

Efficacy of microbial antagonists and chitin in the control of *Colletotrichum gloeosporioides* in postharvest of mango cv. Azúcar

Eficacia de antagonistas microbianos y quitina en el control de *Colletotrichum gloeosporioides* en poscosecha de mango cv. Azúcar

Yimmy Alexander Zapata-Narváez, Luisa Fernanda Izquierdo-García, Blanca Lucía Botina-Azaín, Camilo Rubén Beltrán-Acosta*, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria -Agrosavia. Centro de Investigación Tibaitatá - Km 14 Vía Mosquera, Cundinamarca-Colombia. *Autor para correspondencia: cbeltran@agrosavia.co

Recibido: 21 de Febrero, 2021. Aceptado: 17 de Abril, 2021.

Zapata-Narváez YA, Izquierdo-García LF, Botina-Azaín BL and Beltrán-Acosta CR. 2021. Efficacy of microbial antagonists and chitin in the control of *Colletotrichum gloeosporioides* in postharvest of mango cv. Azúcar. Mexican Journal of Phytopathology 39(2): 248-265.

DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2102-1>

Primera publicación DOI: 29 de Abril, 2021.

First DOI publication: April 29, 2021.

Resumen. Se determinó la eficacia en el control de la antracnosis en la poscosecha de mango cv. Azúcar sometiendo la fruta a un tratamiento hidrotérmico a 53 °C, realizando posteriormente dos heridas de 2 mm de profundidad, luego se realizó la inmersión en suspensiones de los antagonistas o quitina en diferentes concentraciones, posteriormente en cada herida se inoculó una gota de 5 µL del patógeno, almacenando la fruta a 23 °C. De este ensayo se seleccionó a *Lysinibacillus xylaniticus* Ap282, *Rhodotorula glutinis* Lv316 y quitina

Abstract. The efficacy in the control of mango cv. Azúcar anthracnose in postharvest was determined by subjecting the fruit to a hydrothermal treatment at 53 °C; later two wounds of 2 mm deep were made and the fruits were immersed in suspensions of the antagonists or chitin in different concentrations. After, each wound was inoculated with a drop of 5 µL of the pathogen, and the fruits were storage at 23 °C. From this trial, *Lysinibacillus xylaniticus* Ap282, *Rhodotorula glutinis* Lv316, and chitin 10 mg L⁻¹ were selected for showing an efficacy in the disease control of 49% to 69%. The bioassay was repeated, but adding the chitin to the hydrothermal treatment and evaluating the control of the disease from pathogen's quiescent infections, storage the fruit at 13 °C. The combination of hydrothermal treatment and tempered of the fruit in the AP282 suspension presented the highest efficacy in the control of anthracnose (84%) in fruits inoculated with the pathogen, while, in the disease control from the quiescent infections, the combination of hydrothermal treatment adding the chitin or

(10 mg L⁻¹) por presentar una eficacia del 49% al 69% en el control de la enfermedad. El bioensayo se repitió, adicionando la quitina al tratamiento hidrotérmico y evaluando el control de la enfermedad a partir de infecciones quiescentes del patógeno, almacenando la fruta a 13 °C. La combinación del tratamiento hidrotérmico y el temperado de la fruta en la suspensión de AP282 presentó la mayor eficacia en el control de la antracnosis (84%) en frutos inoculados con el patógeno, mientras que, en el control de la enfermedad a partir de las infecciones quiescentes la combinación del tratamiento hidrotérmico adicionando la quitina o el temperado en suspensiones microbianas presentó una eficacia del 83 al 89%.

Palabras clave: *Colletotrichum gloeosporioides*, tratamiento hidrotérmico, eficacia, infecciones quiescentes.

En Colombia se cultivan diferentes variedades de mango (*Mangifera indica*) con una producción de 321,083 t en 28,000 ha, para el consumo en fresco y el procesamiento agroindustrial (MINAGRICULTURA, 2018). Este cultivo es importante en el aporte de la economía campesina ya que es típicamente minifundista (Alvarado y Moreno, 2012) y tiene características de baja tecnificación y asistencia técnica. Así mismo, se cultiva en predios manejados con buenas prácticas de acuerdo con la experiencia y capacidad económica de inversión de los productores (Asmar, 2021). El mango cv. Azúcar es una variedad colombiana que se caracteriza por ser un fruto ovalado y pequeño, de escasa fibra, buen aroma y sabor; presenta, especialmente en la pulpa madura, un contenido importante en fenoles totales y carotenoides, que le confieren potencial antioxidante, así como compuestos activos y nutricionales benéficos para la salud y es considerado como un

tempering in the microbial suspensions showed an efficacy of 83% to 89%.

