioides*.
4. Determinar el efecto de la aplicación de sílice en frutos de mango, 24 horas antes y 24 horas después, sobre el desarrollo de la pudrición causada por *L. theobromae*.
5. Evaluar el efecto del sílice en la calidad poscosecha de frutos de mango.

CAPITULO 2

REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

2.1 Generalidades del fruto de mango (*Mangifera indica*)

El mango es del grupo taxonómico de las dicotiledóneas, y se ubica en la familia de las Anacardiaceas, la cual tienen actualmente 65 géneros. La fruta de mango se clasifica como una drupa y su color puede variar de amarillo a rojo e incluso morado, la coloración va a depender de la variedad. Desde floración hasta cosecha la fruta tarda de 100 a 120 días (Mora *et al.*, 2002). Los árboles de mango son originarios de la India y del Sur Este de Asia. De hecho la India se considera como el mayor productor de esta fruta, aunque México es el mayor exportador (Arauz, 2000).

2.2 Enfermedades del mango

En la producción de mango para exportación, existen dos grandes problemas fitosanitarios a resolver, el daño provocado por la mosca de la fruta (*Anastrepha* sp.), y las enfermedades poscosecha, antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) y la pudrición basal (*L. theobromae*) principalmente, también existen otras enfermedades poscosecha asociadas con otros organismos y que se presenta con menor severidad como es el caso de *Aspergillus niger* y *Alternaria alternata*. La importancia de la antracnosis radica en que puede llegar a tener incidencias del 100 % en el campo, y en condiciones de alta humedad puede ocasionar daños severos, lo que repercute en menor cantidad de frutas a cosechar, que se refleja en pérdidas económicas para el productor, ya que esta es desechada o vendida en el mercado local a un menor precio (Arauz y Umaña, 1986; Arauz, 2000). En el caso de la pudrición basal el problema principal radica en que causa la pérdida total de la fruta (González *et al.*, 1999; Ríos, 1999).

2.2.1 Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*)

2.2.1.1 Importancia de la enfermedad

La antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) es la enfermedad más importante en mango y afecta especialmente los frutos, pero también ocasiona daños en el follaje y tallo (Muñoz, 1998). Las pérdidas producidas por esta enfermedad a lo largo de toda la cadena de comercialización puede llegar a alcanzar un 44,3% (Arauz y Mora, 1983) y de este

porcentaje las pérdidas en poscosecha pueden oscilar entre un 20 a 30 % (Ceciliano 1998; Ríos, 1999).

En el campo la incidencia de esta enfermedad se relaciona principalmente con las condiciones de humedad, entre más alta la humedad relativa mayor la incidencia de la enfermedad (Arauz, 2000), incluso en observaciones realizadas por Umaña (citada en Montero y Cerdas, (2000)), señala que estas incidencias podían variar de un 2% a un 100%, y que este porcentaje depende de las medidas de combate que aplique el productor. Otro de los problemas es que se ha identificado en casi todas las plantaciones de mango.

La enfermedad es particularmente más severa en las hojas jóvenes y si hay un clima húmedo durante la floración, la enfermedad puede hacer caer todos los frutos, provocando serias pérdidas económicas, además este problema se ve agudizado por las infecciones quiescentes del fruto que aparecen en la etapa de maduración (Muñoz, 1998).

2.2.1.2 Etiología

Colletotrichum gloeosporioides, pertenece a la clase Deuteromicetes u hongos imperfectos y se ubica dentro de la familia de los Melanconiales, en su estado teleomorfo es el ascomicete *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spauld. & H. Schrenk; sin embargo el primero es responsable por el desarrollo de las epidemias de antracnosis (Arauz, 1998, 2000).

2.2.1.3 Sintomatología

La infección que produce el hongo se lleva a cabo mediante la penetración directa de los tejidos sanos, donde el micelio crece intercelularmente y luego las lesiones aparecen como manchas grandes o pequeñas de colores oscuros o lesiones ligeramente hundidas, pueden unirse formando grandes extensiones en la fruta y las lesiones se restringen a la cáscara, pero en casos severos puede afectar la pulpa. Cuando la enfermedad ya está muy avanzada, el hongo produce en las lesiones acérvulos, los cuales son masas de conidios de color anaranjado o salmón (Muñoz, 1998; Arauz, 2000).

Las frutas de mango pueden ser infectadas por antracnosis en estadios tempranos cuando están en el campo, provocando manchas y lesiones pedunculares que causan la abscisión del fruto (Aragaki y Goto, (1958), citado por Ríos (1999)), pero la mayoría de las lesiones permanecen quiescentes hasta que empieza el periodo de maduración, el cual ocurre después de la cosecha, cuando el periodo climaterio empieza, las lesiones se empiezan a desarrollar. En el caso de la antracnosis de la fruta no hay infección fruta a fruta y por lo tanto se comporta como una enfermedad monocíclica (Arauz, 2000).

2.2.2 Pudrición basal (*Lasiodiplodia theobromae*)

2.2.2.1 Importancia de la enfermedad

La pudrición peduncular o basal es considerada en Costa Rica como la segunda enfermedad más importante en el cultivo del mango, aunque se estima que es más dañina ya que causa la pérdida total de la fruta e incluso, si hay una fruta dañada en una caja se desecha toda la caja (González *et al.*, 1999; Ríos, 1999).

El principal agente causal es el hongo *Lasiodiplodia theobromae*. Los síntomas se presentan cuando la fruta empieza su maduración, la infección se origina principalmente en el campo, durante el desarrollo del fruto o en el momento de la cosecha, cuando la fruta entra en contacto con el suelo (Umaña (2000) citada por Montero y Cerdas (2000)). También se han encontrado gran cantidad de cuerpos fructíferos del hongo en hojas secas, frutos momificados, ramillas enfermas y panículas secas que han quedado como desecho dentro de la planta, por lo cual estos desechos se consideran como la principal fuente de inóculo para la siguiente cosecha de mango (González, 1997). Durante períodos de alta humedad relativa, las esporas son expulsadas fuera de los picnidios, y por medio de la lluvia o el viento son depositados sobre la base del pedicelo para luego infectarlo (González *et al.*, 1999).

2.2.2.2 Etiología

L. theobromae, pertenece al género de los hongos imperfectos o Deuteromicetes, y se ubica en la clase de los Sphaeropsidales, los cuales producen conidios en picnidios (Arauz, 1998).

2.2.2.3 Sintomatología

Los síntomas de la pudrición peduncular empiezan a ser visibles una vez que la fruta comienza su maduración. La lesión inicial tiene una coloración oscura y se desarrolla alrededor de la base del pedúnculo o en el epicarpo, extendiéndose rápidamente. La zona de avance de la pudrición se caracteriza por presentar tejido translucido y puede alcanzar un diámetro de 4 cm en solo 24 hr (González, 1997).

La fruta afectada se torna acuosa, con cierto arrugamiento, causando la pérdida total de ésta (Umaña, (2000) citada por Montero y Cerdas, (2000)). En el momento en que se da la pudrición total de la fruta, la parte enferma es de color negra y se observa una exudación café clara saliendo de esta (González, 1997).

Algunos autores mencionan que este hongo tiene un comportamiento endofítico, este término se utiliza para organismos que están dentro de la planta y que causan infecciones aparentemente asintomáticas dentro de los tejidos de las plantas, lo que dificulta su control en el campo (Johnson *et al.*, (1992) citado por González, (1997)).

2.3 Control de enfermedades poscosecha en mango

Cuando los frutos de mango son cultivados para exportación, es necesario el control tanto de antracnosis como de pudrición basal, esto con el objetivo de protegerlos durante el transporte, conservar su calidad y prolongar su vida anaquel, para que lleguen en condiciones óptimas al consumidor.

Por esto se han utilizado diferentes tratamientos contra la antracnosis, entre los que se encuentra el hidrocalentamiento con temperaturas del agua que van desde 50 a 55 ° C por tres minutos. Este tratamiento reduce significativamente el desarrollo de la enfermedad, pero si se descuidan las temperaturas y tiempos de exposición, pueden mostrar daños por quemaduras en la corteza (Muñoz, 1998).

El tratamiento térmico es diferente para cada variedad y tiene la ventaja de no dejar residuos en el fruto, pero produce aceleración de la madurez, pérdida del brillo natural y ennegrecimiento de las lenticelas si no se seca rápidamente (Arauz 1995).

También está el uso de los tratamientos químicos como el procloraz (500 mg/L de ingrediente activo), el cual se puede combinar con agua caliente, o aplicarlo solo, sin embargo el producto no es permitido en el mercado de los Estados Unidos por lo que para este país solo se puede aplicar el hidrocalentamiento (Umaña, (2000) citada en Montero y Cerdas, (2000)).

Actualmente el problema a nivel de control químico es que el procloraz es uno de los pocos fungicidas que están permitidos en poscosecha, y este actúa sobre un evento específico del proceso metabólico del hongo (inhibiendo la biosíntesis del ergosterol) (Agrios, 1991; Dekker, (1976) citado por Madrigal, (1997), lo que ejerce presión de selección de razas del hongo resistentes al producto. Para evitar resistencia, se recomienda no usarlo en campo, esto basado en la experiencia con otros hongos que ya son resistentes al procloraz, aunque para *C. gloesporioides* no se ha reportado resistencia (Arauz 2000). También la sensibilidad del hongo al fungicida obedece al tipo de cepa, y puede variar de una zona a otra, dependiendo de si proviene de una plantación comercial o se trata de aislados del hongo obtenidos de árboles que no han recibido ningún tratamiento químico (Madrigal 1997). Asimismo se ha visto que dependiendo de la presión de inóculo, la eficiencia del fungicida varía de un 65 a un 94 % (Arauz 2000).

Se han probado otros fungicidas poscosecha para el control de antracnosis y pudrición peduncular en mango, como es el caso del thiabendazole, el cual se usa en concentraciones de 1000 a 2000 ppm. Se está tratando de registrar el uso del producto en mango, la ventaja de este fungicida es que también controla *L. theobromae* (Arauz, 2000).

Para el tratamiento de la pudrición peduncular se aplican en general los mismos tratamientos que para la antracnosis, por ejemplo el agua caliente si controla la enfermedad aunque el procloraz ha resultado ser poco efectivo (Jonhson *et al.*, 1990).

El control de pudrición peduncular se hace principalmente mediante labores culturales, las recomendaciones se centran en evitar que la fruta toque el suelo en el deslátex, colocándola sobre alguna bandeja, evitar heridas en la fruta y dejar unos 3 cm de pedicelo, eliminarlo en

la planta empacadora o bien empacar el fruto con pedicelo y transportar la fruta a la empacadora lo más rápido posible (Ríos, 1999). Otra forma de combate para esta enfermedad es el almacenamiento de la fruta en cámaras frías a una temperatura promedio de 13° C. Este manejo se usa principalmente para la fruta de exportación (González, 1997).

Aparte del control químico, se están investigando otros tratamientos alternativos para el control de estas enfermedades, como es control biológico en el que, entre otros organismos, se ha estudiado la bacteria *Bacillus licheniformis*, con la cual se realizaron evaluaciones aplicándola sola y en combinación con un ¼ de la dosis comercial de procloraz (500 ppm), comprobándose que la combinación de la bacteria con el fungicida, tuvo el mismo efecto que solo el fungicida y que el antagonista fue más efectivo cuando la fruta se mantuvo en refrigeración (Govender y Korsten 2006).

Estudios realizados por Prusky (1993) citado por Arauz (2000), han demostrado que el mango en estados inmaduros presenta compuestos antifúngicos, los cuales se van oxidando conforme la fruta va madurando. Investigadores como Ríos (1999) han experimentado con tratamientos antioxidantes como el Xedafén y el ácido cítrico, así como antitranspirantes (Prolong), estos tratamientos aunque no superaron al tratamiento comercial (a base de procloraz), disminuyeron significativamente la severidad por antracnosis.

Aunque los fungicidas son un complemento para el control de las enfermedades de las plantas, existe mucha presión para que sean sustituidos (Biggs 1997; Bi *et al.*, 2006), por esto se están buscando alternativas a este tipo de productos, entre las cuales se encuentran el uso de inductores de resistencia (John *et al.*, 1994; Hutcheson, 1999).

Los inductores de resistencia pueden ser compuestos o microorganismos que activan el sistema de defensa natural de la planta, lo que genera diferentes respuestas en el hospedero, desde establecimiento de barreras físicas mediante modificaciones de la pared celular, hasta la biosíntesis de fitoalexinas, e incluyen reacciones de hipersensibilidad (Ryal *et al.*, 1994; Hutcheson 1999).

Uno de los elementos que se ha visto que pueden inducir resistencia en plantas al ataque de

patógenos es el sílice, el cual se ha catalogado como un elemento bioactivo asociado a efectos benéficos en las propiedades mecánicas y fisiológicas de las plantas, disminuyendo la incidencia de muchas enfermedades causadas por hongos (Fauteux, *et al.*, 2005).

2.4 Características del sílice

El sílice es el segundo elemento más abundante en los suelos, superado solo por el oxígeno, la fracción de sílice representa un 31% y el oxígeno un 49% (Sposito, (1989) citado por Epstein, (1999)). En la solución del suelo el sílice se encuentra en la forma de H_4SiO_4 , y su concentración va desde 0,1 mM hasta 0,6 mM (Epstein, 1999). Además de que las plantas absorben este elemento, y que las cantidades que se encuentran en ellas son de la misma magnitud que las encontradas para los macronutrientes, no es considerado un elemento esencial (Epstein, 2001; Fauteux *et al.*, 2005). Entre las principales funciones del sílice está proteger la planta de varios estrés tanto abióticos como bióticos (Ma y Yamaji, 2008).

Al analizar una gran cantidad de muestras de plantas Jones y Handreck (1967) citados por Epstein, (1999), propusieron dividir las plantas en tres categorías, gramíneas que tuvieron el más alto porcentaje de sílice en tejido foliar, de alrededor de un 10-15%, que denominaron acumuladoras de sílice; otras gramíneas como centeno y avena que son intermedias, cerca de un 1-3 %; y la mayoría de las dicotiledóneas con menos de un 1%, las cuales entrarían dentro del grupo de las no acumuladoras de sílice.

