

CONTROL BIOLÓGICO Y QUÍMICO CONTRA *Fusarium stilboides* EN PIMIENTO MORRÓN (*Capsicum annuum* L.) EN POSCOSECHA

Rocío Aurora Sandoval-Chávez¹; Ramón Álar Martínez-Peniche¹;
Monserrat Hernández-Iturriaga¹; Eduardo Fernández-Escartín¹;
Sofía Arvizu-Medrano¹; Lourdes Soto-Muñoz²

¹División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Centro Universitario s/n, Colonia las Campanas, Querétaro, Querétaro, C. P. 76010, MÉXICO. Teléfono y Fax: 52-01 (442) 1-92-13-04. Correo-e: alvar@uaq.mx (¹Autor para correspondencia).

²Departamento de Ingeniería de Procesos Alimentarios, Universidad Tecnológica del Suroeste de Guanajuato, MÉXICO. Carretera Valle-Huanímaro km 1.2. Tel. 01 456 64 36265 ext 115.

RESUMEN

La producción de frutas y hortalizas bajo invernadero se ha incrementado en México de 721 ha en 1996 a 9,500 ha en 2009. Recientemente se presentó en el pimiento (*Capsicum annuum* L.) una enfermedad fungosa que afecta al pedúnculo del fruto en poscosecha y cuyo agente causal es *Fusarium stilboides*. Una alternativa para reducir el daño producido por este hongo es el uso de métodos de control biológico. Para evaluar el poder antagonístico de cepas de levaduras de distinto origen en comparación con métodos químicos para el control de *F. stilboides*, se inocularon frutos de pimiento con una concentración conocida de levaduras (10^7 UFC·mL⁻¹), en presencia de una suspensión de esporas (10^5 UFC·mL⁻¹) de *F. stilboides*, o bien se sumergieron en soluciones de distintos fungicidas (benomyl, captán, bicarbonato de sodio y bicarbonato de potasio) a diversas concentraciones y se inocularon con la suspensión de esporas del hongo. Benomyl 0.6 g·L⁻¹ mostró el más alto nivel de inhibición de la severidad en el pedúnculo (81 %), mientras que bicarbonato de sodio 30 g·L⁻¹ resultó más efectivo a nivel del epicarpio (51 % de reducción del diámetro de la lesión). Las levaduras 22⁻²_{5b} y 18⁻¹_x de manzana, Avv, 5vtt (*Candida incommunis*) de velos de vino, 3d. RMA₃ de pimiento redujeron el diámetro de la lesión en el epicarpio en 63, 54, 53, 47 y 45 %, respectivamente.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: *Capsicum annuum* L., levaduras antagonísticas, fungicidas, poscosecha, severidad del daño.

POSTHARVEST BIOLOGICAL AND CHEMICAL CONTROL OF *Fusarium stilboides* ON BELL PEPPER

(*Capsicum annuum* L.)

ABSTRACT

Greenhouse production of fruits and vegetables in Mexico has increased from 721 ha in 1996 to 9,500 ha in 2009. A fungal disease caused by *Fusarium stilboides* has recently appeared in pepper (*Capsicum annuum* L.) that affects the fruit peduncle in the postharvest period. An alternative means of reducing the damage caused by this fungus is the use of biological control methods. To assess the antagonistic capacity of yeast strains of different origin to control *F. stilboides* and compare them with chemical methods, pepper fruits were inoculated with a known yeast suspension (10^7 CFU·mL⁻¹) and a spore suspension of *F. stilboides* (10^5 CFU·mL⁻¹), or they were immersed in different fungicidal solutions (benomyl, captan, sodium bicarbonate and potassium bicarbonate) at various concentrations and then inoculated with the fungal spore suspension. Benomyl at 0.6 g·L⁻¹ showed the highest severity-inhibition level on the peduncle (81 %), while sodium bicarbonate at 30 g·L⁻¹ was the most effective on the epicarp (51 % reduction in lesion diameter). Yeasts 22⁻²_{5b} and 18⁻¹_x from apple, Avv, 5vtt (*Candida incommunis*) from wine veils and 3d. RMA₃ from pepper reduced lesion diameter on the epicarp by 63, 54, 53, 47 and 45 % respectively.

ADDITIONAL KEY WORDS: *Capsicum annuum* L., antagonistic yeasts, fungicides, postharvest, damage severity.

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, el cultivo protegido de frutas y hortalizas se ha incrementado en México de 721 ha en 1996 a 9,500 ha en 2009 (SAGARPA, 2009), ya que permite la obtención de altos rendimientos fuera de temporada (Maroto, 2008). Uno de los cultivos de mayor importancia en este rubro es el chile morrón o pimiento (*Capsicum annuum* L.) para el cual México ocupó en 2007 el segundo lugar a escala mundial en superficie, destinándose el producto tanto al mercado nacional como a la exportación (FAOSTAT, 2007).

Durante los últimos años se ha observado en este cultivo, una enfermedad en poscosecha que afecta principalmente al pedúnculo del fruto y se manifiesta por el desarrollo de un micelio blanquecino, que se extiende con el paso del tiempo y culmina con la necrosis parcial o total del tejido. En 2008 este problema se manifestó en alrededor de 30 % de los embarques para exportación, lo que se tradujo en pérdidas económicas significativas para las empresas. El agente causal de esta enfermedad ha sido identificado en el laboratorio de Microbiología Sanitaria de la Universidad Autónoma de Querétaro como *Fusarium stilboides*, patógeno que fue reportado en café en Uganda, África, desde 1995 (Geiser *et al.*, 2005).

Entre los principales métodos de control de las enfermedades en poscosecha se encuentra el uso de fungicidas químicos, aunque en los últimos años ha generado diversas controversias debido a su toxicidad al hombre y daños ambientales. Adicionalmente, pueden generar resistencia en cepas del patógeno (Barrera y Bautista, 2008).

Una medida alternativa es el control biológico, que se define como la manipulación directa o indirecta por parte del hombre de los agentes vivos que de forma natural tienen la capacidad de control. Esta manipulación provoca un incremento de su capacidad de inhibición de los patógenos en poscosecha (Nigam y Mukerji, 1988). En los últimos años ha sido objeto de estudio con resultados favorables en el control de algunas enfermedades en poscosecha, como es el caso de la levadura *Candida sake*, la cual colonizó rápidamente la superficie de manzanas (*Malus sylvestris* Mill), inhibiendo a *P. expansum* en 80 % después de 60 días a 1 °C (Usall *et al.*, 2000). Zhang *et al.* (2005) encontraron que *Cryptococcus laurentii* tiene un efecto variable contra *B. cinerea* en pera (*Pirus comunis* L.) en función del momento de aplicación del inóculo. Chanchaichaovivat *et al.* (2007) reportaron que las levaduras *Pichia guilliermondii*, *Candida musae*, *Issatchenkia orientalis* y *Candida quercitrusa* reducen el daño por *Colletotrichum capsici* en chile en poscosecha.

En México se han aislado, seleccionado e identificado cepas antagonistas de *Candida incommunis*, *Debaryomyces hansenii*, *Cryptococcus albidus*, *Pichia membranaefaciens* y *Torulaspota* spp. contra hongos en manzanas, y se ha evaluado su efectividad biológica actuando por sí solas

INTRODUCTION

In recent years, protected cultivation of fruits and vegetables in Mexico has increased from 721 ha in 1996 to 9,500 ha in 2009 (SAGARPA, 2009), which allows obtaining high yields out of season (Maroto, 2008). One of the most important crops under this heading is the bell pepper (*Capsicum annuum* L.), for which Mexico held second place worldwide in 2007 in area cultivated, targeting the product both domestically and for export (FAOSTAT, 2007).