Key words: *Colletotrichum gloeosporioides*, hydrothermal treatment, efficacy, quiescent infections.

Different varieties of mango (*Mangifera indica*) are cultivated in Colombia, with a production of 321,083 t in 28,000 ha, for fresh consumption and agro-industrial processing (MINAGRICULTURA, 2018). This crop is important for its contribution to farmers economy, since it is typically produced on a small scale (Alvarado and Moreno, 2012), it has low technification characteristics and low technical assistance. Additionally, it is cultivated on fields managed with good practices according to the experience and ability for economic investment of the farmers (Asmar, 2021). Mango cv. Azúcar is a colombian variety, characterized for being and oval and small fruit, with little fiber, pleasant in aroma and flavor; particularly, the mature pulp, contains important amounts of total phenols and carotenoids, which give antioxidant potential, as well as active and nutritional compounds that are beneficial to human health. It is considered a very profitable fruit, since it has the best price in comparison with other varieties, 10 months of the year (Corrales-Bernal *et al.*, 2014).

It is therefore necessary to continue working on the implementation of pre and postharvest technologies that help obtain fruits with phytosanitary and organoleptic quality to positioning the mango cv. Azúcar in internal and external markets. This has been done for the past three years by farmers with mango cv. Azúcar plantations located in the department of Magdalena, where exports have increased between 2018 and 2020, with an annual growth of 33% (Asmar, 2021).

fruto muy rentable porque presenta el mejor precio comparado con otras variedades durante 10 meses del año (Corrales-Bernal *et al.*, 2014).

Consecuentemente, se hace necesario continuar trabajando en la implementación de tecnologías en pre y poscosecha que permitan obtener frutos de calidad fitosanitaria y organoléptica para posicionar el mango Azúcar en los mercados internos y externos. Esto lo han realizado durante los últimos tres años, productores que tienen predios cultivados con mango Azúcar ubicados en el departamento del Magdalena, en donde se han incrementado las exportaciones entre 2018 y 2020, con un crecimiento anual del 33% (Asmar, 2021).

Sin embargo, una de las principales limitantes en su producción y poscosecha es la antracnosis, enfermedad causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, la cual es la más importante en la producción de mango en el mundo (Kamle y Kumar, 2016). En campo, el hongo produce infecciones quiescentes en frutos inmaduros, las cuales se desarrollan durante la poscosecha a causa del ambiente y maduración del fruto, provocando pérdidas que pueden superar el 50% (Arauz, 2000; Prusky *et al.*, 2013; Kamle y Kumar, 2016). Su control se realiza principalmente con fungicidas sistémicos; aunque son eficientes, presentan efectos negativos como la residualidad o la generación resistencia en el hongo, siendo su uso cada vez menos aceptados por los países importadores, ya que su toxicidad es potencialmente nociva para el consumidor (Bautista-Rosales *et al.*, 2014; Chechi *et al.*, 2019).

De acuerdo con esto, el uso de alternativas de control inocuas y eficientes se plantea como una necesidad. El control biológico es una estrategia que involucra el uso de microorganismos como levaduras y bacterias, las cuales se caracterizan por tener rápido crecimiento sobre la superficie vegetal, con la producción de metabolitos que inhiben el crecimiento de fitopatógenos y por tolerar, en el

However, one of the main limitations in its production and postharvest is the anthracnose, which is the most important disease in mango production worldwide caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Kamle and Kumar, 2016). In the field, the fungus produces quiescent infections in immature fruits, which develop during postharvest, due to the environment and the maturation of the fruit, causing losses that can exceed to 50% (Arauz, 2000; Prusky *et al.*, 2013; Kamle and Kumar, 2016). It is mainly controlled using systemic fungicides which, although efficient, have negative effects such as residuality or the generation of resistance of the fungus, and its use is therefore becoming less accepted by importing countries, since its toxicity is potentially harmful to consumers (Bautista-Rosales *et al.*, 2014; Chechi *et al.*, 2019).