2.4.1 Papel en la nutrición de plantas

A pesar de la controversia de los beneficios del sílice en la nutrición de plantas, varias investigaciones han demostrado algunos de sus efectos benéficos, los cuales incluyen aumento de crecimiento, aumento de las propiedades mecánicas como mejor penetración de raíces por las plantas, mayor exposición de las hojas a la luz, reduce la transpiración y aumenta la resistencia al estrés salino, también se mencionan efectos en actividad enzimática e incremento de resistencia a patógenos (Fauteux *et al.*, 2005).

Otra de las características importantes del sílice es el papel que juega aliviando toxicidades, por ejemplo, en un ensayo de cebada cuando se agregó manganeso en dosis tóxicas a las plantas, éstas presentaron puntos necróticos en la lámina de la hoja, sin embargo en los

tratamientos en los cuales también se le agregó sílice, no hubo aparición de necrosis, lo cual puede indicar que el sílice ayudó a distribuir el manganeso para evitar que se acumulara y fuera tóxico para la planta (Williams y Vlamis, (1957), citados por Epstein, (1999)).

Efectos positivos del sílice también se han observado con el aluminio, el cual es un elemento que afecta en gran medida el crecimiento y desarrollo de las plantas, al parecer cuando se aplica sílice hay una disminución en la absorción de este elemento, también se comprobó que plantas que crecieron en solución de sílice con aluminio mostraron cambios en la concentración del ácido málico y ácido fórmico, lo que mejoró el proceso de fotosíntesis de las plantas. Estos mismos investigadores también encontraron que el Si revertía los efectos inhibidores del Al en la absorción del calcio por las raíces y el transporte calcio a los tallos (Hammond *et al.*, (1995) citado por Epstein (1999)).

2.4.2 Transporte en las plantas

El sílice en la solución del suelo predomina como ácido monosilícico Si(OH)_4 , y su translocación es por medio de la corriente de transpiración. El transporte a larga distancia es por medio del xilema, en donde la mayoría del sílice se queda en el apoplasto. Después de que el agua se evapora, el sílice tiende a acumularse en los sitios terminales de la transpiración, en los bordes de las hojas y en los tricomas, esto se logró corroborar con ensayos de rayos X (Epstein, 1999; Ghanmi *et al.*, 2004).

Durante la absorción del sílice, la pared celular de la epidermis se impregna con una capa de este elemento y se vuelve una efectiva barrera contra la pérdida de agua por la transpiración de la cutícula y el ataque de infecciones fúngicas (Maschner, 1990), además le confiere mayor resistencia mecánica (Epstein, 1999). El sílice también es depositado en los vasos del xilema, previniendo la compresión bajo condiciones de alta transpiración (Raven (1983) citado por Maschner (1990) y en la endodermis de las células de las raíces, actuando como una barrera contra la invasión de parásitos y patógenos (Bennett, (1982) citado por Maschner, (1990).

Neumann y De Figueiredo (2002) citados por Fauteux *et al.*, (2005), propusieron que debido a que el sílice se encuentra en el citoplasma de la planta y en las estructuras

subcelulares, debe de existir un transportador en la membrana que lo incorpore a la célula, de hecho en arroz ya se identificaron (Ma y Yamaji, 2006). Pero también los autores mencionan que la absorción se puede dar por medio del proceso de endocitosis.

En las plantas el Si tiende a polimerizarse en la pared celular, en el lumen celular y en los espacios intracelulares y en la capa subcuticular. El proceso de polimerización del sílice convierte el ácido sílico en ácido sílico coloidal y finalmente en gel silica con un incremento en la concentración del ácido sílico (Ma y Yamaji, 2006). También se ha encontrado que la fracción orgánica del sílice está unida a proteínas, compuestos fenólicos (lignina), lípidos y polisacáridos (celulosa y sustancias pépticas) (Kolesnikov y Gins, (2001) citados por Fauteux *et al.*, (2005)).

2.5 Papel del sílice en la relación planta- patógeno

2.5.1 Papel en la conformación de la pared celular

Como resultado de la gran evidencia demostrada del efecto protector del sílice en diferentes patosistemas, el rol de este elemento en la planta ha ganado aceptación. Sin embargo, los mecanismos mediante los cuales el sílice tiene estos efectos protectores en las plantas, todavía está en debate (Ghanmi *et al.*, 2004; Pereira *et al.*, 2008).

En experimentos con pepino (*Cucumis sativus*), en los cuales se probaron dos soluciones nutritivas una con sílice y la otro no, se encontró que las plantas que crecieron en la solución con sílice eran más verdes, tenían mejor intercepción de luz, eran más gruesas en especial los pecíolos, en comparación con las que tenían bajos niveles de sílice, también las hojas en este tratamiento tendían a envejecer más rápido. Como otro dato interesante se encontró que la actividad de la Rubisco era 50% mayor en el tratamiento con alta concentración de sílice (Adatia y Besford, (1986) citados por Epstein, (1999)).

Jones y Handreck (1967) citados por Epstein, (1999), también propusieron que la resistencia que proporcionaba el sílice en la planta era por medio de una incrustación física en la pared celular. El sílice se deposita debajo de la cutícula y forma una doble barrera con está, lo que mecánicamente impide la penetración y por lo tanto detiene el proceso de infección (Ma y Yamaji, 2008)

Fauteux *et al.* (2005) han comprobado que el sílice tiende a acumularse en los sitios de infección, los autores proponen que este efecto se puede deber a que la tasa de transpiración en estos sitios es mayor, debido a que la cutícula está dañada, sin que esto implique que haya un mecanismo activo de transporte como una respuesta de defensa de la planta al ataque de los patógenos.

Estos mecanismos pueden explicar en parte el efecto profiláctico del sílice, pero no es el único, debido a que este elemento también es considerado biológicamente activo y puede disparar una respuesta más rápida y amplificada de los mecanismos naturales de defensa en las plantas (Fauteux *et al.*, 2005).

2.5.2 Sílice como inductor de resistencia

Hutcheson (1998) citado por Fauteux *et al.* (2005), señala tres clases de mecanismos activos de defensa. La respuesta primaria que ocurre en la célula infectada por el patógeno, la respuesta secundaria que es inducida por elicitores y se limita a las células adyacentes al sitio inicial de infección y la respuesta sistémica adquirida, que es transmitida hormonalmente a todos los tejidos de la planta. Fauteux *et al.* (2005) proponen que el sílice actúa en la respuesta primaria y en la integración y aumento de la señal de transducción a nivel celular, lo que resulta en un incremento del sistema de resistencia.

Otra de las teorías que se maneja es que el sílice en plantas infectadas induce resistencia al ataque de hongos por medio de la aparición de precursores fungo tóxicos que actúan posiblemente como fitoalexinas (Epstein, 1999, 2001). Fawe *et al.* (1998) mostraron que el sílice inducía una auténtica cascada bioquímica de reacciones de defensa en plantas infectadas, los autores relacionaron la inducción provocada por el sílice con un tipo de inducción específica llamada Resistencia Sistémica Adquirida (SAR). Esta es caracterizada por una acumulación de ácido salicílico y proteínas relacionadas con patogenicidad (PR), es típicamente provocada por el patógeno, pero puede ser lograda por activadores en cuyo caso el sílice sería uno de ellos.

Sin embargo, otros autores como Fauteux *et al.* (2005), opinan que como un mensajero secundario, los efectos del sílice en el metabolismo secundario son significativos solo

después de la inducción, pero tanto el sílice como otros activadores conocidos tienen un efecto saturador. La diferencia entre los activadores SAR y el sílice es que con este último se pierde la actividad cuando deja de ser suministrado, debido a su polimerización, lo que conlleva a una inactivación de la inducción de resistencia.

Para demostrar el efecto del sílice en la supresión de enfermedades se han efectuado varios ensayos (Menzies *et al.*, 1991; Menzies *et al.*, 1992; McAvoy y Bible, 1996; Biggs 2004; Ghanmi *et al.*, 2004; Bi *et al.*, 2006 y Guo *et al.*, 2007), en uno de ellos se realizó un escaneo por medio de un microscopio electrónico en plantas de *Arabidopsis thaliana* que fueron inoculadas con *Erysiphe cichoracearum* y se encontró que a las plantas que no se les suministró sílice foliar, presentaban densas redes de micelio y colonias con conidios, en cambio las plantas tratadas con sílice, apenas presentaban una fina red de filamentos de hifas, además de que los haustorios estaban severamente dañados y mostraban alteraciones morfológicas, lo que fue indicador de que el hongo logró infectar las hojas de *A. thaliana*, aunque el grado de severidad fue menor. Los autores proponen que esto se debió a que en los sitios de infección del hongo, se dio una acumulación de una sustancia similar en estructura molecular a un fenol, lo que causó la toxicidad en el patógeno (Ghanmi *et al.*, 2004).

2.5.3 Sílice como promotor de fitoalexinas

Las señales posteriores a la inducción, en el sistema natural de defensa de las plantas, se traduce en diferentes eventos por ejemplo en la expresión de genes de defensa, respuestas de hipersensibilidad, modificaciones estructurales de la pared celular, síntesis de hormonas de estrés, síntesis de compuestos antimicrobianos y proteínas de patogenicidad (PR). El sílice está involucrado entre otras respuestas en la acumulación de fitoalexinas (Fauteux *et al.*, 2005).

Epstein (1999) propone que los mecanismos de defensa que moviliza el sílice incluyen la acumulación de lignina y generalmente compuestos fenólicos, así como quitinasas y peroxidasas. También observó que a las plantas que se les suministró sílice se acumularon compuestos fenólicos en la epidermis, esto debido a un aumento en la actividad de la fenilalanina amonio liasa, la cual contribuye a una mejor resistencia a las enfermedades

(Epstein, 2001).

Una de las características más importantes del sílice, demostradas en experimentos realizados por Menzies *et al.* (1991), muestran que el sílice tiende a rodear los sitios de infección con sustancias parecidas a fenoles; estas observaciones fueron corroboradas por Fawe *et al.* (1998), quienes observaron que el sílice inducía reacciones de defensa, las cuales incluían la producción de compuestos flavonoides fungitóxicos (Ghanmi *et al.*, 2004).

Por otro lado, en ensayos en el patosistema de *Arabidopsis- E. cichoracearum*, se utilizó un tinte llamado toluidine blue O, aunque la reacción de este tinte no es altamente específica, se sabe que se tiñe de azul profundo en presencia de compuestos fenólicos. Esta coloración azul profundo se observó alrededor de los haustorios en las plantas tratadas con sílice, lo que puede indicar que el sílice promueve la acumulación de estos compuestos similares a las fitoalexinas (Ghanmi *et al.*, 2004).

También en plantas de pepino fertilizadas con sílice, se encontró la acumulación de una sustancia identificada como rhamnetin (3,5,3',4'- tetrahydroxy-7-O- methoxyflavone). Al purificar este producto para comprobar su actividad fungitóxica, se necesitó menos de 20 µg, para que afectara el crecimiento del hongo *Spharotheca fuliginea*, lo cual está dentro del rango fisiológico reportado para otras fitoalexinas. Esta fitoalexina pertenece al grupo de los flavonoides, los cuales se han reportado como compuestos antifúngicos preformados, pero no como metabolitos en pos infecciones (Fawe *et al.*, 1998). Esta sustancia no fue encontrada en las plantas que no se fertilizaron con sílice; lo cual puede indicar que el sílice contribuyó a la acumulación de rhamnetin y esto mejoro la resistencia de pepino al ataque de *S. fuliginea*. También en los tratamientos con sílice se observaron alteraciones en los haustorios del hongo (Fawe *et al.*, 1998).

Fauteux *et al.* (2005), opinan que debido a que las fitoalexinas son muy específicas en cada especie de planta, y que el sílice actúa como un mecanismo compartido para todas las especies de plantas, este elemento podría controlar la expresión de genes de estrés (cascada de señales), contribuyendo al sistema de resistencia por medio de la producción de

hormonas de estrés.

2.6 Papel de sílice en poscosecha

Aunque se han realizado varios estudios de la relación del sílice con varias enfermedades de plantas, la mayoría de esta investigación se ha concentrado en enfermedades de raíz o follaje, pero poca investigación se ha realizado en el campo de la poscosecha. Sin embargo, poco de lo que se ha realizado revela la importancia del sílice en el combate de este tipo de enfermedades (Samuels *et al.*, 1993; Epstein 1999; Ghanmi *et al.*, 2004; Biggs, 2004; Bi *et al.*, 2006 y Guo *et al.*, 2007), en las que el rol del sílice se centra en el reforzamiento de la pared celular y en el aumento de enzimas como la peroxidasa y quitinasa (Bi *et al.*, 2006 y Guo *et al.*, 2007).

En ensayos realizados con melón de las variedades New Queen y 8601 en poscosecha, se probó el efecto de inmersiones de sílice a concentraciones de 25, 50, 100 y 200 mM Si, sobre el desarrollo de la pudrición causada por los hongos *Alternaria alternata*, *Fusarium semitectum* y *Trichothecium roseum*. La reducción en la severidad fue mayor en la dosis de 100 mM Si y esta varió de un 67% a 72% para *T. roseum*, en las variedades New Queen y 8601 respectivamente. Para el resto de los patógenos la reducción en la severidad fue ligeramente menor (Bi *et al.*, 2006).

Los autores mencionan que los efectos supresivos del sílice a 100 mM, se debieron a un aumento significativo y progresivo de la actividad de peroxidasa (POD) y quitinasa (CHT). En frutas tratadas con *T. roseum*, la máxima actividad reportada para POD fue entre el tercero y sexto día después de la inoculación para las variedades de New Queen y 8601 respectivamente; y la actividad fue de 2 a 2,4 veces mayor en comparación con la fruta que no fue tratada. En el caso de CHT, la actividad alcanzó su máximo 5 días después para New Queen y 6 días para la variedad 8601, y el aumento varió de 1,6 a 2.2 veces respectivamente (Bi *et al.*, 2006).