During the past few years, a postharvest disease has been observed in this crop that mainly affects the fruit peduncle and is manifested by the development of a white mycelium, which spreads over time and culminates in partial or total necrosis of the tissue. In 2008 this disease was detected in about 30 % of export shipments, resulting in significant economic losses for the businesses involved. The causative agent of this disease has been identified in the Sanitary Microbiology laboratory at the University of Queretaro as *Fusarium stilboides*, a pathogen that was reported in coffee in Uganda, Africa, 15 years ago (Geiser *et al.*, 2005).

Among the main methods of controlling postharvest diseases is the use of chemical fungicides, although in recent years several controversies have erupted over their toxicity to humans and the environmental damage they cause. Additionally, they can create resistance in pathogen strains (Barrera and Bautista, 2008).

An alternative means is biological control, defined as the direct or indirect manipulation by man of living agents that have the natural ability to control pathogens. This manipulation causes an increase in their ability to inhibit postharvest pathogens (Nigam and Mukerji, 1988). In recent years, favorable results have been obtained in controlling postharvest diseases, such as the yeast *Candida sake*, which rapidly colonized the surface of apples (*Malus sylvestris* Mill), inhibiting *P. expansum* by 80 % after 60 days at 1 °C (Usall *et al.*, 2000). Zhang *et al.* (2005) found that *Cryptococcus laurentii* has a variable effect against *B. cinerea* on pear (*Pyrus communis* L.) depending on when the inoculum is applied. Chanchaichaovivat *et al.* (2007) reported that the yeasts *Pichia guilliermondii*, *Candida musae*, *Issatchenkia orientalis* and *Candida quercitrusa* reduce damage by *Colletotrichum capsici* on postharvest chile.

In Mexico, researchers have isolated, selected and identified antagonistic strains of *Candida incommunis*, *Debaryomyces hansenii*, *Cryptococcus albidus*, *Pichia membranaefaciens* and *Torulaspota* spp. against fungi on apples, and assessed their biological effectiveness acting alone (Sánchez *et al.*, 2008) or in combination with sodium bicarbonate on different apple cultivars (Soto and Martínez, 2009).

A desirable antagonist must be genetically stable,

(Sánchez *et al.*, 2008) o en combinación con bicarbonato de sodio en distintos cultivares de manzana (Soto y Martínez, 2009).

Un antagonista deseable debe ser genéticamente estable, efectivo a bajas concentraciones, poco exigente en nutrientes, adaptado a diferentes condiciones del medio, efectivo para una amplia gama de microorganismos patógenos en diversas frutas y hortalizas, fácilmente cultivable, manipulable, resistente a fungicidas, compatible con los procesos comerciales, no dañino para el hospedero y que no produzca sustancias nocivas para el humano (Spadaro y Lodovica, 2004). Así tenemos que las levaduras son organismos antagonistas potenciales, ya que pueden crecer a bajas temperaturas por tiempos prolongados (Usall *et al.*, 2001).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad antagónica de distintas cepas de levaduras obtenidas de diversas fuentes, así como el efecto de algunos fungicidas de uso comercial contra *F. stilboides* en pimiento en poscosecha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se utilizaron frutos de pimiento cv. 'Baselga' color amarillo colectados en madurez fisiológica aparente, en los invernaderos de la empresa Fresh Mex, ubicada en Colón, Querétaro, México.

Se evaluaron 47 cepas de levaduras: 27 obtenidas de pimientos provenientes del mercado y de la empresa Fresh Mex, así como 16 de manzana y cuatro de velos de vino elaborados en el laboratorio (Cuadro 1), algunas de las cuales habían sido evaluadas previamente en *Penicillium expansum* en manzana (Sánchez *et al.*, 2008; Soto *et al.*, 2009).

CUADRO 1. Cepas de levaduras utilizadas en este estudio.

TABLE 1. Yeast strains used in this study.

Pimientos de invernadero	Origen		
	Pimientos de mercado	Manzana	Velos de vino
(2) 12/HL/1 ^a	PF5a ₂	16 ⁻¹ _{sc}	5vtt
23/HL/3 ^a	1PR	35-111	4bco
(2)23/HL/2 ^a	PA4b Blanca	38-432	Avv
12/HL/2 ^a	PA5b ₂ Rosa	18 ⁻¹ _x	Bvv
23/HL/2 ^a	PA5b ₁ Blanca	SI ₁	
3PN	(1) 2 ^a PRF	8 ⁻³ _{1a}	
(4)23HL1 ^a	(2) 2 ^a PRF	27	
(1) 23HL1 ^a	1 ^a d. RMA ₂	28	
7HL3 ^a	3 ^a d. RMA ₃	22 ^{-1x} _{2a}	
37/HL/2 ^a	1RMA ₁	8-121	
18/HL/2 ^a	1 ^a d. RMA ₁	22-111	
16HL1 ^a	3 ^a d. RMA ₂	23-61	
(2)3PN	2 ^a d. RMA ₃	18 ⁻¹ _{1b}	
12/HL/1 ^a		22 ⁻² _{5b}	
		18 ^{-2b} ₂	
		16 ⁻¹ _{3a}	

effective at low concentrations, undemanding in nutrients, adapted to different environmental conditions, effective for a wide range of pathogenic microorganisms on various fruits and vegetables, easily cultivated, manipulable, resistant to fungicides, compatible with business processes, not harmful to the host and does not produce substances harmful to humans (Spadaro and Lodovica, 2004). Thus, yeasts are potential antagonistic organisms since they can grow at low temperatures for prolonged periods (Usall *et al.*, 2001).

The aim of this study was to evaluate the antagonistic capacity of different yeast strains obtained from various sources and the effect of some commercial fungicides against *F. stilboides* on postharvest pepper.

MATERIALS AND METHODS

Biological Material

Yellow cv. 'Baselga' pepper fruits collected at apparent physiological maturity in the Fresh Mex company greenhouses, located in Colón, Querétaro, Mexico, were used in this study.

In total, 47 yeast strains were assessed: 27 obtained from peppers sold in the market and by the Fresh Mex company, 16 from apple and four from wine veils produced in the laboratory (Table 1), some of which had been previously evaluated on *Penicillium expansum* on apple (Sánchez *et al.*, 2008; Soto *et al.*, 2009).

The fungus strain *Fusarium stilboides* was isolated from pepper fruits with symptoms of the disease. This was identified using the Biolog® (MicroStation™) automated system and kept on potato dextrose agar (PDA) until use.

Preparation of microbial suspensions

Each yeast strain was transferred to test tubes containing 10 ml of nutrient broth, supplemented with yeast extract (0.5 %) and dextrose (1 %) (NYDB) and incubated for 72 h at 24 ± 1 °C and 200 rpm agitation (Usall *et al.*, 2001). Two successive transfers were made every 72 hours, and the last reseeded cells obtained by centrifugation (12,000 rpm, 10 min) were seeded on plates with nutrient yeast dextrose agar (NYDA: 8 g of nutrient broth, 5 g of extract yeast, 10 g of dextrose, 20 g of agar and 1000 ml of water) and incubated for 48 h at 24 ± 1 °C. Inocula were prepared from isolated colonies of each strain, which were suspended in sterile peptone diluent. Counts were performed in a Neubauer chamber and the concentration adjusted to 10⁷ CFU·ml⁻¹. Viability was tested using the surface area method on NYDA medium (Nunes *et al.*, 2001).

La cepa del hongo *Fusarium stilboides* CFNL-2768 (Laboratorio de Micología, UANL) se aisló de frutos de pimiento con síntomas de la enfermedad. Ésta se identificó mediante el sistema automatizado Biolog® (MicroStation™) y se mantuvo en papa-dextrosa agar (PDA) hasta su utilización.