Given this, the use of innocuous and efficient control alternatives is presented as a necessity. Biological control is a strategy that involves the use of microorganisms such as yeast and bacteria, which have a rapid growth on the surface of the plant, produce metabolites that inhibit the growth of plant pathogens and tolerate, in the case of some strains, extreme conditions such as low temperatures or activity of water (aw) and the presence of fungicides (Lastochkina *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2013). Likewise, the application to the fruits of biopolymers such as chitin is proposed, since its cationic character presents antifungal activity mediated by the interaction of its free amino groups (positively charged in an acidic medium), modifying the permeability of the plasmatic membrane, altering its function, or forming a film on the fruit that changes the internal atmosphere, favoring its conservation (Ban *et al.*, 2015; Bautista-Baños *et al.*, 2006).

Some studies have proven the efficacy of alternatives for the control of postharvest diseases such as physical treatments in fruits and vegetables

caso de algunas cepas, condiciones extremas como bajas temperaturas, baja actividad de agua (aw) y presencia de fungicidas (Lastochkina *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2013). De igual manera se plantea la aplicación de biopolímeros como la quitina al fruto, ya que su carácter catiónico presenta actividad antifúngica mediada por la interacción de sus grupos amino libres (cargados positivamente en medio ácido), modificando la permeabilidad de la membrana plasmática, alterando su función, o formando películas en el fruto que cambian la atmósfera interna favoreciendo su conservación (Ban *et al.*, 2015; Bautista-Baños *et al.*, 2006

Algunos estudios han mostrado la eficacia de alternativas para el manejo de enfermedades poscosecha como tratamientos físicos en frutas y en vegetales (Usall *et al.*, 2016) dentro de los cuales se encuentra la hidroterapia, realizada por inmersión, enjuague o cepillado; en la inmersión se aplican temperaturas entre 43 °C y 53 °C por periodos que van de minutos hasta 2 horas de acuerdo con la especie de la fruta y estado de madurez, en tanto que el enjuague y cepillado son empleados de 10 a 25 segundos a temperaturas entre 43 °C y 53 °C (Fallik, 2004). El tratamiento por inmersión es el más reportado y puede llegar a estimular respuestas de defensa contra la antracnosis en frutos sin afectar negativamente su calidad sensorial y física (Vilaplana *et al.*, 2018), siendo efectivo contra otros patógenos en poscosecha como *Botrytis cinerea* y *Alternaria alternata* (Fallik *et al.*, 1996).

Se ha observado que el uso combinado de diferentes alternativas puede aumentar el efecto de las alternativas individuales (Perez *et al.*, 2016). El éxito del uso de las alternativas combinadas radica sus diferentes modos de acción, por ejemplo, los tratamientos físicos actúan sobre las superficies sellando o curando aberturas y como desinfectantes de superficies limitando los sitios de infección del patógeno, mientras que la aplicación posterior de

(Usall *et al.*, 2016), including hydrotherapy, carried out by immersion, rinsing or brushing. In immersion, temperatures of 43 °C to 53 °C are applied for periods lasting between a few minutes and 2 hours, depending on the species of the fruit and the stage of maturity, whereas rinsing and brushing are used for 10 to 25 seconds at temperatures ranging from 43 °C to 53 °C (Fallik, 2004). The immersion treatment is the most commonly reported and may lead to the stimulation of responses of defense against anthracnose in fruits, without affecting its sensorial and physical quality (Vilaplana *et al.*, 2018), making it efficient against pathogens in postharvest such as *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata* (Fallik *et al.*, 1996).

It has been observed that the combined use of different alternatives may increase the effect of individual alternatives (Perez *et al.*, 2016). The success of the use of combined alternatives lies in their modes of action. For example, physical treatments act on the surfaces, sealing or curing openings, and as surface disinfectants, limiting the infection sites of the pathogen, whereas the posterior application of antagonists or bioactive compounds provides a persistent protective action through the restriction of secondary diseases (Zhang *et al.*, 2017).

Considering the potential of the use of these alternatives in the control of *Colletotrichum gloeosporioides* during the postharvest of mango cv. Azúcar in Colombia, the aim of this study was to determine their efficacy with the use of microbial antagonists, a hydrothermal treatment at 53 °C and different concentrations of chitin, as well as the combination of the best treatments.

MATERIALS AND METHODS

This investigation was carried out in the Agricultural Microbiology Laboratory of the

antagonistas o compuestos bioactivos provee una acción protectora persistente a través de la restricción de infecciones secundarias (Zhang *et al.*, 2017).

Teniendo en cuenta el potencial de uso de estas alternativas en el control de *Colletotrichum gloeosporioides* durante la poscosecha de mango Azúcar en Colombia, el objetivo de este estudio fue determinar la eficacia mediante el uso de antagonistas microbianos, un tratamiento hidrotérmico a 53 °C y quitina en diferentes concentraciones, así como la combinación de los mejores tratamientos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Microbiología Agrícola del Centro de Investigación Tibaitatá de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria AGROSAVIA.