El papel de POD y CHT, en los mecanismos de defensa de las plantas para la interacción hospedero patógeno, ya han sido demostrados en varias ocasiones (Epstein, 2001). La POD por ejemplo, contribuye al reforzamiento de la pared celular y está involucrada en los pasos finales de la biosíntesis de lignina y en las proteínas de las células de la pared. Esta enzima

es usada en algunas ocasiones como marcador químico en la predicción de la resistencia de enfermedades (Bi *et al.*, 2006).

En melón, esta investigación mostró un aumento significativo de la POD en frutas tratadas con Si y un cambio en la severidad de *T. roseum*; este efecto pudo contribuir a un incremento en la resistencia contra los patógenos mediante una aceleración en el reforzamiento de la pared celular, lo que limitó el establecimiento del patógeno y su distribución en los espacios celulares del parénquima, limitando su progreso. También la CHT que es una enzima que hidroliza la pared celular de los hongos, contribuyó a la disminución de la severidad de la enfermedad (Bi *et al.*, 2006).

En otro ensayo realizado en melón por Guo *et al.* (2007) para prevenir la enfermedad poscosecha causada por *Trichothecium roseum*, se encontró que las frutas que recibieron los tratamientos de sílice presentaban una cáscara más rugosa y áspera, además de un aumento del sílice en la epidermis, especialmente cerca de los estomas, lo que redujo significativamente el tamaño de las lesiones del hongo. Asimismo la actividad de la POD y fenilalanina amonio liasa (PAL) aumentaron su actividad en los frutos de melón, de un 100 % y un 26% respectivamente con el tratamiento de silicato de sodio a 100 mM Si, pero cuando se usó óxido de silicato, no se presentaron diferencias con el testigo. Los autores proponen que el silicato de sodio estimuló los sistemas naturales de defensa de las plantas a través de la producción de compuestos fenólicos y activación de las enzimas POD y PAL.

Al estudiar el comportamiento del sílice en la cáscara de frutas de pepino, se encontró que las frutas que no fueron tratadas con sílice presentaron una cáscara más lisa y las únicas partículas en la superficie eran los tricomas. En cambio en el tratamiento con sílice, se encontraron pequeñas partículas entre los tricomas y la superficie de la cáscara, además esta era más áspera y rugosa, los autores creen que hubo una silificación de los tricomas lo que le dio la doble apariencia de rugosidad. También se observó que el sílice se acumuló en la superficie del exocarpo y en cambio no se encontró en el endocarpo y mesocarpo. En el tratamiento sin sílice, también se acumuló en el exocarpo pero en mucha menor medida, o casi no se presentó. La mayor concentración de sílice se encontró en la cáscara más que en la parte carnosa de la fruta, de hecho la concentración de sílice en esta última parte era

similar a la de la raíz, lo cual indica que tampoco la raíz tiende a acumular sílice (Samuels *et al.*, 1993).

Biggs (2004) trabajó con 4 diferentes tipos de sales de calcio para el control *Botryosphaeria dothidea* en manzana, encontrando que las que proporcionaron el mejor control fueron el silicato de calcio y el hidróxido de calcio, tanto en los ensayos de campo como en el laboratorio. En anteriores investigaciones, observó que la sal de silicato de calcio redujo en un 17% las lesiones causadas por *C. gloeosporioides* y un retraso en la formación de acérvulos en *C. acutatum*, en comparación con el testigo. La incidencia de *C. gloeosporioides* se redujo cuando las manzanas fueron inoculadas con concentraciones de 1×10^3 conidios, sin embargo a concentraciones de 1×10^4 y 1×10^5 no se observaron efectos significativos (Biggs, 1999).

Al probar los efectos *in vitro* de sales de calcio en el crecimiento, infección y actividad de la poligalacturonasa de *Monilinia fructicola*, Biggs *et al.* (1997), encontraron que el silicato de calcio adicionado a un medio con PDA, logró inhibir el crecimiento del hongo en un 65%, redujo en un 61% la actividad de la poligalacturonasa y cuando las frutas fueron inoculadas con 3×10^6 conidios de *M. fructicola*, el silicato de calcio disminuyó la severidad de la enfermedad en aproximadamente 30%, después de mantenerse los frutos de durazno durante 4 días a temperatura ambiente en comparación con el testigo.

Tian *et al.* (2005) investigaron el efecto del sílice en combinación con levaduras antagonistas (*Cryptococcus laurentii* y *Rhodotorula glutinis*) para el control de *Alternaria alternata* y *Penicillium expansum* en frutas de jojoba (*Zizyphus jujuba*). Los resultados demostraron que sólo la aplicación de sílice en concentraciones de 2% redujeron significativamente la incidencia y diámetro de las lesiones causadas por estos hongos y la combinación de sílice al 2% con las levaduras fue más efectiva. Los autores proponen que estos resultados se debieron en parte a que el sílice inhibió directamente el crecimiento de los hongos, lo que facilitó la colonización de los antagonistas, también consideran que el sílice pudo haber inducido repuestas de defensa en el hospedero. El sílice no afectó el crecimiento de *R. glutinis* y en caso de *C. laurentii*, solo lo afectó al inicio de los tratamientos.

CAPITULO 3

METODOLOGÍA

3.1 Ensayo 1: Efecto *in vitro* del sílice sobre el crecimiento de micelio de *C. gloeosporioides* y *L. theobromae*.

Se seleccionaron frutos de mango de la variedad de Tommy Atkins, del mercado Borbón con síntomas de antracnosis (*C. gloeosporioides*) y pudrición peduncular (*L. theobromae*), y se aislaron los hongos causales en PDA (papa-dextrosa-agar) según técnicas convencionales (French y Herbert 1980). De los organismos aislados se hicieron reaislados para obtener colonias puras de los hongos.

Para la preparación de la solución madre de sílice, se utilizó el reactivo metasilicato de sodio pentahidratado (Aldrich, 27% SiO₂) y a partir de está se tomaron alícuotas para incorporarlas en medio de cultivo PDA y obtener las concentraciones de sílice de 25 mM, 50 mM, 100 mM y 200 mM Si.

Se tomaron discos de aproximadamente 5 mm, de las colonias puras de *C. gloeosporoides* y *L. theobromae*, y se colocaron en platos Petri con PDA más ácido láctico, más las diferentes concentraciones de sílice, y el testigo el cual constaba solo de PDA más ácido láctico. Los platos Petri se colocaron en una cámara de crecimiento a 22° C ± 2 con un fotoperíodo de 12h luz, 12h oscuridad y después de 15 días se midió el diámetro de crecimiento de ambos hongos, para lo cual se utilizó una regla. Los tratamientos constaron de 10 repeticiones de un plato cada uno.

3.2 Ensayo 2: Efecto de los tratamientos de sílice sobre la germinación de esporas de *C. gloeosporioides*.

Se preparó una suspensión de esporas a 1×10^5 conidios/mL de *C. gloeosporoides* utilizando para el conteo de las esporas un hemacitometro. Posteriormente en dos puntos de un portaobjetos se colocó 1 µL de las diferentes concentraciones de sílice (1, 10, 25, 50, 100, 200 mM Si) junto con un 1µL de la suspensión de esporas, el tratamiento control solo

consistió de 1 μ L de agua destilada y la suspensión de esporas. Debido a la disolución con la suspensión de esporas las concentraciones de los tratamientos quedaron en 0,5, 5, 12,5, 25, 50, 100 mM Si. Los portaobjetos se colocaron dentro de platos Petri, con papel toalla humedecida y papel aluminio. Se mantuvieron en una cámara de incubación a $22^{\circ} \text{C} \pm 2$ durante 42 horas. Para este ensayo se agregaron dos concentraciones extras, la de 0,5 mM y 5 mM Si, las cuales no se utilizaron en la evaluación del efecto del sílice en el crecimiento de micelio ni en los tratamientos de fruta.

Las evaluaciones se realizaron mediante un microscopio de luz, y se contó la germinación al azar de 50 conidios, determinando los que estaban germinados, para lo que se consideró que el tubo germinativo fuera igual o mayor al tamaño de la espora. También se realizaron observaciones cualitativas de deformidades en la espora o el tubo germinativo. Los tratamientos estaban constituidos por 5 repeticiones.

3.3 Ensayo 3: Evaluación de los tratamientos de sílice sobre la incidencia y severidad de *C. gloeosporioides* y la incidencia de *L. theobromae*, en frutos de mango.

Los mangos (var. Tommy Atkins) fueron cosechados en la finca Manga Rica localizada en Liberia, en el mes de abril del año 2007. Se lavaron con cloro al 1% durante aproximadamente tres minutos, se secaron y se colocaron en las cajas de cartón para trasladarlos al Laboratorio de Tecnología Poscosecha, donde se mantuvieron durante 24 horas antes de la aplicación de los tratamientos

3.3.1 Preparación del inóculo para aplicar en la fruta.

De las colonias puras ya establecidas, se realizó un conteo de esporas de *C. gloeosporioides* por medio de un hemacitometro y se ajustó la concentración a $1,5 \times 10^3$ conidios/mL. Los mangos se asperjaron con esta suspensión, empleando aproximadamente 3 mL/fruto. Una vez inoculados se colocaron en cajas plásticas, con papel toalla humedecida y se colocaron en bolsas plásticas. Se mantuvieron en esta condición durante 24 horas.

En el caso de las inoculaciones con *L. theobromae*, a cada fruto se le colocó un disco con micelio del hongo de 5 mm de diámetro, el cual se cubrió con papel filtro humedecido, un trozo de papel aluminio y se fijó con cinta adhesiva. El disco de micelio se dejó durante 24 horas y posteriormente se removió.

3.3.2 Aplicación de los tratamientos en la fruta

Para cada uno de los hongos estudiados, se aplicaron los tratamientos de sílice (25, 50, 100 y 200 mM Si) y el fungicida prochloraz, por medio de la inmersión de la fruta en las soluciones durante un minuto, en dos tiempos diferentes, 24h antes y 24h después de la inoculación de la fruta con el respectivo hongo. También se contó con un testigo inoculado con cada hongo y un testigo absoluto.

Después de aplicados los tratamientos, los mangos se colocaron en cajas de cartón y se almacenaron en cámara fría a una temperatura de $11 \pm 2^\circ \text{C}$ durante 15 días, después de lo cual se hicieron 3 evaluaciones de enfermedades, la primera a salida de cámara, la segunda cuatro días después y la tercera a los 7 días. Se evaluó la incidencia y severidad para *C. gloeosporioides*, utilizando la escala publicada por Barquero (2000). En el caso de *L. theobromae*, solo se tomó en cuenta la incidencia.

La evaluación de la calidad de fruta se realizó a los cuatro días de permanecer a temperatura ambiente ($22^\circ \text{C} \pm 2$). En el caso de las mediciones que implicaron destrucción total o parcial de la fruta (color interno, firmeza y sólidos solubles) se utilizaron dos frutos por repetición.

Para color externo, se midieron todas las frutas por tratamiento, la determinación se realizó en uno de los costados del fruto y se utilizó un colorímetro Minolta CR- 300. En el caso del color interno, se removió la cáscara de uno de los costados del fruto y se tomó la medición del color de la pulpa.

La medición de la firmeza se realizó removiendo aproximadamente 2 cm^2 de la cáscara del

mango en el centro de ambos laterales del fruto, en estos puntos se tomó la medida, para lo que se utilizó un penetrómetro Chatillon con punta de plato y montado en un pie.

En la determinación de sólidos solubles se siguió el procedimiento establecido en el Laboratorio de Tecnología Poscosecha de la Universidad de Costa Rica, para lo que se procesó la pulpa del mango en un extractor de jugos Black and Decker, después el jugo se filtró con gaza, y se tomaron dos analitos de este jugo para medirlos con un refractómetro digital marca Atago modelo PR- 100 (0-32%).

Se utilizó un arreglo factorial con dos factores, el momento de aplicación y la dosis de sílice, en un diseño irrestricto al azar con 4 repeticiones por tratamiento. La unidad experimental estuvo constituida por una caja con 6 frutos.

3.3.3 Análisis de los datos

Se realizó un análisis de varianza con el programa Infostat y la separación de medias se realizó con la prueba Tukey. En el caso de los ensayos *in vitro*, se analizó el promedio de crecimiento de micelio y el porcentaje de germinación de esporas por tratamiento. Para cada día de evaluación, se realizó el análisis de varianza con los promedios por repetición de incidencia y severidad de *C. gloeosporioides* e incidencia para *L. theobromae*. Solo en la evaluación de severidad a los 7 días de *C. gloeosporioides*, se realizó un análisis de regresión lineal. Para las variables de calidad de fruta, firmeza, color interno, externo y sólidos solubles se utilizaron los promedios.

En el caso de las evaluaciones de incidencia para *C. gloeosporioides* se transformaron los datos con la fórmula arcoseno raíz cuadrada del porcentaje, para luego aplicar el análisis de varianza, y para incidencia de *L. theobromae* se aplicó la fórmula raíz cuadrada. Sin embargo, en los gráficos se utilizaron los datos sin transformar.

CAPITULO 4

RESULTADOS

4.1 Determinación del efecto *in vitro* del sílice sobre el crecimiento del micelio de *C. gloeosporioides* y *L. theobromae*.

En el ensayo realizado con *C. gloeosporioides*, para determinar el efecto del sílice en crecimiento *in vitro* del hongo (Fig. 1) se encontró que la dosis de 25 mM Si, redujo el crecimiento de 4,5 cm (testigo) a 1,6 cm, lo que representa un porcentaje de inhibición del 64%, y las concentraciones de 50, 100 y 200 mM no permitieron el crecimiento del hongo.

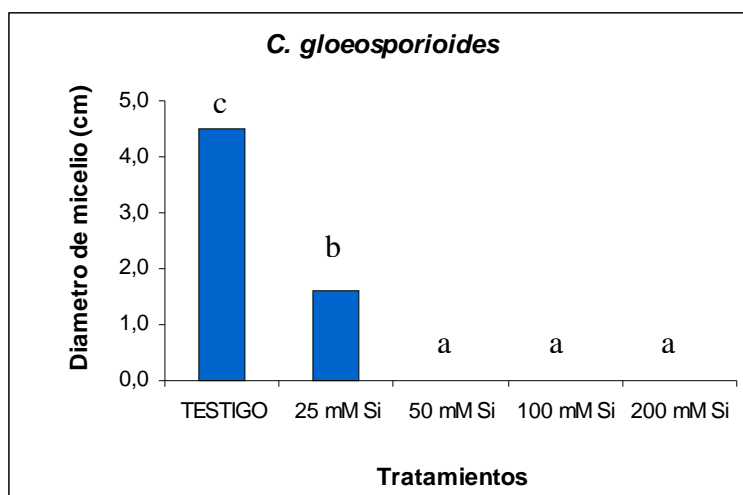


Figura 1. Efecto de diferentes tratamientos con sílice sobre el diámetro de crecimiento del micelio de *C. gloeosporioides*, en PDA, después de 15 días de incubación a 22° C.