Preparación de suspensiones microbianas

Se transfirió cada cepa de levadura a probar a tubos conteniendo 10 ml de caldo nutritivo, adicionado de extracto de levadura (0.5 %) y dextrosa (1 %) (NYDB) y se incubaron durante 72 h a 24 ± 1 °C y 200 rpm de agitación (Usall *et al.*, 2001). Se realizaron dos transferencias sucesivas cada 72 horas, y las células de la última resiembra obtenidas por centrifugación (12,000 rpm, 10 min) se sembraron en cajas con agar nutritivo-dextrosa para levaduras (NYDA: 8 g de caldo nutritivo, 5 g de extracto de levadura, 10 g de dextrosa, 20 g de agar y 1000 ml de agua) y se incubaron durante 48 h a 24 ± 1 °C. Los inóculos se prepararon a partir de las colonias aisladas de cada cepa, las cuales se suspendieron en diluyente de peptona estéril. Se realizaron recuentos en la cámara de Neubauer y se ajustó la concentración a 10^7 UFC·mL⁻¹. La viabilidad se comprobó mediante la técnica de extensión en superficie en medio NYDA (Nunes *et al.*, 2001).

Para preparar el inóculo de *F. stilboides*, se recuperaron las esporas por barrido con solución salina estéril a 0.85 % sobre un cultivo extendido en medio PDA. La suspensión de esporas se filtró a través de dos capas de gasa de algodón esterilizada y se prepararon diluciones, las cuales se sembraron por vaciado en placa con PDA (Fernández, 2008). Las cajas se incubaron a 24 ± 1 °C, y por último se efectuó un recuento de conidios viables y se obtuvo la concentración requerida.

Bioensayos con fungicidas

Un total de 30 frutos de pimiento se lavaron y desinfectaron con hipoclorito de sodio (5 %) durante 2 min., se enjuagaron con agua destilada estéril y se dejaron secar bajo flujo laminar por 10 min. Posteriormente se sumergieron durante 2 min. en captán Ultra WP 50® (principio activo: captán 50 % (3aR,7aS)-2-[(trichloromethyl)sulfanyl]-3a,4,7,7a-tetrahydro-1H-isoindole-1,3(2H)-dione) a 1.5 (C-1.5) o 2.5 g·L⁻¹ (C-2.5), Antrak® (principio activo: benomilo 50 % Methyl [1-[(butylamino)carbonyl]-1H-benzimidazol-2-yl]carbamate) a 0.6 (B-0.6) o 1.2 g·L⁻¹ (B-1.2), bicarbonato de sodio (NaHCO₃) a 15 (BCS 15) o 30 g·L⁻¹ (BCS 30) y bicarbonato de potasio a 10 (BCP 10), 20 (BCP 20) o 30 g·L⁻¹ (BCP 30) y un testigo sin tratamiento fungicida inoculado únicamente con la suspensión del patógeno, usando tres frutos por tratamiento. Se realizaron 13 heridas superficiales de 3 mm de diámetro al fruto con un punzón estéril (10 en el epicarpio y tres en el pedúnculo), las cuales se inocularon con 10 µl de la suspensión de esporas de *F. stilboides* (≈ 1000 células); los frutos se dejaron secar, se depositaron en frascos individuales de plástico previamente desinfectados con etanol a 70 %

To prepare the *F. stilboides* inoculum, spores were recovered by sweeping with sterile saline solution at 0.85 % over an extended culture on PDA medium. The spore suspension was filtered through two layers of sterile cotton gauze and then the dilutions were prepared and sown by emptying them onto PDA plates (Fernández, 2008). The plates were incubated at 24 ± 1 °C, and finally a count of viable conidia was made and the required concentration obtained.

Bioassays with fungicides

A total of 30 pepper fruits were washed and disinfected with sodium hypochlorite (5 %) for 2 min., rinsed with sterile distilled water and allowed to dry under laminar flow for 10 min. They were then immersed for 2 min. in captan Ultra 50 WP® (active ingredient: captan 50 % (3aR, 7aS)-2-[(trichloromethyl)sulfanyl]-3a,4,7,7a-tetrahydro-1H-isoindole-1,3(2H)-dione) at 1.5 (C-1.5) or 2.5 g·L⁻¹ (C-2.5), Antrak® (active ingredient: benomyl 50 % Methyl [1-[(butylamine)carbonyl]-1H-benzimidazol-2-yl]carbamate) at 0.6 (B-0.6) or 1.2 g·L⁻¹ (B-1.2), sodium bicarbonate (NaHCO₃) at 15 (BCS 15) or 30 g·L⁻¹ (BCS 30) and potassium bicarbonate at 10 (BCP 10), 20 (BCP 20) or 30 g·L⁻¹ (BCP 30) and a control without fungicide treatment, inoculated only with the pathogen suspension, using three fruits per treatment. In total, 13 superficial wounds, 3 mm in diameter, were made to the fruit with a sterile punch (10 on the epicarp and three on the peduncle), which were inoculated with 10 µl of spore suspension of *F. stilboides* (~ 1000 cells); the fruits were allowed to dry, placed in individual plastic bottles previously disinfested with 70 % ethanol and incubated at 24 ± 1 °C. After six (6 d) and 12 days (12 d), the diameter growth of the pathogen on the epicarp was measured (Usall *et al.*, 2001), as was the severity of damage on the peduncle according to a scale where 0=no visible damage, 1=low severity (little mycelium observed), 2=medium severity (development of the mycelium without completely covering the peduncle) and 3=severe damage (abundant mycelium completely covering the peduncle).

Yeast bioassays

A total of 223 fruits were disinfected and, as in the case of the assays with fungicides, 10 wounds were made on the epicarp and three on the peduncle. Each wound was inoculated with 25 µl of the antagonistic yeast suspension ($\sim 250\,000$ cells) and the pathogen spore suspension in the manner described above. A control inoculated only with the spore suspension (without yeast) was included. The fruits were incubated and the diameter growth of the pathogen on the epicarp and the damage severity on the peduncle at 6 and 12 d of incubation were determined.

Data Analysis

The experimental design for the two cases was com-

y se incubaron a 24 ± 1 °C. Al cabo de seis (6 d) y 12 días (12 d) se midieron el diámetro de crecimiento del patógeno en el epicarpio (Usall *et al.*, 2001) y la severidad del daño en el pedúnculo de acuerdo a una escala donde 0=sin daño visible, 1=severidad baja (observación de poco micelio), 2=severidad media (desarrollo del micelio sin cubrir totalmente el pedúnculo) y 3=daño severo (micelio abundante cubriendo totalmente el pedúnculo).

Bioensayos con levaduras

Se desinfectaron un total de 223 frutos y, como en el caso de los ensayos con fungicidas, se practicaron 10 heridas en el epicarpio y tres en el pedúnculo; cada herida se inoculó con 25 μ l de la suspensión de levaduras antagonicas (≈ 250 000 células) y con la suspensión de esporas del patógeno en la forma antes descrita. Se incluyó un testigo inoculado sólo con la suspensión de esporas (sin levadura). Los frutos se incubaron y se determinó el diámetro de crecimiento del patógeno en el epicarpio y la severidad en el pedúnculo a 6 y 12 d de incubación.

Análisis de los datos

El diseño experimental para los dos casos fue completamente al azar con tres o cuatro repeticiones según el caso, con 47 tratamientos para las levaduras y nueve tratamientos para los fungicidas, siendo la unidad experimental un fruto de pimiento. Los datos se analizaron con el programa estadístico "STATGRAPHICS Centurion XVI.I" (Castaño y Domínguez, 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayos con productos químicos

El bicarbonato de sodio a $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ redujo el diámetro de crecimiento del patógeno con respecto al testigo en el epicarpio del fruto en 51 % a 6 d (4.39 mm. vs. 8.89 mm.) y 43 % a 12 d (9.57 mm. vs. 16.79 mm.) de incubación (Cuadro 2). El resto de los tratamientos no mostró reducción importante del patógeno (menos de 22 %).