Material vegetal y patógeno. Se utilizaron frutos de mango variedad Azúcar (susceptible a la antracnosis) en etapa de madurez fisiológica (ligeramente verde con tonalidad amarilla rosada y pulpa amarilla), asintomáticos a cualquier patología, con un tamaño entre 8 a 10 cm y peso promedio de 100 g, provenientes de un cultivo comercial del municipio de Ciénaga (departamento del Magdalena, Colombia). Para reducir la expresión de infecciones quiescentes del patógeno, la fruta se sometió a un tratamiento hidrotérmico a 53 °C por 5 minutos (baño termostataado Memmert WNB 14) y atemperando por inmersión en agua a 17 °C por 10 min, posteriormente con una aguja de disección estéril se realizaron dos heridas de 2 mm de profundidad en una de las caras del fruto, separadas 5 cm entre sí (basado y modificado de la metodología de Trinidad-Angel *et al.*, (2017)).

Para seleccionar el patógeno se evaluaron tres aislamientos (Y1, Y2, Y3), seleccionando Y3 (*C.*

Tibaitatá Research Center of the Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria AGROSAVIA.

Plant and pathogenic material. Azúcar mango variety fruits (susceptible to anthracnose) in the stage of physiological maturity (slightly green with a pinkish-yellow tone and a yellow pulp), asymptomatic to any pathology, sized 8 to 10 cm and an average weight of 100 g, from a commercial plantation in the municipal area of Ciénaga were used (department of Magdalena, Colombia). To reduce the expression of quiescent infections of the pathogen, the fruit underwent a hydrothermal treatment at 53 °C for 5 minutes (Memmert WNB 14 waterbath) and tempering by immersion in water at 17 °C for 10 min, followed by producing two lesions, each 2 mm deep, with a sterilized dissection needle on one of the faces of the fruit, with a distance of 5 cm from each other (based on the methodology by Trinidad-Angel *et al.* (2017), modified).

To select the pathogen, three isolations were evaluated (Y1, Y2, Y3). Y3 (*C. gloeosporioides*) was selected from the Yulima variety of mangoes, identified by its morphology and selected due to its pathogenicity when carrying out Koch's postulates (data not shown). Conidia inoculum was obtained from cultures in Potato Dextrose Agar (PDA, Oxoid®) previously incubated at 25 °C for 10 days and adjusted to 1×10^5 conidia mL⁻¹ in sterile distilled water.

Efficacy of antagonistic microorganisms in the control of anthracnose. The AGROSAVIA Microorganism Germplasm Bank provided the antagonistic microorganisms characterized in previous studies and which displayed control over different pathogens (Zapata and Cotes, 2013; Díaz-García *et al.*, 2015), which were the bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* Bs006 (Gámez *et al.*,

gloeosporioides), proveniente de frutos de mango variedad Yulima, identificado por su morfología y seleccionado por su patogenicidad al realizar los postulados de Koch (datos no mostrados). Su inóculo se obtuvo a partir de conidios colectados de cultivos en Agar Papa Dextrosa (PDA, Oxoid®) incubados a 25 °C durante 10 días, a partir de los cuales se realizó una suspensión de 1×10^5 conidios mL^{-1} en agua destilada estéril.

Eficacia de microorganismos antagonistas en el control de la antracnosis. El Banco de Germoplasma de Microorganismos de AGROSAVIA proporcionó los microorganismos antagonistas que en estudios previos se caracterizaron y mostraron control sobre diferentes patógenos (Zapata y Cotes, 2013; Díaz-García *et al.*, 2015), los cuales correspondieron a las bacterias *Bacillus amyloliquefaciens* Bs006 (Gámez *et al.*, 2015), *Bacillus safensis* AP280 y *Lysinibacillus xylaniticus* AP282; y las levaduras *Candida oleophila* Lv037, *Pichia onychis* Lv297 y *Rhodotorula glutinis* Lv316 (Moreno *et al.*, 2012; Zapata *et al.*, 2011). Para su crecimiento, las bacterias fueron cultivadas en caldo Luria Bertani (LB, Oxoid®) y las levaduras en caldo extracto de malta y levadura (YM, Oxoid®) a 125 rpm, 28 °C durante 48 y 72 horas respectivamente. Para el inóculo se realizaron suspensiones en agua destilada estéril a concentraciones de 1×10^8 células mL^{-1} para las bacterias y 1×10^7 células mL^{-1} para las levaduras. La fruta se inoculó mediante inmersión en las suspensiones de cada microorganismo durante 10 min; posteriormente se secaron a 18 °C y sobre las heridas se inoculó una gota de 5 μL del patógeno.