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Efectos similares, se encontraron en el ensayo con *L. theobromae* (Fig. 2), en el tratamiento de 25 mM Si, la disminución en el crecimiento del micelio con respecto al testigo fue de 5 centímetros, lo que equivale a un 58% de inhibición, ligeramente menor que en el caso de *C. gloeosporioides*, y las concentraciones de 50, 100 y 200 mM Si inhibieron por completo el crecimiento, sin encontrarse diferencias significativas entre estos tratamientos, la única diferencia se dio con el tratamiento de 25 mM Si.

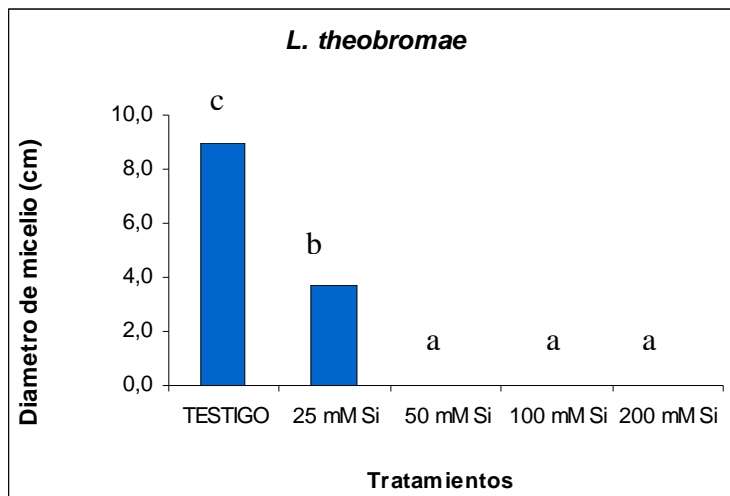


Figura 2. Efecto de diferentes tratamientos con sílice sobre el diámetro de crecimiento del micelio de *L. theobromae*, en PDA después de 15 días de incubación a 22° C.

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

4.2 Efecto del sílice en la germinación de esporas de *C. gloeosporioides*

En el caso de la germinación de esporas (Fig. 3), las dosis de 0,5 y 5 mM Si, no tuvieron diferencias significativas con respecto al testigo, e incluso la dosis de 0,5 mM Si, tuvo un ligero efecto estimulador sobre el porcentaje de germinación, el cual fue mayor al testigo en aproximadamente un 3%. Para las dosis de 12,5 y 25 mM Si, si se observó una disminución en la germinación de *C. gloeosporioides*, con porcentajes de un 40% y 28% respectivamente, mientras que el testigo presentó una germinación del 57%. Estos tratamientos se diferenciaron de las dosis de 50 y 100 mM Si, las cuales tuvieron un mayor efecto inhibitorio en la germinación de esporas. En el caso de 50 mM Si el porcentaje de germinación fue de apenas un 2% y para la dosis 100 mM Si fue cero, aunque entre ambos tratamientos no se observaron diferencias significativas.

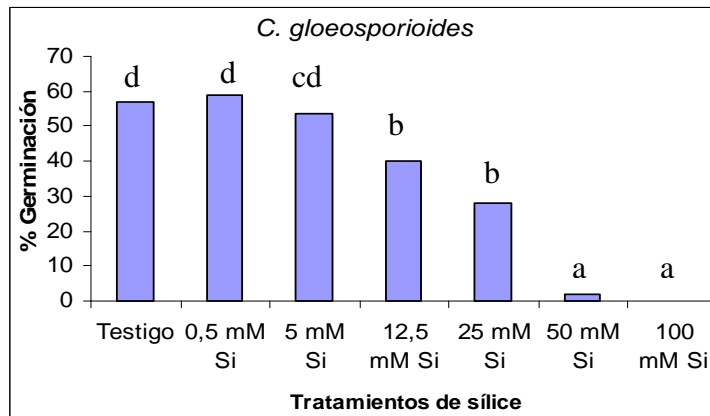


Figura 3. Efecto de diferentes tratamientos de sílice sobre el porcentaje de germinación de esporas de *C. gloeosporioides*, después de 42 horas, en cámara de incubación a 22° C.

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

4.3 Efectos de las aplicaciones de sílice sobre la incidencia y severidad de *C. gloeosporioides*.

Para la incidencia de los tratamientos inoculados con *C. gloeosporioides*, en la evaluación a la salida de cámara y 7 días después se presentó un menor porcentaje de frutos afectados cuando la aplicación de los productos se hizo antes de la inoculación (Anexo, cuadros 2 y 4) y solo la tercera evaluación realizada a los 7 días después de salida de cámara, se presentaron diferencias entre los productos con probabilidad significativa ($p < 0,05$) (Fig. 4).

En la grafica de la incidencia de *C. gloeosporioides* en mango se puede observar (Fig. 4), como esta variable va aumentando según los días de evaluación. En la primera evaluación, a salida de cámara, las menores incidencias se presentaron con el tratamiento de imidazol (12,5%) y las aplicaciones de sílice 100 mM Si y 25 mM Si (20,8%).

Hacia el cuarto día de haber permanecido la fruta al ambiente las incidencias tuvieron valores entre los rangos del 16.7% y 45.8%, presentándose los menores valores (16,7% y 22,9%) con los tratamientos de imidazol y 200 mM Si respectivamente.

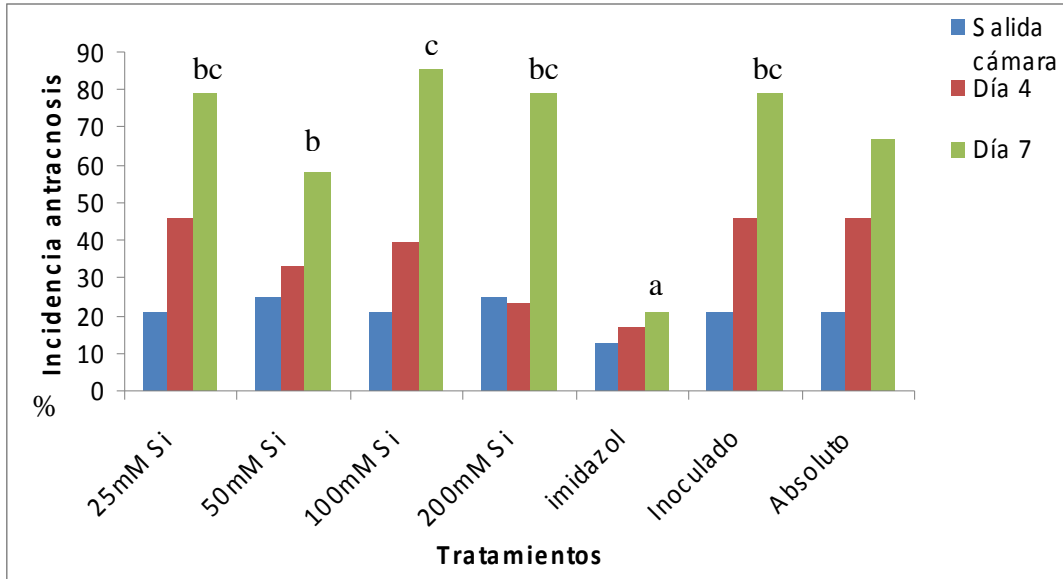


Figura 4. Resultados de los tratamientos de sílice e imidazol en frutas de mango sobre la incidencia de *C. gloeosporioides*, después de permanecer en almacenamiento a $11 \pm 2^\circ \text{C}$ y evaluados a la salida de cámara, 4 días y 7 días después de permanecer a temperatura ambiente. Para el análisis estadístico no se incluyó el testigo absoluto y se graficaron los datos sin transformar.

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

En el sétimo día, la incidencia para el tratamiento de imidazol aumentó a 20,8%, y fue el único tratamiento diferente estadísticamente al testigo inoculado. En el caso de los tratamientos con sílice, no se obtuvieron diferencias significativas con el tratamiento inoculado, aunque se puede observar en la figura 4, como el tratamiento de sílice de 50 mM Si, fue el que obtuvo la menor incidencia (58,33%).

En el análisis estadístico de la evaluación de severidad de *C. gloeosporioides* para el sétimo día (Anexo, cuadro 7), el momento de aplicación tuvo un valor significativo y los tratamientos que se aplicaron 24 horas antes de la inoculación tuvieron menores valores de severidad.

En la primera evaluación de severidad (Fig 5), a salida de cámara, los valores más altos fueron de 0,14 % para el tratamiento de 50 Mm Si, y el menor valor, 0,05% se presentó con

el imidazol, ambos valores por debajo del 1%, lo cual podría permitir la comercialización de la fruta ya que este porcentaje de severidad para antracnosis todavía es aceptable en el mercado.¹

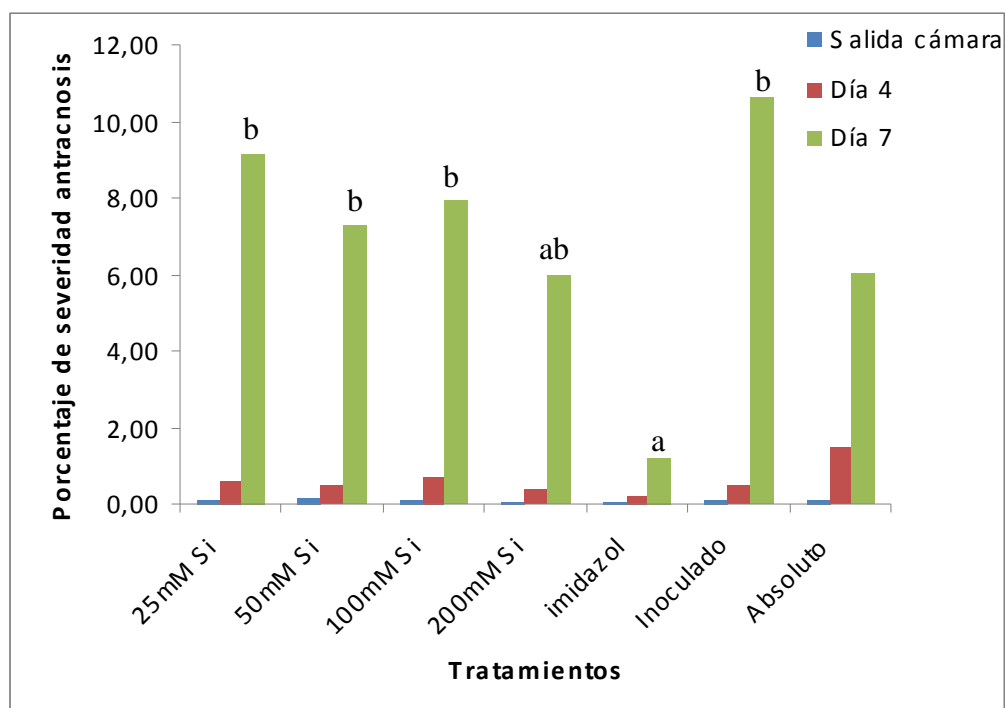


Figura 5. Resultados de los tratamientos de sílice e imidazol en frutas de mango sobre la severidad de *C. gloeosporioides*, después de permanecer en almacenamiento a $11 \pm 2^\circ \text{C}$ y evaluados a la salida de cámara, 4 días y 7 días después de permanecer a temperatura ambiente. Para el análisis estadístico no se incluyó el testigo absoluto

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

A los 4 días de permanecer a temperatura ambiente, los frutos tratados con el imidazol se mantienen con el menor porcentaje de severidad (0.21%), seguido del tratamiento con sílice a 200 mM Si (0.41%). En la tercera evaluación a los 7 días, se presentaron diferencias significativas en la severidad de los tratamientos, el imidazol (1.23%), fue el único tratamiento que se diferenció estadísticamente del testigo inoculado (10.3%). El tratamiento con sílice 200 mM Si, fue el segundo tratamiento con menor valor de severidad, de 5.96%.

¹ Gerardina Umaña, comunicación personal

Al tomar en consideración los resultados, cuando los tratamientos se aplicaron 24 horas antes de la inoculación, se obtuvo una regresión lineal (fórmula $y = -2,0659 \ln(x) + 14,388$), (Fig. 6), observándose que la severidad de *C. gloeosporioides* disminuyó al aumentar la dosis de sílice.

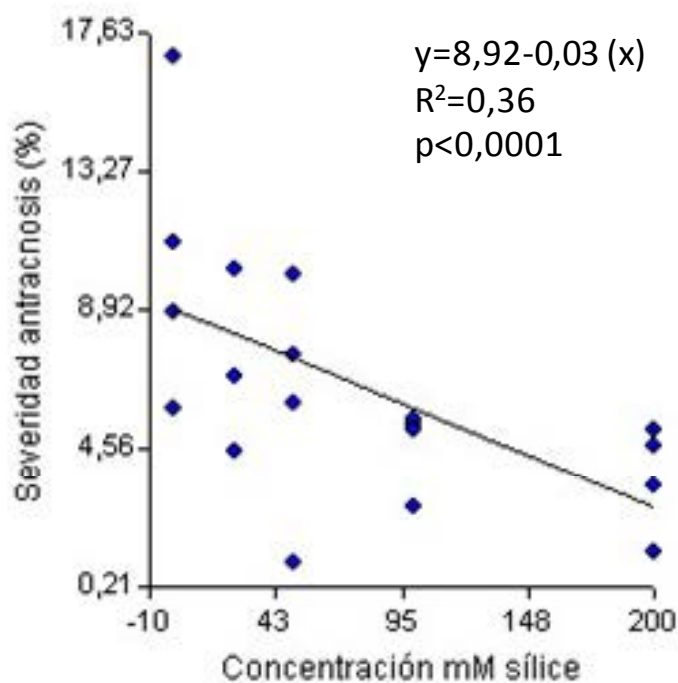


Figura 6. Comportamiento de la severidad de *C. gloeosporioides*, en mango según dosis de sílice aplicadas 24 horas antes de las inoculaciones con el hongo, después de permanecer los frutos en almacenamiento a $11 \pm 2^\circ \text{C}$ y evaluados 7 días después de permanecer a temperatura ambiente.