El bicarbonato de sodio ha sido utilizado con éxito en el control de podredumbres en poscosecha, y ha sido permitido sin restricciones por la regulación norteamericana y europea (Vero y Mondino, 1999). La acción del bicarbonato de sodio se debe a la inhibición de la expresión y secreción de las poligalacturonasas que provocan la maceración de los tejidos del fruto. La expresión de estas enzimas se ve favorecida a niveles bajos de pH. Los baños con bicarbonato provocan un aumento de pH en las heridas infectadas, disminuyendo de esa forma la producción de poligalacturonasas (Prusky *et al.*, 2004). El bicarbonato de sodio a 4 % incrementó el desarrollo de *P. expansum* en manzanas, mientras que a 2 % potenció el efecto antagonico de algunas levaduras (Soto y Martínez, 2009).

En el caso del pedúnculo, B-0.6 y C-2.5 resultaron los más efectivos después de 6 d de incubación, reduciendo

pletely random with three or four replications as appropriate, with 47 treatments for the yeasts and nine for the fungicides, with the experimental unit being a pepper fruit. The data were analyzed using "STATGRAPHICS Centurion XVI.I" statistical software (Castaño and Domínguez, 2001).

RESULTS AND DISCUSSION

Assays with chemical products

Sodium bicarbonate at $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ reduced the diameter growth of the pathogen compared with the control on the fruit epicarp by 51 % at 6 d (4.39 mm. vs. 8.89 mm.) and 43 % at 12 d (9.57 mm. vs. 16.79 mm.) of incubation (Table 2). The other treatments showed no significant reduction of the pathogen (less than 22 %).

Sodium bicarbonate has been successful in controlling postharvest rots, and has been allowed unrestricted use by U.S. and European regulations (Vero and Mondino, 1999). The action of sodium bicarbonate is due to the inhibition of the expression and secretion of polygalacturonases that cause the maceration of fruit tissues. The expression of these enzymes is favored at low pH levels. Bicarbonate baths cause an increase in pH in infected wounds, thereby decreasing the production of polygalacturonases (Prusky *et al.*, 2004). Sodium bicarbonate at 4 % increased the development of *P. expansum* on apples, while at 2 % it enhanced the antagonistic effect of some yeasts (Soto and Martínez, 2009).

In the case of the peduncle, B-0.6 and C-2.5 were the most effective after 6 d of incubation, both reducing the severity of the pathogen by 81 % relative to the control [0.33 (no damage) vs. 1.78 (medium severity)]. At 12 d of storage, no differences were found among the fungicides. The best chemical treatments applied to the fruit were BCS 30 and B-0.6, so they were included in a subsequent assay with the best yeasts evaluated.

Benzimidazoles are converted into methyl benzimidazole carbamate (MBC, carbendazim) on the surface of plants, which interferes with the nuclear division of fungi. The genus *Fusarium* is sensitive to benoym, but it is likely that this fungicide is a mutagenic agent, which would increase the degree of resistance of pathogens to its effect. For its part, captan inhibits the synthesis of the compounds having the groups $-\text{NH}_2$ and $-\text{SH}$ (amino acids and enzymes) (Agrios, 2006).

Antagonism assays with yeasts in fruit

The yeasts assessed were grouped into different series based on practical considerations. Based on their behavior in relation to the inhibition of fungal development on the epicarp and peduncle, the best of each series was selected for a confirmatory antagonism test.

CUADRO 2. Desarrollo de *F. stilboides* en el epicarpio y en el pedúnculo de frutos de pimiento en función de diferentes tratamientos químicos durante el almacenamiento a 24 ± 1 °C.

TABLE 2. Development of *F. stilboides* on the epicarp and peduncle of pepper fruits on the basis of different chemical treatments during storage at 24 ± 1 °C.

Tratamiento	Epicarpio (Crecimiento Diametral en mm.)		Pedúnculo (Severidad) ^x	
	6 d	12 d	6 d	12 d
BCS 30	4.39 ^z a	9.57 ^a	1.00 ^y ab	2.00 ^a
BCP 10	7.52 ^{ab}	16.09 ^{ab}	1.33 ^{ab}	1.89 ^a
BCP 30	7.56 ^{ab}	13.76 ^{ab}	1.0 ^{ab}	2.11 ^a
BCS 15	7.69 ^{ab}	15.52 ^{ab}	0.78 ^{ab}	1.89 ^a
C-2.5	8.05 ^{ab}	13 ^{ab}	0.33 ^a	2.17 ^a
B-1.2	8.27 ^{ab}	15.6 ^{ab}	1.33 ^{ab}	2.22 ^a
B-0.6	8.59 ^b	15.99 ^{ab}	0.33 ^a	1.33 ^a
C-1.5	8.84 ^b	15.1 ^{ab}	1.33 ^{ab}	1.44 ^a
Testigo	8.89 ^b	16.76 ^b	1.78 ^b	2.11 ^a
BCP 20	9.59 ^b	17.38 ^b	2.0 ^b	2.33 ^a
DMS	3.96	6.58	1.28	1.49
Valor F	1.11n.s.	1.04n.s.	1.62n.s.	0.42n.s.

^zPromedios con letras iguales no son significativos de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$;

^y 0: Sin daño 1: Severidad baja 2: Severidad media 3: Daño severo; ^xPromedio obtenido de 30 datos individuales (tres repeticiones con 10 lesiones cada una)

^yPromedio obtenido de 9 datos individuales (tres repeticiones con 3 heridas cada una) DMS Diferencia Mínima Significativa;

n.s: No significancia

^zMeans with the same letters are not significant according to Tukey's test at $P \leq 0.05$;

^y0: No damage 1: Low severity 2: Medium severity 3: Severe damage; ^xMean obtained from 30 individual data (three replicates with 10 lesions each)

^yMean obtained from 9 individual data (three replicates with 3 wounds each); DMS, Spanish acronym for least significant difference;

n.s: No significance

ambos la severidad del patógeno en 81 % con relación al testigo [0.33 (sin daño) vs 1.78 (severidad media)]. A 12 d de almacenamiento, no se encontraron diferencias entre los fungicidas. Los mejores tratamientos químicos aplicados al fruto fueron el BCS 30 y B-0.6, por lo que se incluyeron en un ensayo ulterior con las mejores levaduras evaluadas.

Los benzimidazoles se convierten en metil benzimidazol carbamato (MBC, carbendazim) en la superficie de las plantas, el cual interfiere en la división nuclear de los hongos. El género *Fusarium* es sensible a benomyl; sin embargo, es probable que este fungicida sea un agente mutagénico, que pudiera incrementar el grado de resistencia de los patógenos ante su efecto. Por su parte, el captán inhibe la síntesis de los compuestos que tienen los grupos $-NH_2$ y $-SH$ (aminoácidos y enzimas) (Agrios, 2006).

Ensayos de antagonismo con levaduras en fruto

Las levaduras evaluadas fueron agrupadas en distintas series con base en consideraciones prácticas. Basándonos en su comportamiento con relación a la inhibición del desarrollo del hongo en el epicarpio y en el pedúnculo, se seleccionaron las mejores de cada serie para una prueba confirmatoria de antagonismo.

En las Figuras 1 y 2 se observa el desarrollo de *F. stilboides* en el epicarpio en función de la cepa de levadura a 6 y 12 d de incubación, respectivamente, en cinco ensayos sucesivos. Ninguna levadura del grupo 1

Figures 1 and 2 show the development of *F. stilboides* on the basis of yeast strain at 6 and 12 d of incubation, respectively, in five successive assays. No yeast in group 1 significantly decreased the diameter of the lesion on the epicarp compared with the control (8.87 mm) at 12 d of incubation. However, (2)2^a PRF was retained for the confirmatory test because it showed the lowest incidence rate (17.5 vs. 90 % in the control, data not shown)

Most of the yeasts in group 2 significantly inhibited pathogen development on the epicarp (20 to 40 %) after 6 d of storage. Yeast 1RMA₁ was the most effective in controlling the fungus, inhibiting its growth by 50 %, while at 12 d, four strains (4)23/HL/1^a, Avv, 18⁻¹_x and 5vt significantly reduced pathogen development with inhibition percentages above 50 %. These four strains were retained for the confirmatory test.