Eficacia de los aditivos quitinosos en el control de la antracnosis. Se empleó quitina (Sigma® C7170) en concentraciones de 0.5; 0.8; 10; 100 y 1000 mg L^{-1} . Se realizó la inmersión de la fruta en

2015), *Bacillus safensis* AP280 and *Lysinibacillus xylaniticus* AP282; and the yeasts *Candida oleophila* Lv037, *Pichia onychis* Lv297 and *Rhodotorula glutinis* Lv316 (Moreno *et al.*, 2012; Zapata *et al.*, 2011). In order for them to grow, the bacteria were cultivated in a Luria Bertani broth (LB, Oxoid®), and the yeasts, in a broth composed of malt extract and yeast (YM, Oxoid®) at 125 rpm, 28 °C for 48 and 72 hours, respectively. For the inoculant, suspensions were made in sterile distilled water at concentrations of 1×10^8 cells mL^{-1} for the bacteria and 1×10^7 cells mL^{-1} for the yeasts. The fruit was inoculated by immersion in the suspensions of each microorganism for 10 min, they were later dried at 18 °C and a 5 μL drop of the pathogen was inoculated on the lesions.

Efficacy of chitinous additives in the control of anthracnose. Chitin (Sigma® C7170) was used in concentrations of 0.5; 0.8; 10; 100 and 1000 mg L^{-1} . The fruit was immersed in the suspension of the additive in each defined concentration for 10 min, dried at 18 °C and 5 μL drop of the pathogen was inoculated on the lesions.

Efficacy of the combination of alternatives in the control of anthracnose in mangoes inoculated with *C. gloeosporioides*. Four treatments were proposed to determine the efficacy in the control of anthracnose in mangoes inoculated with *C. gloeosporioides* (Table 1). First, the hydrothermal treatment was carried out, followed by the lesions on the fruit and then depositing them in suspensions of controlling microorganisms or the concentration of chitin (10 mg L^{-1}) for 10 min. They were then inoculated with the pathogen at the concentration described earlier and storage in humid chambers.

Efficacy in quiescent *C. gloeosporioides* infections: The same treatments mentioned

la suspensión del aditivo en cada concentración definida por 10 min, se secaron a 18 °C y sobre las heridas se inoculó una gota de 5 µL del patógeno.

Eficacia de la combinación de alternativas en el control de la antracnosis en mangos inoculados con *C. gloeosporioides*. Se plantearon cuatro tratamientos para determinar la eficacia en el control de la antracnosis en mangos inoculados con *C. gloeosporioides* (Cuadro 1). Primero se realizó el tratamiento hidrotérmico, luego se realizaron las heridas en los frutos y se depositaron en las suspensiones de los microorganismos controladores o la concentración de quitina (10 mg L⁻¹) durante 10 min, se secaron e inocularon con el patógeno a la concentración descrita previamente y se almacenaron en cámaras húmedas.

Eficacia en infecciones quiescentes de *C. gloeosporioides*: Se evaluaron los mismos tratamientos mencionados anteriormente (Cuadro 1) sobre infecciones quiescentes de *C. gloeosporioides* pero sin realizar inóculo del patógeno. Inicialmente se realizó el tratamiento hidrotérmico, posteriormente los frutos se dispusieron en las suspensiones de los microorganismos controladores durante 10 minutos; para el tratamiento que contenía quitina esta se agregó durante el tratamiento hidrotérmico; posteriormente se dejaron secar y se almacenaron en cámaras húmedas.

Para los tratamientos donde se determinó la eficacia de los microorganismos y las diferentes concentraciones de los sustratos quitinosos, los frutos se dispusieron en cámaras húmedas (Humedad relativa (HR) del 90%) almacenándolas a 23 °C durante siete días, condiciones óptimas para el patógeno y severas para la selección de las alternativas; por otra parte, los frutos correspondientes a la combinación de alternativas se almacenaron en cámaras húmedas a 13 °C durante 19 días como una aproximación al almacenamiento de la fruta.

above (Table 1) were evaluated on quiescent *C. gloeosporioides* infections, without inoculating the pathogen. The hydrothermal treatment was carried out, followed by the placement of the fruits in suspensions of controlling microorganisms for 10 minutes. For the treatment that contained chitin, it was added during the hydrothermal treatment. They were then left to dry and storage in humid chambers.