4.4 Efectos de las aplicaciones de sílice en fruta de mango sobre la incidencia de *L. theobromae*

Para el caso de pudrición peduncular no se encontraron diferencias si la aplicación de los tratamientos se hacía antes o después de las inoculaciones (Anexo, cuadros 8, 9, 10).

Durante la primera evaluación a salida de cámara, solo los tratamientos de 50 mM Si (2,08%) y el testigo absoluto (8,35%) presentaron incidencia de *L. theobromae* (Fig. 7), el resto de los tratamientos no presentaban síntomas de la enfermedad.

En la segunda evaluación, la incidencia, presentó los menores valores cuando se aplicó sílice a 25 mM Si, 200 mM Si, en esta fecha se encontró un valor significativo para la interacción entre el momento de aplicación y las dosis de sílice (Anexo cuadro 9), sin embargo al hacer el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

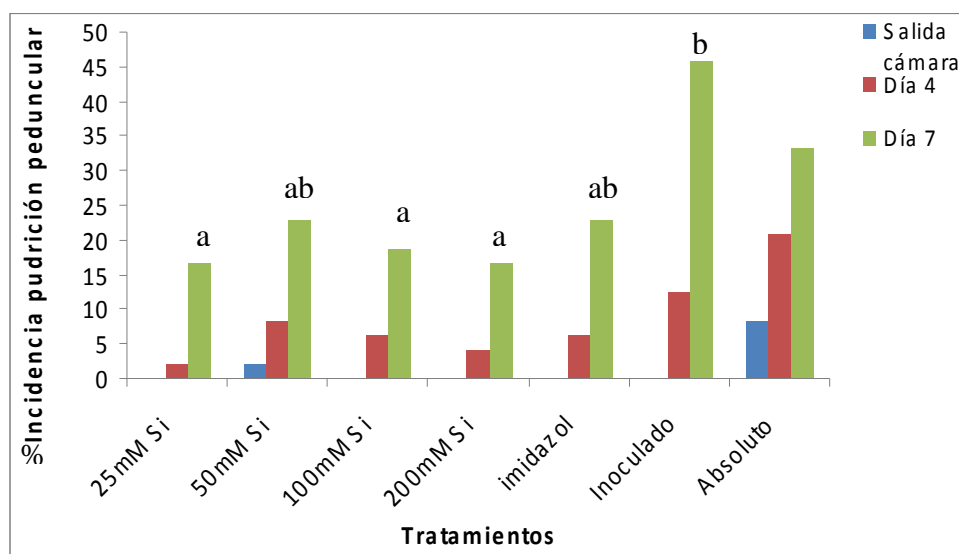


Figura 7. Resultados de los tratamientos de sílice e imidazol en frutas de mango sobre la incidencia de *L. theobromae*, después de permanecer en almacenamiento a $11 \pm 2^\circ \text{C}$ y evaluados a la salida de cámara, 4 días y 7 días después de permanecer a temperatura ambiente. Para el análisis estadístico no se incluyó el testigo absoluto y se graficaron los datos sin transformar.

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

A los 7 días después de salida de cámara, los tratamientos con menor incidencia fueron 200 mM Si (16,7%), seguido de 100 mM (18,76%) y 25 mM Si (16,7%), los cuales presentaron diferencias estadísticas con el testigo inoculado, el imidazol obtuvo un valor superior a los tratamientos con sílice y no se diferenció estadísticamente del testigo inoculado. Se encontró que la disminución en la incidencia de la pudrición conforme se aumentó la concentración se representa por medio de la ecuación $y = 31,04 - 0,009(x)$, con un $R^2 = 0,22$ y una $p < 0,0001$.

4.5 Efectos del sílice en la calidad poscosecha de frutos.

Según Piñeda (2002), los valores de brix o sólidos solubles que corresponde al contenido de azúcar en mango deben encontrarse entre 13 y 14 grados en estado maduro. En el cuadro 1 se puede notar que los datos de los análisis estuvieron en ese rango, oscilando entre 12,6 (testigo inoculado), y 14,1 (50 mM Si). El promedio para los frutos inoculados con *C. gloeosporioides* fue de 13,4% grados brix. En el caso de firmeza, se dio una diferencia en el momento de la aplicación obteniéndose menores valores en los tratamientos que se aplicaron antes de la inoculación (Anexo, cuadro 12), sin embargo, no se encontró diferencias entre las dosis de sílice aplicadas. Los valores de firmeza oscilaron entre 17,78 N (25 mM Si) y 23,06 N (50 mM Si), y el promedio de firmeza fue de 20 N, el cual según Osuna (2005) es el valor óptimo para esta variable.

Cuadro 1. Resultados de los tratamientos de sílice e imidazol en frutas de mango inoculadas con *C. gloeosporioides*, sobre variables de calidad poscosecha, evaluadas después de 15 días de almacenamiento a $11 \pm 2^\circ$ C y 4 días a temperatura ambiente (aproximadamente 25° C).

Tratamiento	Brix	Firmeza
25mM Si	13,24	17,78
50mM Si	14,10	23,06
100m M Si	12,92	18,16
200m M Si	13,87	21,59
imidazol	13,47	18,06
Testigo Inoculado	12,64	19,31
Testigo absoluto	13,49	22,44

En el caso de color, para su análisis se consideran tres elementos (cuadro 3), “a”, el cual corresponde a la cromaticidad en el eje de verde a rojo, “b” que es el eje de azul a amarillo y “L” que corresponde a la luminosidad (Russián y Manzano, 2003). Para los frutos inoculados con *C. gloeosporioides*, para “a”, tanto color externo como interno, se presentaron diferencias significativas para el momento de la aplicación, con menor valor cuando esta se hizo antes de inocular la fruta, sin embargo, no se obtuvieron diferencias entre tratamientos. La diferencia entre el color externo e interno radica en el valor de la variable “b”, la cual es mayor en color interno, lo que significa que tiene mayor proporción de amarillo que de verde.

Cuadro 2. Resultados de los tratamientos de sílice e imidazol, en frutas de mango inoculadas *C. gloeosporioides*, sobre los componentes de color y evaluadas después de 15 días de almacenamiento a $11\pm 2^\circ$ C y 4 días a temperatura ambiente (aproximadamente 25° C).

Tratamientos	Color Externo			Color Interno		
	L	a	b	L	a	b
25mM Si	54,52	5,72	34,26	65,60	5,36	64,44
50mM Si	57,24	6,55	36,13	64,58	5,61	63,40
100mM Si	56,05	8,47	35,52	64,60	5,80	63,72
200mM Si	55,45	5,41	33,50	63,86	5,29	62,39
imidazol	56,28	9,90	38,72	66,18	5,05	64,28
Testigo Inoculado	57,04	6,01	37,32	65,17	6,75	65,98
Testigo absoluto	55,70	2,83	35,41	64,04	5,33	63,25

En el ensayo de *L. theobromae* (cuadro 3), los valores de brix y firmeza de los frutos de mango fueron muy parecidos al ensayo con *C. gloeosporioides*. Para brix el promedio general fue de 13,5%, el valor más bajo para esta variable se presentó en el tratamiento de 100 mM Si, y fue de 12,98% y el mayor fue de 14,02% para el tratamiento de 200 mM Si. En el caso de firmeza los valores estuvieron entre 21,34 (100 mM Si) y 24,75 (50 mM Si).

Cuadro 3. Resultados de los diferentes tratamientos de sílice e imidazol, en frutas de mango inoculados con *L. theobromae*, sobre variables de calidad poscosecha, evaluadas después de 15 días de almacenamiento a $11\pm 2^\circ\text{C}$ y 4 días a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C).

Tratamientos	Brix	Firmeza
25mM Si	13,44	24,22
50mM Si	13,61	24,75
100mM Si	12,98	21,34
200mM Si	14,02	21,56
imidazol	13,39	21,69
Testigo Inoculado	13,69	23,81
Testigo absoluto	13,40	22,43

Para el color externo (cuadro 4), la variable “a” presentó diferencias entre tratamientos en donde la dosis de 100 mM Si, presentó el menor valor y se diferenció de la dosis de 200 mM Si, que presentó el mayor valor, pero sin diferencias estadísticas del resto de los tratamientos, sin embargo, debido a que esta variable depende de dos elementos más, el nombre del color se mantiene en anaranjado grisáceo débil.

Cuadro 4. Resultados de los tratamientos de sílice e imidazol, en frutas de mango inoculados con *L. theobromae*, sobre los componentes de color evaluadas después de 15 días de almacenamiento a $11\pm 2^\circ\text{C}$ y 4 días a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C). Para el análisis estadístico no se incluyó el testigo absoluto.

Tratamientos	Color Externo			Color Interno		
	L	a	b	L	a	b
25mM Si	57,06	5,56 ab	37,06	66,28	4,78	62,54
50mM Si	55,86	6,64 ab	36,65	64,34	4,80	63,70
100mM Si	55,17	4,29 a	35,13	67,60	5,45	65,38
200mM Si	57,49	10,09 b	38,90	65,00	5,39	63,45
imidazol	57,08	5,66 ab	37,00	68,39	4,10	63,79
Testigo Inoculado	57,14	6,39 ab	37,27	67,35	5,55	64,78
Testigo absoluto	55,70	2,83	35,41	64,04	5,33	63,25

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

CAPITULO 5

DISCUSIÓN

5.1 Determinación del efecto *in vitro* del sílice sobre el crecimiento del micelio *C. gloeosporioides* y *L. theobromae*.

En los resultados obtenidos para crecimiento de micelio, las concentraciones mayores a 50 mM Si, inhibió por completo el crecimiento de los hongos tanto de *C. gloeosporioides* como de *L. theobromae*. Estos resultados concuerdan con los observados por Bi *et al.*, (2006) quienes trabajaron con los hongos *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp. y *Trichothecium roseum* y Guo *et al.*, (2007), que realizaron investigaciones con *Trichothecium roseum*. En ambos ensayos incorporaron al PDA diferentes dosis de sílice (25, 50, 100 y 200 mM Si), encontrando que el crecimiento de los hongos se vio inhibido a partir de 100 mM Si en el caso del ensayo de Bi *et al.*, (2006); pero en Guo *et al.*, (2007) no se presentaron diferencias significativas entre las dosis utilizadas (50, 100 y 200 mM Si). Bi *et al.*, (2006) transfirieron los hongos a un medio libre de sílice y estos crecieron sin problema. Los autores proponen que el efecto del sílice es fungistático y no fungicida y que su efecto al parecer es una reducción de la presión de turgencia en las células del hongo, lo que resulta en un colapso y contracción de la hifa y espóra.

5.2 Determinación del efecto *in vitro* del sílice sobre la germinación de esporas de *C. gloeosporioides*

La germinación de esporas de *C. gloeosporoides* también se vio inhibida conforme aumento la dosis de sílice hasta llegar a una inhibición del 100% con la dosis de 100 mM Si, excepto para la dosis de 1 mM Si, la cual se vio ligeramente estimulada por el sílice, esto coincide con los resultados de Bekker *et al.* (2009) quienes proponen que es posible que el sílice en bajas concentraciones haya servido como un sustrato. También Li *et al.* (2009) encontraron que las dosis de 25, 50, 100 y 200 mM Si, inhibieron la germinación de *Fusarium sulphreum* en tubérculos de papa, en este ensayo los autores ajustaron el pH de las soluciones de silicato de sodio a 7 con 0,1 M HCL, en el presente ensayo no se realizó ajuste de pH de las soluciones de sílice (Anexo, cuadro 1). En relación a la acción del sílice,

Li *et al.* (2009) realizaron observaciones del micelio y esporas de *Fusarium sulphreum* con microscopio electrónico y observaron cambios morfológicos en las hifas como hinchazón, rompimiento y deformidades también se dieron cambios ultra estructurales que incluían distorsión de la cavidad celular, principalmente en la pared celular de la hifa.

Bekker, *et al.*, (2009), demostraron que el silicato de potasio a nivel *in vitro* adicionado en un medio de PDA inhibe el desarrollo de hongos a concentraciones mayores a 40 ml/L Si con pH 11,5, observando que se presentó una inhibición del 100% de *C. gloeosporioides* a 20 ml/L Si (pH 11,2). Cuando los autores usaron KOH como testigo para evaluar si el efecto se debía al pH, el crecimiento del micelio de los hongos fue inconsistente. Bekker *et al.* (2009) propusieron que la inhibición se debió al silicato de potasio y plantean que el sílice podría actuar como una barrera que inhibe la colonización de los hongos, sin embargo también existen compuestos en el fruto que pueden interactuar con las sales para evitar el desarrollo de los hongos, como se ha experimentado en sales de carbonato y bicarbonato (Similanick *et al.*, 1999).

5.3 Determinación del efecto de la aplicación de sílice en frutos de mango, sobre el desarrollo de la pudrición causada por *C. gloeosporioides* y *L. theobromae*

En los ensayos realizados en fruta sobre la incidencia y severidad de *C. gloeosporioides*, se demostró que el tratamiento que mejor controló esta enfermedad fue el imidazol, lo cual indica que este fungicida todavía mantiene su efecto poscosecha, aunque en el caso de la pudrición basal, las aplicaciones no se diferenciaron del testigo inoculado, lo cual concuerda con lo propuesto por Johnson *et al.* (1990) al afirmar que este fungicida no prevé un buen control contra pudrición basal, pero si contra antracnosis.