In group 3, yeast 16⁻¹_{sc} was the most effective, reducing pathogen growth on the epicarp by 37 % (9.01 mm) relative to the control (14.22 mm) at 12 d of incubation, whereas at 6 d no significant differences were found among treatments ($F = 1.51$).

For group 4, the control did not show the development that was expected compared to the other treatments. Not detecting differences between the control and the yeasts, it was decided to select those which showed the smallest diameters of pathogen growth, which were 7/HL/3^a and 23-61 both at 6 d (4.25 and 4.51 mm) and 12 d (8.67 and 8.81 mm) of incubation. Strain 23-61 obtained from apple fruits

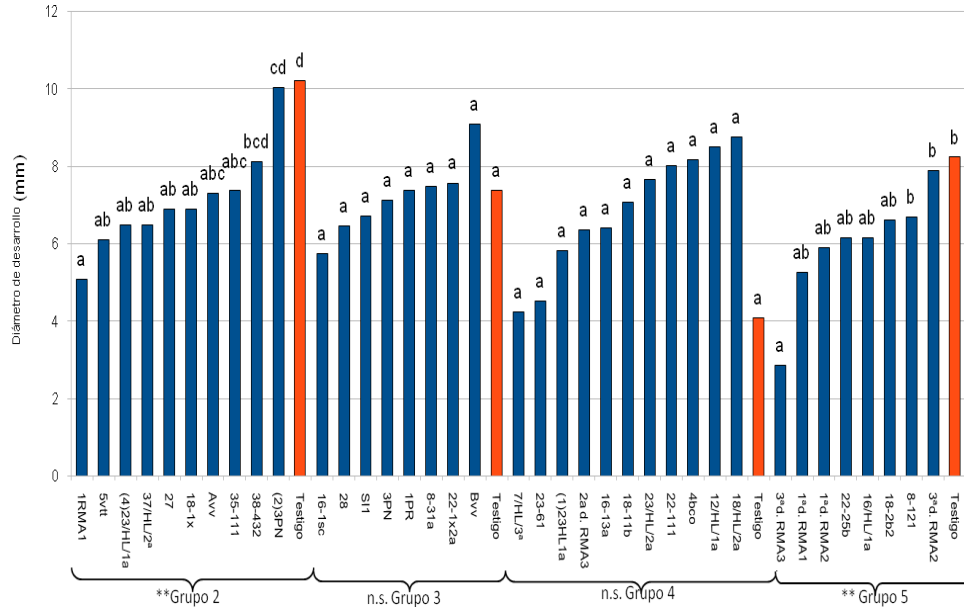


FIGURA 1. Desarrollo diametral de *Fusarium stilboides* en el epicarpio de frutos de pimiento en función de la cepa de levadura en cuatro ensayos sucesivos después de seis días de incubación. Letras iguales no son significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$;

n.s.: No significativo;
 ** significativo a $P \leq 0.01$.

FIGURE 1. Diametric development of *Fusarium stilboides* on the epicarp of pepper fruits on the basis of yeast strain in four successive assays after six days of incubation. Same letters are not significant according to Tukey's test at $P \leq 0.05$;

n.s.: Not significant;
 ** significant at $P \leq 0.01$.

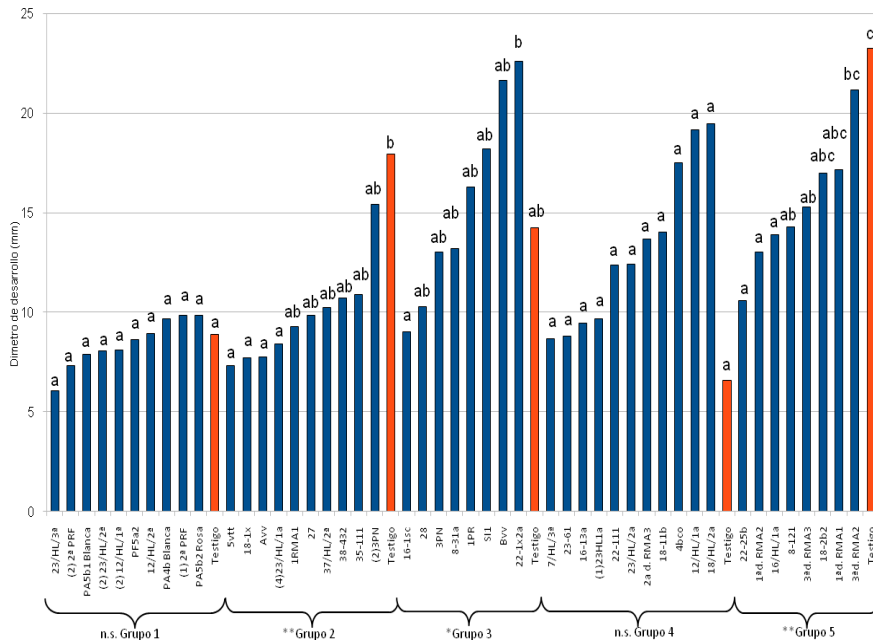


FIGURA 2. Desarrollo diametral de *Fusarium stilboides* en el epicarpio de frutos de pimiento en función de de la cepa de levadura en cinco ensayos sucesivos después de 12 días de incubación. Letras iguales no son significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a na $P \leq 0.05$;

n.s.: No significativo;
 ** significativo a $P \leq 0.05$ y 0.01 ., respectivamente.

FIGURE 2. Diametric development of *Fusarium stilboides* on the epicarp of pepper fruits on the basis of yeast strain in five successive assays after 12 days of incubation. Same letters are not significant according to Tukey's test at $P \leq 0.05$;

n.s.: Not significant;
 ** significant at $P \leq 0.05$ and 0.01 ., respectively.

disminuyó significativamente el diámetro de la lesión en el epicarpio en comparación con el testigo (8.87 mm) a 12 d de incubación. Sin embargo, se retuvo a (2)^{2a} PRF para la prueba confirmatoria debido a que mostró el menor porcentaje de incidencia (17.5 vs. 90 % en el testigo, datos no mostrados).

La mayoría de las levaduras del grupo 2 inhibieron significativamente el desarrollo del patógeno en el epicarpio (de 20 a 40 %) después de 6 d de almacenamiento. La levadura 1RMA₁ resultó la más efectiva para controlar al hongo inhibiendo en 50 % su crecimiento, mientras que a 12 d, cuatro de las cepas (4)23/HL/1^a, Avv, 18⁻¹_x y 5vtt redujeron significativamente el desarrollo del patógeno con porcentajes superiores a 50 % de inhibición. Estas cuatro cepas se retuvieron para la prueba confirmatoria.

En el grupo 3 la levadura 16⁻¹_{sc} fue la más efectiva, reduciendo el crecimiento del patógeno en el epicarpio en 37 % (9.01 mm) con relación al testigo (14.22 mm) a 12 d de incubación, mientras que a 6 d no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos (F = 1.51).

Para el grupo 4 el testigo no mostró el desarrollo que se esperaba en comparación con los demás tratamientos. Al no detectarse diferencias entre éste y las levaduras, se decidió seleccionar a las que mostraron los menores diámetros de crecimiento del patógeno, que resultaron 7/HL/3^a y 23-61 tanto a 6 d (4.25 y 4.51 mm) como a 12 d (8.67 y 8.81 mm) de incubación. La cepa 23-61 obtenida de frutos de manzana, había resultado sobresaliente contra *P. expansum* en manzana inhibiéndolo 23 % a 12 d de incubación. Esta cepa se sometió al sistema automatizado Biolog[®], sin haber podido identificarse (Sánchez *et al.*, 2008).