For the treatments in which the efficacy of the microorganisms and the different concentrations of chitinous substrates were determined, the fruits were placed in humid chambers (Relative humidity (RH) of 90%), storage at 23 °C for seven days, under conditions considered optimal for the pathogen and severe for the selection of alternatives. On the other hand, the fruits corresponding to the combination of alternatives were stored in humid chambers at 13 °C for 19 days as an approximation to the storage of the fruit.

Variables evaluated. As a response variable, we calculated the efficacy in the control of the disease by applying the Schneider-Orelli formula: Percentage of efficacy = $((b - k) / (100 - k)) * 100$, where b= area under the disease progress curve (AUDPC) in the treatment depending on the diameter of the lesion in fruits and k= AUDPC in the pathogen control (Koller *et al.*, 2016). The

Cuadro 1. Combinación de tratamientos evaluados para el control de la antracnosis a partir de la inoculación de *C. gloeosporioides* Y3 en frutos de mango cv. Azúcar.

Table 1. Combination of treatments evaluated for the control of anthracnose from the inoculation of *C. gloeosporioides* Y3 in mango cv. Azúcar fruits.

Tratamiento
Control: 53 °C 5 min
53 °C 5 min + AP282
53 °C 5 min + Lv316
53 °C 5 min + Quitina 10 mg L ⁻¹

VARIABLES EVALUADAS. Como variable respuesta se calculó la eficacia en el control de la enfermedad, aplicando la fórmula de Schneider-Orelli: Porcentaje de eficacia = $((b - k) / (100 - k)) * 100$, donde b= área bajo la curva de la enfermedad (AUDPC) en el tratamiento de acuerdo con el diámetro de la lesión en los frutos y k= AUDPC en el control patógeno (Koller *et al.*, 2016). Se tomó en cuenta la distribución irregular de las lesiones de la enfermedad, por lo que en las infecciones quiescentes se empleó la escala de severidad de la enfermedad de Brodrick (1978, citado por Corkidi *et al.*, 2006) (Cuadro 2, Figura 1).

Diseño experimental y análisis de datos. Los bioensayos se establecieron bajo un diseño de bloques completamente al azar, la unidad experimental consistió en tres frutos, con tres repeticiones y dos réplicas, contando con un control sin tratar y un control patógeno. Se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias de

Cuadro 2. Escala para la evaluación de severidad de antracnosis causada por *C. gloeosporioides* en mango cv. Azúcar. Valores en porcentaje de área del fruto con síntomas.

Table 2. Scale to evaluate the severity of anthracnose caused by *C. gloeosporioides* in mango cv. Azúcar. Values as percentages of the area of the fruits with symptoms.

Nivel	Área afectada
0	0 %
1	1-5 %
2	6-9 %
3	10-49 %
4	50-100 %

irregular distribution of the lesions of the disease were taken into consideration and therefore, in quiescent infections, Brodrick's disease severity scale (1978, cited by Corkidi *et al.*, 2006) was used (Table 2, Figure 1).

Experimental design and data analysis. Bioassays were established under a completely