Para los tratamientos de sílice en fruta de mango no se encontraron diferencias con el testigo inoculado, aunque en el ensayo de *C. gloeosporioides*, se observó que la incidencia y severidad eran menores cuando las aplicaciones de sílice se realizaron antes de la inoculación, resultados similares fueron obtenidos por Bi *et al.*, (2006) en ensayos de melón de la variedad Hami, en los cuales la dosis de 100 mM Si aplicada antes de la inoculación con *Trichothecium roseum*, tuvo menor incidencia y severidad que el

tratamiento control. En el presente estudio, la dosis que mejor controló la severidad de antracnosis fue 200 mM Si cuando se aplicó 24 horas antes de la inoculación. En otro ensayo de melón pero de la variedad Cantolupe realizado por Guo *et al.* (2007), encontraron que las dosis de sílice 50, 100 y 200 mM Si, disminuyeron significativamente las lesiones causadas por el hongo *T. roseum*. Tanto Bi *et al.* (2006) como Guo *et al.* (2007), atribuyen esta inhibición en la incidencia y severidad a un aumento en la actividad de las enzimas peroxidasa y quitinasa. También en manzana el silicato de calcio logró reducir en un 17% las lesiones causadas por *C. gloeosporioides* y en *C. acutatum* retrasó la formación de acérvulos en comparación con el testigo (Biggs, 2004).

En el caso de *L. theobromae* se encontró que las dosis de 200, 100 y 25 mM Si, tuvieron un mejor control que el imidazol, en la evaluación realizada a los 7 días de permanecer a temperatura ambiente. Esto es importante ya que no se encontró en las bases de datos consultadas literatura que haga referencia al efecto del sílice sobre esta enfermedad, aunque Bi *et al.* (2006), opinan que el sílice posee un amplio espectro, debido a que en una investigación evaluaron el efecto de las aplicaciones de sílice, encontraron que estas fueron efectivas para controlar enfermedades causadas por *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp. y *Trichothecium roseum*.

Otro dato importante a tomar en cuenta es el hecho de que, la fruta de mango era de verano por lo que se esperaba que tuviera menor incidencia de enfermedades (Arauz *et al.*, 1994), sin embargo, el testigo absoluto presentó un valor de incidencia del 70% para antracnosis (Fig. 4) y para la pudrición basal 30% (Fig. 8), esto pudo haber tenido algún efecto sobre los tratamientos, y ser un indicador de que el sílice es poco efectivo sobre este tipo de infecciones, por lo que es posible que se requiera hacer aplicaciones en campo antes de que se desarrollen las infecciones. Oliver *et al.* (1998) al trabajar con tubérculos de papa con lesiones causadas por *Helminthosporium solani*, observaron que cuando el tubérculo provenía de campo, presentaba lesiones ya avanzadas por lo cual la severidad era mayor e interfería en el efecto de los tratamientos.

Hasta ahora no se conoce el mecanismo exacto que interviene en la interacción de las enfermedades con el sílice (Li *et al.*, 2009), sin embargo existen dos teorías o tendencias

que explican el efecto del sílice en la supresión de las enfermedades. Una de ellas es que al ser un elemento que forma parte de la pared celular, si se realizan aplicaciones externas esto reforzaría la epidermis lo que impediría el ingreso de los patógenos (Jones y Handreck 1967 citado por Epstein, 1999). Sin embargo, también existe mucha evidencia del efecto del sílice sobre los mecanismos naturales de defensa en las plantas (Fawe *et al.*, 1998, Fauteux *et al.*, 2005), como por ejemplo la estimulación de precursores de fitoalexinas (Fawe *et al.*, 1998, Ghanmi *et al.*, 2004,) y aumento de la actividad de enzimas como peroxidasa y quitinasa. (Bi *et al.*, 2006 y Guo *et al.*, 2007). Para este ensayo la incidencia fue significativa en el ensayo de *L. theobromae*, pero para *C. gloeosporioides* no se presentaron diferencias aunque si se observó un efecto del sílice en la disminución de la severidad de antracnosis (Fig.7), estos efectos se pudieron deber a los mecanismos mencionados anteriormente.

5.4 Efectos del sílice en la calidad poscosecha de frutos de mango.

En el caso de brix o % de sólidos solubles los valores fueron óptimos y se encontraron entre 12,6 y 13,8, comercialmente este valor debe estar alrededor de 13 y 14 grados para mango de exportación (Piñeda 2002 y Martínez 2006). Para el ensayo de antracnosis la firmeza presentó un menor valor cuando los tratamientos se aplicaron antes de la inoculación, sin embargo los valores se mantuvieron dentro de los rangos deseados para esta variable, los cuales deben de tener como mínimo un valor de 20 N (Krichnamurty y Subramayan 1973, citados por Carrillo *et al.*, 2005 y Osuna, 2005), en el caso de pudrición basal no se observaron diferencias.

En el caso del color (interno y externo), el cual es una variable de suma importancia ya que es por medio de esta que el consumidor se guía en la compra de la fruta, solo la variable “a”, para color externo e interno en el ensayo de antracnosis y color externo para pudrición basal, se vio afectada por los tratamientos. En ambos ensayos esta variable fue menor cuando las aplicaciones se realizaron antes de la inoculación, pero al ser solo uno de los elementos de medición del color, este resultado no influyó en el color general de los frutos de mango tanto interno como externo. En los ensayos con aplicaciones foliares de sílice en frutas, no se ha estudiado el efecto de este sobre las variables de calidad poscosecha (brix,

firmeza, color interno y externo) (Biggs 2004, 1999 y 1997, Tian *et al.*, 2005, Guo *et al.*, 2007 y Li *et al.*, 2009), solo Bi *et al.* (2006), mencionaron que la dosis de 200 mM Si resulto tóxica para melones de la variedad Hami, originando zonas hundidas en la corteza, de aproximadamente 1 a 3 mm de profundidad, de coloración café.

CAPITULO 6

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se concluyó que a nivel *in vitro* la eficacia del sílice en la supresión del crecimiento del micelio tanto de *C. gloeosporioides* como de *L. theobromae* fue significativa a partir de la dosis de 50 mM Si.

También la germinación de esporas de *C. gloeosporioides* se vio afectadas por los tratamientos de sílice, en los cuales las dosis de 50 y 100 mM Si impidieron por completo la germinación.

En el caso de la incidencia y severidad de *C. gloeosporioides*, el análisis de varianza no reflejó diferencias significativas de los tratamientos de sílice con el testigo inoculado, aunque en severidad se observó una disminución conforme aumentó la dosis de sílice en los tratamientos aplicados antes de la inoculación.

Para la incidencia de *L. theobromae*, las dosis de 200 mM, 100 mM y 25 mM Si tuvieron un mejor control que el tratamiento comercial (imidazol), y estas dosis se diferenciaron estadísticamente del testigo inoculado.

Los tratamientos de sílice, no afectaron la calidad poscosecha de la fruta de mango en ninguna de las variables evaluadas (brix, firmeza, color externo y color interno).

Se recomienda realizar aplicaciones en campo para evaluar el efecto precosecha del sílice sobre el desarrollo de las infecciones de *C. gloeosporioides* y *L. theobromae*.

Asimismo se recomienda realizar pruebas donde se aumente la dosis de sílice, para corroborar los resultados obtenidos de disminución de severidad de antracnosis e incidencia de pudrición peduncular.

También combinar diferentes dosis de sílice con fungicidas poscosecha, con el objetivo de estudiar si se pueden reducir dosis.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G.N. 1991. Fitopatología. 2 ed. México D.F, Mex., Limusa. 756 p.
- Arauz, L. F. y Mora, D. 1983. Evaluación preliminar de los problemas postcosecha en seis frutas tropicales de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. 7(1/2):43-53.
- Arauz, L. F. y Umaña, G. 1986. Diagnóstico e incidencia de las enfermedades poscosecha del mango en Costa Rica. *Revista Agronomía Costarricense* 10 (1/2): 89-99.
- Arauz, F., Wang, A., Duran, J.A., y Monterrey, M. 1994. Causas y pérdidas poscosecha de mango a nivel mayorista en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 18 (1): 47-51.
- Arauz, L. F. 1995. Combate de antracnosis en mango. Memoria 2do Seminario Internacional del cultivo del mango. Puntarenas, Costa Rica. 56-70 p.
- Arauz, L.F. 1998. Fitopatología: un enfoque agroecológico. 1. ed. San José, Costa Rica. Editorial de la Universidad de Costa Rica. 467 p.
- Arauz, L.F. 2000. Mango Anthracnose: Economic Impact and Current Options for Integrated Management. *Plant Disease*. 84: 598-611.
- Barquero, C. E. 2000. Determinación de la sensibilidad a benomil en poblaciones de *Colletotrichum gloesporioides* aislado de mango (*Mangifera indica*) en Costa Rica. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. p. 42.
- Bekker, T.F., Kaiser C. Y Labuschagne N. 2009. The antifungal activity of potassium silicate and the role of pH againsts selected plant pathogenic fungi *in vitro*. *South African Journal of Plant and soil*. 26(1): 55-57.
- Bi, Y., Tian, S.P., Guo, Y.H. y Qin, G. 2006. Sodium silicate reduces postharvest decay on Hami Melons: induced resistance and fungistatic effects. *Plant Disease*. 90(3): 279-283.
- Biggs, A. R., El-Kholi, M.M., El-Neshawy, S. y Nickerson, R. 1997. Effects of calcium salts on growth, polygalacturonase activity, and infection of peach fruit by *Monilinia fructicola*. *Plant Disease* 81: 399-403.
- Biggs, A. R. 1999. Effect of calcium salts on apple bitter rot caused by two *Colletotrichum* spp. *Plant Disease*. 83: 1001-1005.
- Biggs, A. R. 2004. Effect of inoculum concentration and calcium salts on infection of apple fruit by *Botryosphaeria dothidea*. *Plant Disease*. 88: 147-151.

- Carrillo, A. J., García R.S., Muy-Rangel M.D., Sañudo A. Marquez I. Allende R., García Z., Patiño M. y Galindo E. 2005. Control biológico de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc) y su efecto en la calidad poscosecha del mango (*Mangifera Indica*) en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* (23): 24-32.
- Ceciliano, R. 1998. Determinación de sustancias fenólicas en la cáscara de mango (*Mangifera indica*) y su efecto fungitóxico sobre la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*). Tesis Ing. Agr., San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 74 p.
- Cuendis, B.E. 1988. Tratamientos de Inmersión con tres Fungicidas y agua caliente para el combate de Enfermedades Poscosecha en Mango (*Mangifera indica* L.). Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 111 p.
- Epstein, E. 1999. Silicon. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50, 641-664.
- Epstein, E. 2001. Silicon in plants: Facts vs. Concepts. Silicon in Agriculture. In: Datnoff LE, Snyder GH, Korndorfer GH, editors. Silicon in agriculture. Amsterdam: Elsevier.
- Fauteux, F., Rémus-Borel, W., Menzies, J. G. y Bélanger, R. R. 2005. Silicon and plant disease against pathogenic fungi. *FEMS Microbiology Letters*. 249: 1-6.
- Fawe, A., Abou-Zaid, M., Menzies, J.G. y Bélanger R.R. 1998. Silicon-Mediated Accumulation of Flavonoid Phytoalexins in Cucumber. *Phytopathology* 88: 396-401.
- French, E.R., y Herbert T.T. 1980. Métodos de Investigación Fitopatológica. Instituto Interamericano de Ciencias Agrarias. San José, Costa Rica. 289 p.
- Ghanmi, D., McNally, D.J., Benhamou, N., Menzies, J.G. y Bélanger, R.R. 2004. Powdery mildew of *Arabidopsis thaliana*: a pathosystem for exploring the role of silicon in plant-microtubule interactions. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 64: 189-199.
- González, E. 1997. Epidemiología y combate cultural de la pudrición peduncular del mango causada por *Botryodiplodia theobromae*. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 57 p.
- González, E., Umaña, G. y Arauz, L.F. 1999. Fluctuación poblacional de *Botryodiplodia theobromae* Pat. en mango. *Agronomía Costarricense* 23(1): 21-29.
- Govender, V. y Korsten, L. 2006. Evaluation of different formulations of *Bacillus licheniformis* in mango pack house trials. *Biological Control* 37: 237-242.

- Guo, Y., Liu, L., Zhao, J., y Bi, Y. 2007. Use of silicon oxide and sodium silicate for controlling *Trichothecium roseum* postharvest rot in Chinese cantaloupe (*Cucumis melo* L.). *Internacional Journal of Food Science and Technology*. 42: 1012-1018.
- Hutcheson, S.W. 1999. Current concepts of active defense in plants. *Annual Review Phytopathology*. 36: 59-90.
- Jonh, R., Ukness, S. y Ward, E. 1994. Systemic acquired resistance. *Plant Physiology*. 104: 1109-1112.
- Jonhson, G.I., Sangchote, S. y Cooke, A.W. 1990. Control of stem end rot (*Dothiorella dominicana*) and other postharvest disease of mangoes (cv. Kensington Pride) during short and long term storage. *Tropical Agriculture*. 67: 183-187.
- Li Y., Bi Y., Ge Y.H., Sun X.J. y Wang Y. 2009 Antifungal Activity of Sodium Silicate on *Fusarium sulphureum* and Its Effect on Dry Rot of Potato Tubers. *Journal of Food Science* 74(5):213-218
- Ma, J.F. y Yamaji, N. 2006. Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends in Plant Science*. 11 (8): 392-397.
- Ma, J.F. y Yamaji, N. 2008. Functions and transport of silicon in plants. *Cellular and Molecular Life Sciencis*. 65: 3049-3057
- Madrigal, R. 1997. Evaluación de la sensibilidad del hongo *Colletotritrum gloeosporioides* al prochloraz, en cultivos de mango y papaya. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 64 p
- Martínez C.M., Sánchez A. y Hernandez C.A. 2006. Tecnología del manejo poscosecha del mango (*Manguifera indica* L.) para el mercado fresco. *Centro Agrícola*. 33 (2):23-32.
- Maschner, H. 1990 *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press Inc. San Diego, CA. 631 p.
- McAvoy, R. J. y Bible, B. B. 1996. Silica sprays reduce the incidente and severity of bract necrosis in Poinsettia. *HortScience*. 31 (7): 1146-1149.
- Menzies, J. G., Ehret, D.L., Glass, A.D.M. y Samuels A.L. 1991. The influence of silicon on cytological interactions between *Sphaerotheca fuligea* y *Cucumis sativus*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 39: 403-414.
- Menzies, J. G., Bowen, P. Ehret, D. y Glass, A.D.M. 1992. Foliar applications of Potassium silicate reduce severity of powdery mildew on cucumber, muskmelon, and zucchini squash. *Journal of American Society Horticultural Science*. 117 (6): 902-905.