En el grupo 5, 3^{ad}. RMA₃, aislada de pimientos, inhibió el diámetro de crecimiento del patógeno en 65 % después de 6 d de incubación, mientras que las cepas 22⁻²_{5b}, 1^{ad}. RMA₂, 16/HL/1^a, 8-121 y 3^{ad}. RMA₃ resultaron ser las mejores inhibiendo 54, 44, 40, 39 y 34 %, respectivamente a 12 d. Las cepas 3^{ad}. RMA₃, 16/HL/1^a y 22⁻²_{5b} se retuvieron para la prueba confirmatoria, ya que además habían reducido sustancialmente la incidencia del patógeno (datos no mostrados).

En las Figuras 3 y 4 se observa el desarrollo de *F. stilboides* en el pedúnculo en función de la cepa de levadura a 6 d y 12 d de incubación, respectivamente, en cinco ensayos sucesivos. La levadura (2)12/HL/1^a del grupo 1 propició en el pedúnculo el menor desarrollo (0.75 mm) del patógeno a 12 d de incubación y se sometió a la prueba confirmatoria, a pesar de que no hubo diferencias entre tratamientos (F = 1.24). Ninguna levadura del grupo 2 redujo el desarrollo del patógeno a los 6 d, mientras que Avv inhibió en 58 % al hongo (1.08 vs 2.58) a 12 d, lo que confirma su buen comportamiento en el epicarpio, donde la reducción fue de 57 %. En el grupo 3 nuevamente destaca la levadura 16⁻¹_{sc} al reducir la severidad del patógeno en 47 %, por lo cual se seleccionó para la prueba confirmatoria.

had proved outstanding against *P. expansum* on apple, inhibiting it by 23 % at 12 d of incubation. This strain was subjected to the Biolog[®] automated system, without being able to identify it (Sánchez *et al.*, 2008).

In Group 5, 3^{ad}. RMA₃, isolated from peppers, inhibited the diameter growth of the pathogen by 65 % after 6 d of incubation, while strains 22⁻²_{5b}, 1^{ad}. RMA₂, 16/HL/1^a, 8-121 and 3^{ad}. RMA₃ proved to be the best, inhibiting growth by 54, 44, 40, 39 and 34 % respectively at 12 d. Strains 3^{ad}. RMA₃, 16/HL/1^a and 22⁻²_{5b} were retained for the confirmatory test, as they had also substantially reduced the incidence of the pathogen (data not shown).

Figures 3 and 4 show the development of *F. stilboides* on the peduncle on the basis of yeast strain at 6 d and 12 d of incubation, respectively, in five successive assays. Yeast (2) 12/HL/1^a of group 1 led to the least pathogen development on the peduncle (8.1 mm) at 12 d of incubation and was subjected to the confirmatory test, despite being no differences among treatments (F = 0.66). No yeast in group 2 reduced pathogen development at 6 d, while Avv inhibited the fungus by 58 % (1.08 vs. 2.58) at 12 d, which confirms its good performance on the epicarp, where the reduction was 57 %. Group 3 is once again highlighted by yeast 16⁻¹_{sc}, as it reduced the severity of the pathogen by 47 %, so it was selected for the confirmatory test. In group 4, yeast 23-61 produced the least fungal development on the peduncle, both at 6 d and 12 d of incubation (1 and 1.33, respectively) and was selected for the confirmatory test. Finally, in group 5 there were no statistically significant differences in any of the times evaluated.

The 11 yeast strains that showed the best performance in the previous assays were selected. The fungicides BCS 30 and B-0.6 were also included, based on their previously shown effectiveness on the epicarp and peduncle (Table 2). A 12 d, five strains significantly reduced pathogen damage on the epicarp (Table 3): 22⁻²_{5b}, Avv, 5vtt, 3d. RMA₃ and 18⁻¹_x with inhibition percentages of 63, 54, 53, 47 and 45 %, respectively, compared with the control (13.88 mm). The performance shown by these strains was very similar to that of the preceding tests. None of the fungicides included in the assay showed a significant effect against the pathogen.

Yeast 5vtt (*Candida incommunis*) had been tested against *P. expansum* on apple by Sánchez *et al.* (2008) with an inhibition percentage of 23 % at 12 d of incubation, while on pepper it inhibited the development of *F. stilboides* by 53 % for the same incubation time. On the other hand, Chand-Goyal and Spotts (1996) reported a significant reduction in the incidence and severity of *Penicillium expansum* development on apples by six yeast strains isolated from pear, when applied simultaneously with the pathogen.

No differences were found among the yeasts in terms of the severity of fungal growth on the peduncle (Table

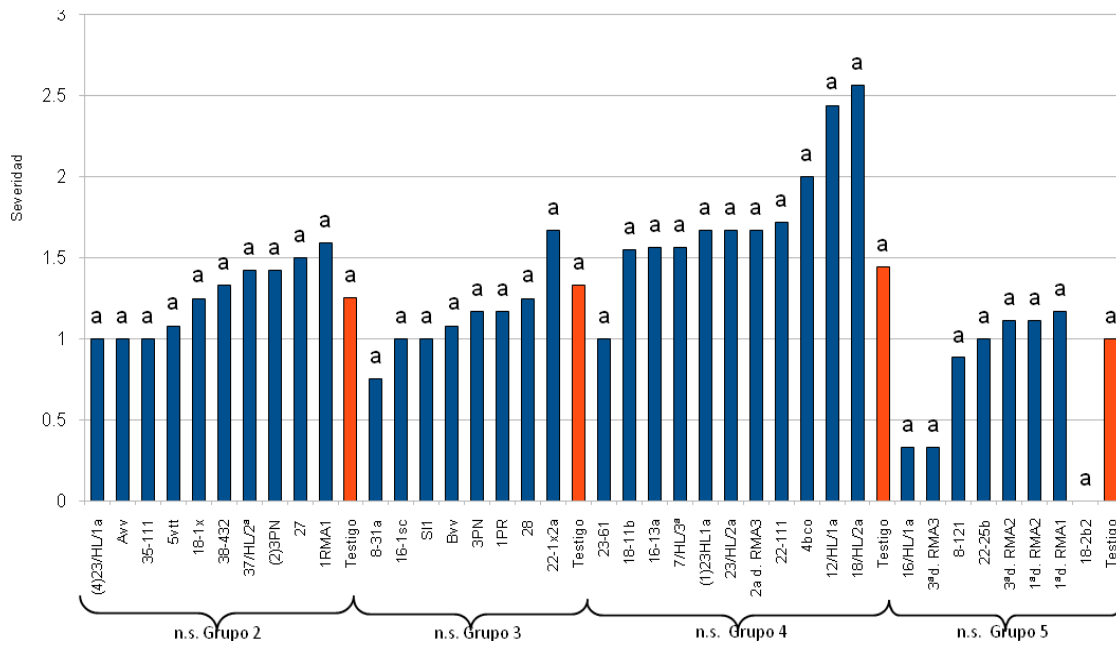


FIGURA 3. Severidad de *Fusarium stilboides* en el pedúnculo de frutos de pimienta en función de la cepa de levadura en cuatro ensayos sucesivos después de seis días de incubación. Letras iguales no son significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$;

n.s.: No significativo;
** significativo a $P \leq 0.01$.

FIGURE 3. Severity of *Fusarium stilboides* on the peduncle of pepper fruits on the basis of yeast strain in four successive assays after six days of incubation. Same letters are not significant according to Tukey's test at $P \leq 0.05$;

n.s.: Not significant;
** significant at $P \leq 0.01$.