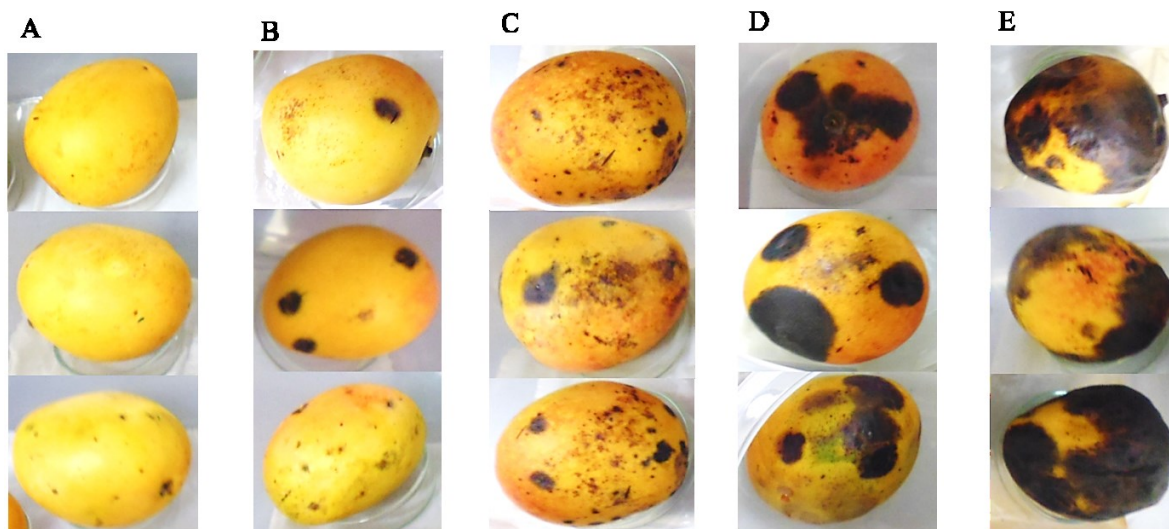


Figura 1. Escala de severidad para la evaluación de antracnosis en mango cv. Azúcar, apariencia de los frutos en cada nivel de severidad. A. nivel 0, B. nivel 1, C. nivel 2, D. nivel 3, E. nivel 4.

Figure 1. Scale of severity for the evaluation of anthracnose in mango cv. Azúcar, appearance of the fruits in each level of severity. A. level 0, B. level 1, C. level 2, D. level 3, E. level 4.

Tukey ($p \leq 0.05$), empleando el software estadístico Statistix 10.0.

RESULTADOS

Eficacia de microorganismos antagonistas en el control de la antracnosis. Se observó una diferencia en el desempeño de los microorganismos entre las dos réplicas realizadas en tiempos diferentes, pudiendo estar influenciado por la incidencia de las infecciones quiescentes; sin embargo, para la réplica uno en los tratamientos AP282, Bs006 y Lv316 se observó la mayor eficacia en el control de la enfermedad con valores entre el 62% y 65%, mientras que en la réplica dos la mayor eficacia se obtuvo con AP282 (49%) siendo además el tratamiento más consistente de acuerdo con la réplica uno (Figura 2).

random block design. The experimental unit consisted of three fruits, with three repetitions and two replicates, including an untreated control and one pathogenic control. An analysis of variance was carried out, along with Tukey's test ($p \leq 0.05$), using the statistics software Statistix 10.0.

RESULTS

Efficacy of antagonistic microorganisms in the control of anthracnose. A difference was noted in the performance of the microorganisms between the two replicates carried out in different times, possibly under the influence of the quiescent infections. However, in replicate one the treatments AP282, Bs006 and Lv316 displayed the highest efficacy in the control of the disease, with values between 62% and 65%, whereas in replicate two, the

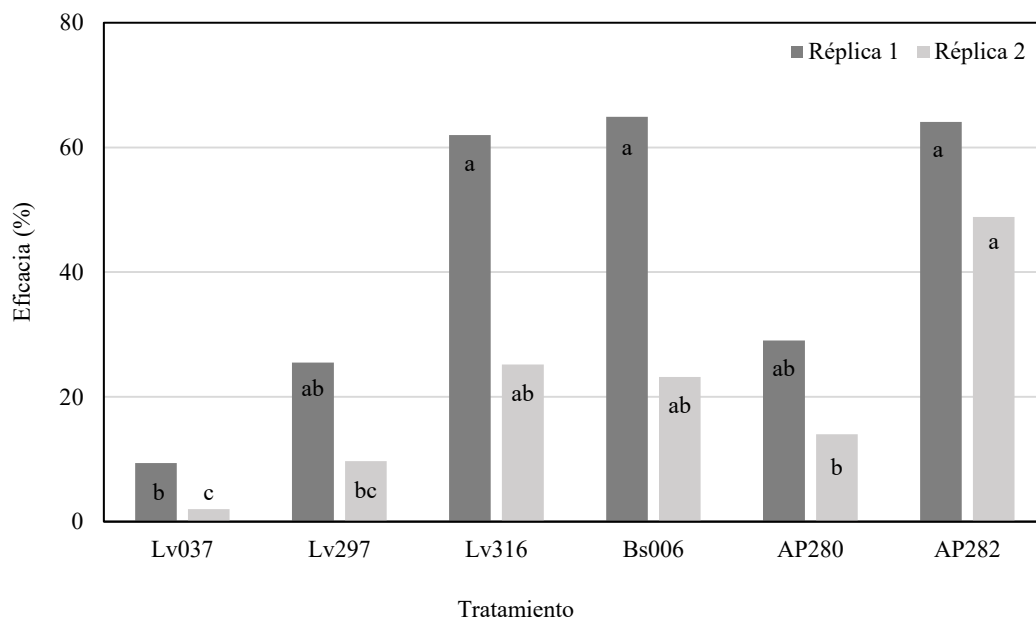


Figura 2. Eficacia de los antagonistas microbianos en la reducción de la antracnosis en frutos de mango cv. Azúcar inoculados con *C. gloeosporioides* Y3 después de siete días de almacenamiento a 23 °C. Columnas con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ($*= P > 0.05$).