- Molina, E., Ponce de León, L., Diaz de León, F., Kerbel C. y Pérez L. 1996. Fundamentos fisiológicos de la calidad poscosecha del mango. *Ciencia*. 47: 138-148.
- Montero, M.E. y Cerdas, M.M. 2000. Manejo poscosecha del mango para el mercado fresco. Centro de Investigaciones Agronómicas, Laboratorio de Tecnología Poscosecha. 1. ed. San José, Costa Rica. 220 p.
- Mora, J., Gamboa, J. y Elizondo, R. 2002. Guía para el cultivo del mango (*Mangifera indica*) en Costa Rica. MAG. San José, Costa Rica. 80 p
- Muñoz, C. 1998 Caracterización morfológica y bioquímica de aislamientos de *Colletotrichum* spp., provenientes de diferentes hospederos y su patogenicidad en mango (*Mangifera indica* L.). Tesis de maestría Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica 43 p.
- Oliver C., Halseth D.E., Mizubuti E.S.G., y Loria R. 1998. Postharvest application of organic and inorganic salts for suppression of silver scurf on potato tubers. *Plant Disease* 82: 213-217.
- Osuna, T. 2005. Calidad poscosecha y vida de anaquel en frutos del banco de germoplasma de la zona centro (Aguaruto) y sur (Chametla) del estado de Sinaloa: Mango y otros frutales. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Culiacán, México. In:
<http://www.ciad.edu.mx/salima/display1.asp?func=display&resid=281&tree=0>
- Pereira, T.H., Campos, F., Gontijo, P.T., Pereira, P. y Ribeiro C. 2008. Effect of silicon soluble association with fungicide in coffee (*Coffea arabica* L.) crop disease and pest control. *Coffee Science*, Lavras. 3 (1): 76-80.
- Piñeda R. 2002. Ficha técnica de Industrialización de Mango. Consejo Nacional de Producción (CNP). San José Costa Rica in:
http://www.fintrac.com/docs/elsalvador/boletin_tecnico_16_procesamiento_mango_product.pdf
- Porras, A. 2006. Mango: análisis de mercado. Boletín 2, año 2. En:
http://www.mercanet.cnp.go.cr/SIM/Frutas_y_Vegetales/documentospdf/Mango.pdf
- Ríos, R. 1999. Evaluación de la eficacia de estrategias de combate de la antracnosis (*Colletotrichum gloesporioides*) y pudrición peduncular (*Lasiodyplodia theobromae*) en mango (*Mangifera indica*), cv. Tommy Atkins y su relación con el potencial de infección y condiciones ambientales. Tesis de maestría Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 98 p.

- Rojas, R.F. 1993. Estudio de la variación estacional de nutrientes en los cultivares de Mango Irwin y Tommy Atkins, entre los meses de octubre a marzo en las zonas de Atenas, Orotina y Liberia. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 118 p.
- Russián, T., y Manzano, J. 2003. Influencia de la Temperatura sobre la calidad del fruto del mango “Pico de loro” durante el almacenamiento. *Agronomía Tropical* 53 (1): 59-72.
- Ryal, J., Uknes, S., y Ward, E. 1994. Systemic Acquired resistance. *Plant Physiology* 104: 1109-1112
- Samuels, A.L., Glass, A.D.M., Ehret, D.L., y Menzies J.G. 1993. The effects of silicon supplementation on Cucumber Fruit: Changes in Surface Characteristics. *Annals of Botany* 72: 433-440.
- Similanick J.L., Margosan D.A., Mikota F., Usall, J., y 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 Disease*. 83: 139-145.
- Tian, S., Qin, G. y Yong, X. 2005. Synergistic effects of combining biocontrol agents with silicon against postharvest diseases of jujube fruit. *Journal of Food Protection*. 68 (3): 544-550.

ANEXO

Cuadro 1. Valores de pH, según las concentraciones de sílice

Dosis de sílice	pH
0,5 Mm Si	9,97
5 mM Si	11,72
12,5 mM Si	12,24
25 mM Si	12,43
50 mM Si	12,62
100 mM Si	12,8

Análisis de varianza

Cuadro 2. Análisis de la varianza del ensayo de incidencia de *C. gloeosporioides*, para la evaluación a salida de cámara.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ASEN_Conversion inci	48	0,32	0,11	76,17

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,49	11	0,14	1,55	0,1559
Aplicación	0,92	1	0,92	10,52	0,0026
Producto	0,27	5	0,05	0,61	0,6939
Aplic*Producto	0,31	5	0,06	0,70	0,6247
Error	3,15	36	0,09		
Total	4,65	47			

Test: Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,17332

Error: 0,0875 gl: 36

Aplicación	Medias	n
24 h antes	0,25	24
24 h después	0,53	24

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Test: Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,44559

Error: 0,0875 gl: 36

Producto	Medias	n
imidazol	0,26	8
25mM Si	0,34	8
100mM Si	0,38	8
Testigo inoculado	0,41	8
50mM Si	0,46	8
200mM Si	0,49	8

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Cuadro 3. Análisis de la varianza del ensayo de incidencia de *C. gloeosporioides*, para la evaluación a los 4 días de permanecer a temperatura ambiente.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ASEN_Conversion inci	48	0,34	0,13	51,32

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,61	11	0,15	1,65	0,1258
Aplicación	0,16	1	0,16	1,78	0,1909
Producto	1,08	5	0,22	2,44	0,0532
Aplic*Producto	0,37	5	0,07	0,84	0,5294
Error	3,20	36	0,09		
Total	4,81	47			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,17466

Error: 0,0889 gl: 36

Aplicación	Medias	n	
24 h después	0,52	24	A
24 h antes	0,64	24	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,44904

Error: 0,0889 gl: 36

Producto	Medias	n	
imidazol	0,33	8	A
200mM Si	0,46	8	A
50mM Si	0,54	8	A
100mM Si	0,68	8	A
25mM Si	0,74	8	A
Testigo inoculado	0,74	8	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Cuadro 4. Análisis de la varianza del ensayo de incidencia de *C. gloeosporioides*, para la evaluación a los 7 días de permanecer a temperatura ambiente.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ASEN_Conversion inci	48	0,70	0,61	23,42

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,69	11	0,43	7,57	<0,0001
Aplic	0,47	1	0,47	8,41	0,0063
Producto	3,85	5	0,77	13,66	<0,0001
Aplic*Producto	0,37	5	0,07	1,32	0,2783
Error	2,03	36	0,06		
Total	6,72	47			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,13909

Error: 0,0564 gl: 36

Aplicación	Medias	n	
24 h antes	0,91	24	A
24 h después	1,11	24	B

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,35758

Error: 0,0564 gl: 36

Producto	Medias	n		
imidazol	0,44	8	A	
50mM Si	0,87	8		B
Testigo inoculado	1,16	8		B C
200mM Si	1,16	8		B C
25mM Si	1,19	8		B C
100mM Si	1,26	8		C

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Cuadro 5. Análisis de la varianza del ensayo de severidad de *C. gloeosporioides*, para la evaluación a salida de cámara.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Severidad	288	0,04	5,0E-03	398,48

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,76	11	0,16	1,13	0,3372
Aplicación	0,96	1	0,96	6,76	0,0098
Producto	0,36	5	0,07	0,50	0,7731
Aplicac*Producto	0,45	5	0,09	0,63	0,6757
Error	39,09	276	0,14		
Total	40,85	287			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,08813

Error: 0,1416 gl: 276

Aplicación	Medias	n	
24 h antes	0,04	144	A
24 h después	0,15	144	B

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,22369

Error: 0,1416 gl: 276

Producto	Medias	n	
200mM Si	0,04	48	A
imidazol	0,05	48	A
Testigo inoculado	0,10	48	A
25mM Si	0,11	48	A
100mM Si	0,12	48	A
50mM Si	0,14	48	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Cuadro 6. Análisis de la varianza del ensayo de severidad de *C. gloeosporioides*, para la evaluación a los 4 días de permanecer a temperatura ambiente.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Severidad	288	0,04	2,8E-03	339,54

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	31,14	11	2,83	1,07	0,3823
Aplicación	0,02	1	0,02	0,01	0,9393
Producto	6,57	5	1,31	0,50	0,7772
Aplic*Producto	24,55	5	4,91	1,86	0,1009
Error	727,40	276	2,64		
Total	758,53	287			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,38015

Error: 2,6355 gl: 276

Aplicación	Medias	n	
24 h antes	0,47	144	A
24 h después	0,49	144	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,96493

Error: 2,6355 gl: 276

Producto	Medias	n	
imidazol	0,21	48	A
200mM Si	0,41	48	A
Testigo inoculado	0,48	48	A
50mM Si	0,49	48	A
25mM Si	0,58	48	A
100mM Si	0,70	48	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Cuadro 7. Análisis de la varianza del ensayo de severidad de *C. gloeosporioides*, para la evaluación a los 7 días de permanecer a temperatura ambiente.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Severidad	288	0,13	0,09	132,41

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3459,21	11	314,47	3,62	0,0001
Aplicación	510,93	1	510,93	5,88	0,0159
Producto	2550,40	5	510,08	5,87	<0,0001
Aplic*Produc	397,88	5	79,58	0,92	0,4707
Error	23965,27	276	86,83		
Total	27424,47	287			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=2,18203

Error: 86,8307 gl: 276

Aplicación	Medias	n	
24 h antes	5,71	144	A
24 h después	8,37	144	B

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=5,53863

Error: 86,8307 gl: 276

Producto	Medias	n		
imidazol	1,23	48	A	
200mM Si	5,96	48	A	B
50mM Si	7,31	48		B
100mM Si	7,92	48		B
25mM Si	9,17	48		B
Testigo inoculado	10,63	48		B

Letras distintas indican diferencias significativas($p <= 0,05$)

Cuadro 8. Análisis de la varianza del ensayo de incidencia de *L. theobromae*, para la evaluación a salida de cámara

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
raiz cuadrada incid	48	0,23	0,00	43,39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,36	11	0,21	1,00	0,4653
Aplicación	0,21	1	0,21	1,00	0,3240
Producto	1,07	5	0,21	1,00	0,4317
Aplic*Producto	1,07	5	0,21	1,00	0,4317
Error	7,71	36	0,21		
Total	10,07	47			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,27119

Error: 0,2143 gl: 36

Aplicación	Medias	n	
24 h después	1,00	24	A
24 h antes	1,13	24	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p <= 0,05$)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,69721

Error: 0,2143 gl: 36

Producto	Medias	n	
Testigo inoculado	1,00	8	A
imidazol	1,00	8	A
25mM Si	1,00	8	A
100mM Si	1,00	8	A
200mM Si	1,00	8	A
50mM Si	1,40	8	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p <= 0,05$)

Cuadro 9. Análisis de la varianza del ensayo de incidencia de *L. theobromae*, para la evaluación a los 4 días de permanecer a temperatura ambiente

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
raiz cuadrada incid	48	0,42	0,24	66,04

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	55,51	11	5,05	2,38	0,0247
Aplicación	5,36	1	5,36	2,53	0,1206
Producto	18,64	5	3,73	1,76	0,1463
Aplicación*Producto	31,51	5	6,30	2,97	0,0240
Error	76,30	36	2,12		
Total	131,81	47			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,85289

Error: 2,1195 gl: 36

Aplicación	Medias	n	
24 h después	1,87	24	A
24 h antes	2,54	24	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)**Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=2,19271**

Error: 2,1195 gl: 36

Producto	Medias	n	
25mM Si	1,40	8	A
200mM Si	1,80	8	A
imidazol	2,01	8	A
100mM Si	2,20	8	A
50mM Si	2,41	8	A
Testigo inoculado	3,41	8	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)**Análisis de la varianza**

Aplicación	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
24 h antes	raiz cuadrada incid	24	0,38	0,21	61,06

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	26,37	5	5,27	2,19	0,1002
Producto	26,37	5	5,27	2,19	0,1002
Error	43,26	18	2,40		
Total	69,62	23			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=3,48411

Error: 2,4032 gl: 18

Producto	Medias	n	
imidazol	1,00	4	A
25mM Si	1,80	4	A
200mM Si	1,80	4	A
100mM Si	3,41	4	A
testigo	3,41	4	A
50mM Si	3,82	4	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Aplicación	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
24 h despues	raiz cuadrada incid	24	0,42	0,26	72,44

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	23,78	5	4,76	2,59	0,0620
Producto	23,78	5	4,76	2,59	0,0620
Error	33,05	18	1,84		
Total	56,83	23			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=3,04520

Error: 1,8358 gl: 18

Producto	Medias	n	
50mM Si	1,00	4	A
25mM Si	1,00	4	A
100mM Si	1,00	4	A
200mM Si	1,80	4	A
imidazol	3,02	4	A
testigo	3,41	4	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Cuadro 10. Análisis de la varianza del ensayo de incidencia de *L. theobromae*, para la evaluación a los 7 días de permanecer a temperatura ambiente

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
raiz cuadrada incid	48	0,40	0,22	37,84

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	73,13	11	6,65	2,19	0,0376
Aplicación	0,40	1	0,40	0,13	0,7174
Producto	51,13	5	10,23	3,37	0,0134
Aplicación*Producto	21,59	5	4,32	1,42	0,2390
Error	109,14	36	3,03		
Total	182,27	47			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=1,02004

Error: 3,0317 gl: 36

Aplicación	Medias	n	
24 h antes	4,51	24	A
24 h después	4,69	24	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=2,62244

Error: 3,0317 gl: 36

Producto	Medias	n		
200mM Si	3,77	8	A	
100mM Si	3,98	8	A	
25mM Si	4,01	8	A	
imidazol	4,39	8	A	B
50mM Si	4,63	8	A	B
Testigo inoculado	6,82	8		B

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Análisis varianza variables de calidad frutos inoculados con *C. gloeosporioides*