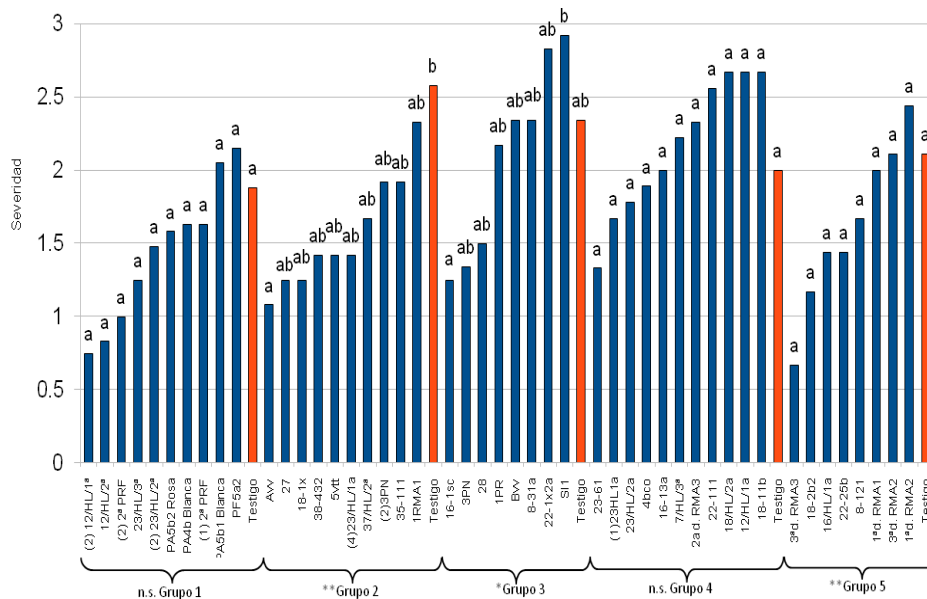


FIGURA 4. Severidad de *Fusarium stilboides* en el pedúnculo de frutos de pimienta en función de la cepa de levadura en cinco ensayos sucesivos después de 12 días de incubación. Letras iguales no son estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$;

n.s.: No significativo;
** significativo a $P \leq 0.05$ y 0.01 , respectivamente.

FIGURE 4. Severity of *Fusarium stilboides* on the peduncle of pepper fruits on the basis of yeast strain in five successive assays after 12 days of incubation. Same letters are not statistically significant according to Tukey's test at $P \leq 0.05$;

n.s.: Not significant;
** significant at $P \leq 0.05$ and 0.01 , respectively.

CUADRO 3. Desarrollo de *F. stilboides* en el epicarpio y en el pedúnculo de frutos de pimiento en función de la cepa de levadura antagonista a dos tiempos de almacenamiento a 24 ± 1 °C.

TABLE 3. F. Development of *F. stilboides* on the epicarp and peduncle of pepper fruits on the basis of antagonistic yeast strain at two storage times at 24 ± 1 °C.

Levadura	Epicarpio		Pedúnculo (Severidad)*	
	(Crec. diametral en mm.)			
	6 d	12 d	6 d	12 d
22 ⁻² _{5b}	¹ 4.57 ² a	5.07 a	¹ 1.00 a	2.67 a
Avv	5.47 a	6.44 a	1.00 a	2.33 a
5vtt	6.07 a	6.47 a	1.50 a	2.33 a
3d. RMA ₃	1.29 a	7.38 a	1.17 a	2.00 a
18 ⁻¹ _x	6.26 a	7.66 a	1.00 a	2.22 a
23-61	4.07 a	8.80 ab	2.00 a	1.89 a
(2)12/HL/1 ^a	2.4 a	8.90 ab	0.67 a	1.89 a
B 0.6	4.87 a	9.20 ab	1.33 a	1.67 a
(4)23HL1 ^a	4.1 a	9.70 ab	0.33 a	3.00 a
BCS 30	4.52 a	9.79 ab	0.67 a	1.00 a
(2) 2 ^a PRF	1.86 a	9.97 ab	1.33 a	2.33 a
16/HL/1 ^a	2.68 a	10.07 ab	1.33 a	1.67 a
Testigo	3.4 a	13.88 b	1.00 a	3.00 a
16 ⁻¹ _{sc}	4.26 a	14.05 b	1.33 a	2.77 a
DMS	5.06	5.5	1.73	2.22
Valor F	2.38n.s.	5.83**	1.52n.s.	1.72n.s.

¹Promedios con letras iguales no son significativos de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$;

* 0: Sin daño 1: Severidad baja 2: Severidad media 3: Daño severo; ¹Promedio obtenido de 36 datos individuales (tres repeticiones con 12 heridas cada una);

²Promedio obtenido de 9 datos individuales (tres repeticiones con tres lesiones cada una); DMS Diferencia Mínima Significativa;

**Diferencias altamente significativas;

n.s.: No significativo

¹Means with the same letters are not significant according to Tukey's test at $P \leq 0.05$;

* 0: No damage 1: Low severity 2: Medium severity 3: Severe damage; ¹Mean obtained from 36 individual data (three replicates with 12 wounds each);

²Mean obtained from 9 individual data (three replicates with three lesions each); DMS: Spanish acronym for least significant difference;

**Highly significant differences;

n.s.: Not significant

En el grupo 4 la levadura 23-61 produjo el menor desarrollo del hongo en el pedúnculo, tanto a 6 d como a 12 d de incubación (1 y 1.33, respectivamente) y se consideró para la prueba confirmatoria. Finalmente, en el grupo 5 no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los tiempos evaluados.

Se probaron las 11 cepas de levadura que mostraron el mejor comportamiento en los ensayos previos. También se incluyeron los fungicidas BCS 30 y B-0.6, de acuerdo con la efectividad mostrada previamente en el epicarpio y en el pedúnculo (Cuadro 2). A 12 d, cinco cepas redujeron significativamente el daño del patógeno en el epicarpio (Cuadro 3) 22⁻²_{5b}, Avv, 5vtt, 3d. RMA₃ y 18⁻¹_x con porcentajes de inhibición de 63, 54, 53, 47 y 45 %, respectivamente, con respecto al testigo (13.88 mm). El comportamiento mostrado por estas cepas fue muy similar al de los ensayos precedentes. Ninguno de los fungicidas incluidos en el ensayo mostró un efecto significativo en contra del patógeno.

La levadura 5vtt (*Candida incommunis*) había sido evaluada contra *P. expansum* en manzana por Sánchez *et al.* (2008) con un porcentaje de inhibición de 23 % a 12

3). In general, there is a higher level of fungal inhibition by the yeasts on the epicarp than on the peduncle, and a higher development of the pathogen on the epicarp. This result can be attributed to compositional differences between these two parts of the fruit, resulting in greater development of the fungus on the epicarp when the tissue is wounded experimentally. The fact that the pathogen develops preferably on the peduncle in commercial storage conditions is probably because this tissue is wounded when cutting the fruit, unlike the epicarp, which is usually left intact.

Of the 47 yeasts assessed, 19 % significantly reduced pathogen growth on the epicarp at 6 d, of which 11% inhibited it by more than 50 %, while at 12 d, 21 % of the yeasts significantly reduced this growth, of which 24 % inhibited it by more than 50 %.

By contrast, on the peduncle at 6 d no yeast significantly inhibited the severity of the fungus, whereas at 12 d only 4 % of the strains were effective and of these only half reduced fungal growth by more than 50 %. Comparing these results with those obtained by Sánchez *et al.* (2008), we see that

d de incubación, mientras que en pimiento inhibió 53 % el desarrollo de *F. stilboides* al mismo tiempo de incubación. Por otro lado, Chand-Goyal y Spotts (1996) reportan una reducción significativa de la incidencia y la severidad del desarrollo de *Penicillium expansum* en manzanas por seis cepas de levaduras aisladas de peras, al aplicarse simultáneamente con el patógeno.