Cuadro 11. Análisis de la varianza de brix para el ensayo de *C. gloeosporioides*.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Brix prom	96	0,11	0,00	14,51

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	37,45	11	3,40	0,90	0,5404
Aplicación	8,58	1	8,58	2,28	0,1350
Producto	24,75	5	4,95	1,31	0,2660
Aplicación*Producto	4,13	5	0,83	0,22	0,9534
Error	316,43	84	3,77		
Total	353,88	95			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,78916

Error: 3,7670 gl: 84

Aplicación	Medias	n	
24h antes	13,07	48	A
24h después	13,67	48	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p < 0,05$)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=2,00686

Error: 3,7670 gl: 84

Producto	Medias	n	
Testigo inoculado	12,64	16	A
100mM Si	12,92	16	A
25mM Si	13,24	16	A
imidazol	13,47	16	A
200mM Si	13,87	16	A
50mM Si	14,10	16	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p < 0,05$)

Cuadro 12. Análisis de la varianza de firmeza para el ensayo de *C. gloeosporioides*.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Firmeza prom	96	0,15	0,04	39,93

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	941,97	11	85,63	1,39	0,1930
Aplicación	295,75	1	295,75	4,80	0,0312
Producto	380,48	5	76,10	1,23	0,3001
Aplicación*Producto	265,73	5	53,15	0,86	0,5099
Error	5176,28	84	61,62		
Total	6118,25	95			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=3,19180

Error: 61,6224 gl: 84

Aplicación	Medias	n	
24h después	17,91	48	A
24h antes	21,42	48	B

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=8,11689

Error: 61,6224 gl: 84

Producto	Medias	n	
25mM Si	17,78	16	A
imidazol	18,06	16	A
100mM Si	18,16	16	A
Testigo inoculado	19,31	16	A
200mM Si	21,59	16	A
50mM Si	23,06	16	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Cuadro 13. Análisis de la varianza de color externo para la variable L del ensayo de *C. gloeosporioides*.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
L	192	0,06	2,0E-04	9,16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	291,73	11	26,52	1,00	0,4452
Aplicación	18,61	1	18,61	0,70	0,4026
Producto	165,00	5	33,00	1,25	0,2884
Aplicación*Producto	108,13	5	21,63	0,82	0,5381
Error	4757,64	180	26,43		
Total	5049,37	191			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=1,47445

Error: 26,4313 gl: 180

Aplicación	Medias	n	
24h después	55,78	96	A
24h antes	56,41	96	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=3,74258

Error: 26,4313 gl: 180

Producto	Medias	n	
25mM Si	54,52	32	A
200mM Si	55,45	32	A
100mM Si	56,05	32	A
imidazol	56,28	32	A
Testigo inoculado	57,04	32	A
50mM Si	57,24	32	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Cuadro 14. Análisis de la varianza de color externo para la variable a del ensayo de *C. gloeosporioides*.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
a	192	0,09	0,03	111,39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1048,86	11	95,35	1,56	0,1129
Aplicación	393,36	1	393,36	6,45	0,0119
Producto	510,08	5	102,02	1,67	0,1432
Aplicación*Producto	145,41	5	29,08	0,48	0,7931
Error	10974,79	180	60,97		
Total	12023,64	191			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=2,23940

Error: 60,9710 gl: 180

Aplicación	Medias	n	
24h antes	5,58	96	A
24h después	8,44	96	B

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=5,68425

Error: 60,9710 gl: 180

Producto	Medias	n	
200mM Si	5,41	32	A
25mM Si	5,72	32	A
Testigo inoculado	6,01	32	A
50mM Si	6,55	32	A
100mM Si	8,47	32	A
imidazol	9,90	32	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Cuadro 15. Análisis de la varianza de color externo para la variable b del ensayo de *C. gloeosporioides*.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
b	192	0,09	0,03	20,56

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	925,23	11	84,11	1,54	0,1200
Aplicación	60,81	1	60,81	1,11	0,2925
Producto	606,22	5	121,24	2,22	0,0540
Aplicación*Producto	258,20	5	51,64	0,95	0,4522
Error	9819,15	180	54,55		
Total	10744,38	191			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=2,11822

Error: 54,5508 gl: 180

Aplicación	Medias	n	
24h después	35,36	96	A
24h antes	36,48	96	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=5,37665

Error: 54,5508 gl: 180

Producto	Medias	n	
200mM Si	33,50	32	A
25mM Si	34,26	32	A
100mM Si	35,52	32	A
50mM Si	36,13	32	A
Testigo inoculado	37,32	32	A
imidazol	38,78	32	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Cuadro 16. Análisis de la varianza de color interno para la variable L del ensayo de *C. gloeosporioides*.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
L	96	0,11	0,00	6,46

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	179,48	11	16,32	0,93	0,5205
Aplicación	7,61	1	7,61	0,43	0,5130
Producto	54,65	5	10,93	0,62	0,6850
Aplicación*Producto	117,22	5	23,44	1,33	0,2597
Error	1481,34	84	17,64		
Total	1660,82	95			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=1,70747

Error: 17,6350 gl: 84

Aplicación	Medias	n	
24h después	64,72	48	A
24h antes	65,28	48	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=4,34219

Error: 17,6350 gl: 84

Producto	Medias	n	
200mM Si	63,86	16	A
50mM Si	64,58	16	A
100mM Si	64,60	16	A
Testigo inoculado	65,17	16	A
25mM Si	65,60	16	A
imidazol	66,18	16	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Cuadro 17. Análisis de la varianza de color interno para la variable a del ensayo de *C. gloeosporioides*.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
a	96	0,19	0,08	34,47

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	73,27	11	6,66	1,76	0,0740
Aplicación	20,50	1	20,50	5,42	0,0223
Producto	29,04	5	5,81	1,54	0,1875
Aplicación*Producto	23,73	5	4,75	1,26	0,2910
Error	317,65	84	3,78		
Total	390,92	95			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,79068

Error: 3,7815 gl: 84

Aplicación	Medias	n	
24h antes	5,18	48	A
24h después	6,10	48	B

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=2,01073

Error: 3,7815 gl: 84

Producto	Medias	n	
imidazol	5,05	16	A
200mM Si	5,29	16	A
25mM Si	5,36	16	A
50mM Si	5,61	16	A
100mM Si	5,80	16	A
Testigo inoculado	6,75	16	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Cuadro 18. Análisis de la varianza de color interno para la variable b del ensayo de *C. gloeosporioides*.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
b	96	0,17	0,06	5,70

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	233,32	11	21,21	1,59	0,1152
Aplicación	1,22	1	1,22	0,09	0,7626
Producto	115,26	5	23,05	1,73	0,1359
Aplicación*Producto	116,84	5	23,37	1,76	0,1307
Error	1117,29	84	13,30		
Total	1350,61	95			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=1,48289

Error: 13,3011 gl: 84

Aplicación	Medias	n	
24h antes	63,92	48	A
24h después	64,15	48	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=3,77106

Error: 13,3011 gl: 84

Producto	Medias	n	
200mM Si	62,39	16	A
50mM Si	63,40	16	A
100mM Si	63,72	16	A
imidazol	64,28	16	A
25mM Si	64,44	16	A
Testigo inoculado	65,98	16	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Análisis varianza variables de calidad frutos inoculados con *L. theobromae*

Cuadro 19. Análisis de la varianza de brix para el ensayo de *L. theobromae*

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Brix prom	96	0,10	0,00	11,76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	23,47	11	2,13	0,84	0,5974
Aplicación	0,74	1	0,74	0,29	0,5890
Producto	9,57	5	1,91	0,76	0,5836
Aplicación*Producto	13,16	5	2,63	1,04	0,3992
Error	212,42	84	2,53		
Total	235,89	95			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,64658

Error: 2,5288 gl: 84

Aplicación	Medias	n	
24h antes	13,43	48	A
24h después	13,61	48	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=1,64428

Error: 2,5288 gl: 84

Producto	Medias	n	
100mM Si	12,98	16	A
imidazol	13,39	16	A
25mM Si	13,44	16	A
50mM Si	13,61	16	A
Testigo inoculado	13,69	16	A
200mM Si	14,02	16	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Cuadro 20. Análisis de la varianza de firmeza para el ensayo de *L. theobromae*

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Firmeza prom	96	0,09	0,00	34,01

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	507,46	11	46,13	0,76	0,6773
Aplicación	15,84	1	15,84	0,26	0,6106
Producto	186,80	5	37,36	0,62	0,6878
Aplicación*Producto	304,81	5	60,96	1,01	0,4197
Error	5093,00	84	60,63		
Total	5600,46	95			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=3,16602

Error: 60,6310 gl: 84

Aplicación	Medias	n	
24h antes	22,49	48	A
24h después	23,30	48	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=8,05133

Error: 60,6310 gl: 84

Producto	Medias	n	
100mM Si	21,34	16	A
200mM Si	21,56	16	A
imidazol	21,69	16	A
Testigo inoculado	23,81	16	A
25mM Si	24,22	16	A
50mM Si	24,75	16	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Cuadro 21. Análisis de la varianza de color externo para la variable L del ensayo de *L. theobromae*.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
L	192	0,03	0,00	10,79

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	211,74	11	19,25	0,52	0,8915
Aplicación	9,91	1	9,91	0,27	0,6072
Producto	130,76	5	26,15	0,70	0,6242
Aplicación*Producto	71,07	5	14,21	0,38	0,8617
Error	6725,33	180	37,36		
Total	6937,07	191			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=1,75304

Error: 37,3629 gl: 180

Aplicación	Medias	n	
24h antes	56,40	96	A
24h después	56,86	96	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=4,44971

Error: 37,3629 gl: 180

Producto	Medias	n	
100mM Si	55,17	32	A
50mM Si	55,86	32	A
25mM Si	57,06	32	A
imidazol	57,08	32	A
Testigo inoculado	57,14	32	A
200mM Si	57,49	32	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Cuadro 22. Análisis de la varianza de color externo para la variable a del ensayo de *L. theobromae*.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
a	192	0,09	0,04	113,33

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	997,61	11	90,69	1,70	0,0756
Aplicación	36,43	1	36,43	0,68	0,4092
Producto	619,50	5	123,90	2,33	0,0445
Aplicación*Producto	341,68	5	68,34	1,28	0,2729
Error	9582,97	180	53,24		
Total	10580,58	191			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=2,09259

Error: 53,2387 gl: 180

Aplicación	Medias	n	
24h después	6,00	96	A
24h antes	6,87	96	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=5,31160

Error: 53,2387 gl: 180

Producto	Medias	n		
100mM Si	4,29	32	A	
25mM Si	5,56	32	A	B
imidazol	5,66	32	A	B
Testigo inoculado	6,39	32	A	B
50mM Si	6,64	32	A	B
200mM Si	10,09	32		B

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Cuadro 23. Análisis de la varianza de color externo para la variable b del ensayo de *L. theobromae*.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
b	192	0,08	0,02	18,12

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	663,08	11	60,28	1,34	0,2053
Aplicación	64,93	1	64,93	1,44	0,2311
Producto	233,60	5	46,72	1,04	0,3962
Aplicación*Producto	364,55	5	72,91	1,62	0,1564
Error	8093,39	180	44,96		
Total	8756,46	191			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=1,92309

Error: 44,9633 gl: 180

Aplicación	Medias	n	
24h después	36,42	96	A
24h antes	37,58	96	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=4,88135

Error: 44,9633 gl: 180

Producto	Medias	n	
100mM Si	35,13	32	A
50mM Si	36,65	32	A
imidazol	37,00	32	A
25mM Si	37,06	32	A
Testigo inoculado	37,27	32	A
200mM Si	38,90	32	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Cuadro 24. Análisis de la varianza de color interno para la variable L del ensayo de *L. theobromae*.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
L	48	0,24	0,01	6,41

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	209,56	11	19,05	1,05	0,4271
Aplicación	0,07	1	0,07	3,7E-03	0,9517
Producto	99,77	5	19,95	1,10	0,3782
Aplicación*Producto	109,72	5	21,94	1,21	0,3252
Error	654,00	36	18,17		
Total	863,56	47			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=2,49696

Error: 18,1665 gl: 36

Aplicación	Medias	n	
24h antes	66,45	24	A
24h después	66,53	24	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=6,41949

Error: 18,1665 gl: 36

Producto	Medias	n	
50mM Si	64,34	8	A
200mM Si	65,00	8	A
25mM Si	66,28	8	A
Testigo inoculado	67,35	8	A
100mM Si	67,60	8	A
imidazol	68,39	8	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Cuadro 25. Análisis de la varianza de color interno para la variable a del ensayo de *L. theobromae*.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
a	48	0,21	0,00	42,99

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	45,70	11	4,15	0,90	0,5534
Aplicación	0,05	1	0,05	0,01	0,9205
Producto	12,44	5	2,49	0,54	0,7473
Aplicación*Producto	33,21	5	6,64	1,43	0,2364
Error	167,00	36	4,64		
Total	212,70	47			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=1,26179

Error: 4,6390 gl: 36

Aplicación	Medias	n	
24h antes	4,98	24	A
24h después	5,04	24	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=3,24396

Error: 4,6390 gl: 36

Producto	Medias	n	
imidazol	4,10	8	A
25mM Si	4,78	8	A
50mM Si	4,80	8	A
200mM Si	5,39	8	A
100mM Si	5,45	8	A
Testigo inoculado	5,55	8	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Cuadro 26. Análisis de la varianza de color interno para la variable b del ensayo de *L. theobromae*.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
b	48	0,20	0,00	6,39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	151,56	11	13,78	0,83	0,6152
Aplicación	7,52	1	7,52	0,45	0,5061
Producto	40,35	5	8,07	0,48	0,7858
Aplicación*Producto	103,69	5	20,74	1,24	0,3093
Error	600,25	36	16,67		
Total	751,81	47			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=2,39216

Error: 16,6736 gl: 36

Aplicación	Medias	n	
24h antes	63,54	24	A
24h después	64,33	24	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=6,15006

Error: 16,6736 gl: 36

Producto	Medias	n	
25mM Si	62,54	8	A
200mM Si	63,45	8	A
50mM Si	63,70	8	A
imidazol	63,79	8	A
Testigo inoculado	64,78	8	A
100mM Si	65,38	8	A

Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)