No se encontraron diferencias entre las levaduras para la severidad del desarrollo del hongo en pedúnculo (Cuadro 3). En general, se aprecia un mayor nivel de inhibición del hongo por las levaduras en el epicarpio que en el pedúnculo y un mayor desarrollo del patógeno en el epicarpio. Este resultado puede atribuirse a las diferencias de composición de estas dos partes del fruto, que propicia un mayor desarrollo del hongo en el primero cuando el tejido se hiere a nivel experimental. El hecho de que el patógeno se desarrolle preferentemente en el pedúnculo en condiciones de almacenamiento comercial, seguramente se debe a que este tejido es herido al cortar el fruto, a diferencia del epicarpio, que comúnmente se mantiene intacto.

De las 47 levaduras evaluadas 19 % redujo significativamente el crecimiento del patógeno en el epicarpio a 6 d, de las cuales 11 % lo inhibieron en más de 50 %, mientras que a 12 d, 21 % de las levaduras redujo significativamente dicho crecimiento y de las cuales 24 % lo inhibieron en más de 50 %.

Por el contrario, en el pedúnculo a 6 d ninguna levadura inhibió significativamente la severidad del hongo, mientras a 12 d sólo 4 % de las cepas fueron efectivas y de éstas sólo la mitad redujo el desarrollo del hongo en más de 50 %. Si comparamos estos resultados con los obtenidos por Sánchez *et al.* (2008), vemos que en este último estudio 39 % de las cepas probadas redujeron el crecimiento de *P. expansum*, pero con porcentajes de inhibición menores a 50, mientras Viñas *et al.* (1998) obtuvieron, después de siete días de incubación, 40 % de cepas con inhibición significativa del mismo patógeno de 933 probadas, 10 % de las cuales redujeron el crecimiento del hongo en más de 50 %.

CONCLUSIONES

La aplicación de Benomyl a 0.6 g·L⁻¹ inhibió el desarrollo de *F. stilboides* en el pedúnculo de frutos de pimiento, en tanto que el bicarbonato de sodio a 30 g·L⁻¹ se mostró efectivo en el epicarpio.

Dos cepas de levaduras aisladas de manzana, dos de velos de vino y una de pimiento resultaron efectivas para inhibir el hongo en el epicarpio de frutos de pimiento.

LITERATURA CITADA

AGRIOS GEORGE N. 2006. Protección directa mediante métodos de control químico, En: Fitopatología. 2da Ed. Limusa. D. F. México. pp. 209-234.

in their study 39 % of the strains tested reduced the growth of *P. expansum*, but with inhibition percentages lower than 50, while Viñas *et al.* (1998) obtained, after seven days of incubation, 40 % of strains with significant inhibition of the same pathogen of 933 tested, 10 % of which reduced the growth of the fungus by more than 50 %.

CONCLUSIONS

The application of Benomyl at 0.6 g·L⁻¹ inhibited the development of *F. stilboides* on the peduncle of pepper fruits, while sodium bicarbonate at 30 g·L⁻¹ was shown to be effective on the epicarp.

Two yeast strains isolated from apple, two from wine veils and one from pepper were effective in inhibiting the fungus on the epicarp of pepper fruits.

End of English Version

BARRERA-NECHA, L. L.; BAUTISTA-BAÑOS, S. 2008. Actividad antifúngica de polvos, extractos y fracciones de *Cestrum nocturnum* L. sobre el crecimiento micelial de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. Fr.) Vuill. Revista Mexicana de Fitopatología 26(001): 27-31.

CASTAÑO, T. E.; DOMÍNGUEZ, D. J. 2001. Diseño de Experimentos para el Desarrollo Tecnológico y Mejora Industrial. Jit. Press. D.F. México. 312 p.

CHANCHACHAOVIVAT, A.; RUENWONGSA, P.; PANIJAN, B. 2007. Screening and identification of yeast strains from fruits and vegetables: Potential for biological control of postharvest chilli anthracnose (*Colletotrichum capsici*). Biological Control 42(3): 326-335.

CHAND-GOYAL, T.; SPOTTS, R. 1996. Postharvest biological control of blue mold of apple and brown rot of sweet cherry by natural saprophytic yeasts alone or in combination with low doses of fungicides. Biological Control 6: 253-259.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2007. Disponible en: www.faostat.fao.org. Fecha de consulta: 4 de septiembre de 2010.

FERNÁNDEZ-ESCARTÍN, E. 2008. Microbiología e Inocuidad de los Alimentos 2da Ed. Universidad Autónoma de Querétaro, D. F. México, 967 p.

GEISER, D. M.; LEWIS-IVEY, M. L.; HAKIZA, G.; JUBA, J. H.; MILLER, S. A. 2005. *Gibberella xylaroides* (anamorph: *Fusarium xylaroides*), a causative agent of coffee wilt disease in Africa, is a previously unrecognized member of the *G. fujikuroi* species complex. Mycologia 97(1): 191-201.

MAROTO, J. V. 2008. Elementos de Horticultura General. 3ra Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 480 p.

NIGAM, N.; MUKERJI, K. G. 1988. Biological control. Concepts and practice. In: Biocontrol of Plant Diseases. Vol. 1. MUKERJI, K. G.; GARG, K. L. (Eds.). CRC Press Boca Ratón. EE.UU. pp. 1-13.

NUNES, C.; USALL, J.; TEIXIDÓ, N.; MIRÓ, M.; VIÑAS, I. 2001. Nutritional enhancement of biocontrol activity of *Candida sake* (CPA-1) against *Penicillium expansum* on apples and pears. European Journal of Plant Pathology 107(5): 543-551.

- PRUSKY, D.; McEVOY, J.; SAFTNER, R.; CONWAY, W.; JONES, R. 2004. Relationship between host acidification and virulence of *Penicillium* sp. on apple and citrus fruit. *Phytopathology* 94: 44-51.
- SAGARPA. 2009. Estrategia Nacional de Agricultura Protegida. <http://www.presidencia.gob.mx/prensa/sagarpa/>. Fecha de consulta: 25 de enero de 2011.
- SÁNCHEZ, E.; MARTÍNEZ, R. A.; CASTILLO, T. J.; FERNÁNDEZ, E. E. 2008. Antagonismo de levaduras nativas contra la pudrición azul (*Penicillium expansum* Link) en frutos de manzana. *Revista Fitotecnia Mexicana* 31(4): 359-366.
- SOTO-MUÑOZ L.; MARTÍNEZ-PENICHE. R. A. 2009. Efecto de levaduras antagónicas y bicarbonato de sodio sobre *Penicillium expansum* Link en dos variedades de manzana. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 15(2): 211-215.
- SPADARO, D.; LODOVICA, G. M. 2004. State of the art and future prospect of biological control of postharvest fruit diseases. *International Journal of Food Microbiology* 91: 185-194.
- USALL, J.; TEIXIDÓ, N.; FONS, E.; VIÑAS, I. 2000. Biological control of blue mould on apple by a strain of *Candida sake* under several controlled atmosphere conditions. *International Journal of Food Microbiology* 58: 83-92.
- USALL, J.; TEIXIDÓ, N.; TORRES, R.; DE ERIBE, X. O.; VIÑAS, I. 2001. Pilot tests of *Candida sake* (CPA-1) applications to control postharvest blue mold on apple fruit. *Postharvest Biology and Technology* 21(2): 147-156.
- VERO, S.; MONDINO, P. 1999. Control biológico Postcosecha. Medidas para conservar fruta y hortalizas. *Horticultura Internacional*. Año 7: 29-36.
- VIÑAS, I.; USALL, J.; TEIXIDÓ, N.; SANCHIS, V. 1998. Biological control of major postharvest pathogens on apple with *Candida sake*. *International Journal of Food Microbiology* 40: 9-16.
- ZHANG, H.; ZHENG, X.; FU, C.; XI, Y. 2005. Postharvest biological control of gray mold rot of pear with *Cryptococcus laurentii*. *Postharvest Biology and Technology* 35:79-86.