Figure 2. Efficacy of microbial antagonists in the reduction of anthracnose in mango cv. Azúcar fruits inoculated with *C. gloeosporioides* Y3 after storage for 7 days at 23 °C. Columns with the same letter are not significantly different, according to Tukey's test ($*= P > 0.05$).

Eficacia de los aditivos quitinosos en el control de la antracnosis. Las diferentes concentraciones de quitina evaluadas presentaron algún porcentaje de control; sin embargo, la concentración de 10 mg L⁻¹ con una eficacia del 42% en la réplica uno y 49% en réplica dos presentó la mayor protección frente al crecimiento de *C. gloeosporioides*, siendo además el tratamiento más consistente (Figura 3).

Eficacia de la combinación de alternativas en el control de la antracnosis en mangos inoculados con *C. gloeosporioides*. Todos los tratamientos mostraron algún nivel de control sobre el desarrollo de la enfermedad en los mangos inoculados con *C. gloeosporioides*; sin embargo, la combinación del tratamiento hidrotérmico y el temperado de los frutos en la suspensión de *L. xyliniticus* AP282 presentó el mayor control con una eficacia del 84%,

highest efficacy was obtained with AP282 (49%), which was also the most consistent treatment in accordance with the first replicate (Figure 2).

Efficacy of chitinous additives in the control of anthracnose. The different concentrations of chitin evaluated displayed some percentage of control, although the concentration of 10 mg L⁻¹ with an efficacy of 42% in replicate one and 49% in replicate two presented the greatest protection against the growth of *C. gloeosporioides*, and was also the most consistent treatment (Figure 3).

Efficacy of the combination of alternatives in the control of anthracnose in mangoes inoculated with *C. gloeosporioides*. All treatments displayed some level of control on the development of the disease in mangoes inoculated with *C.*

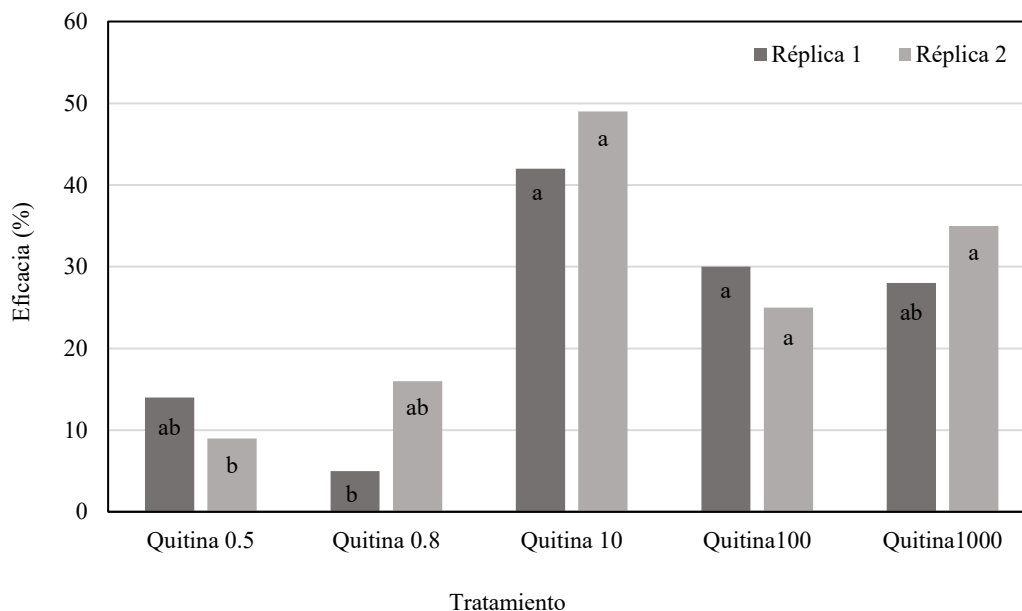


Figura 3. Eficacia de la quitina en diferentes concentraciones sobre la reducción de la antracnosis en frutos de mango cv. Azúcar inoculados con *C. gloeosporioides* Y3 después de siete días de almacenamiento a 23 °C. Columnas con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey (*= P>0.05).

Figure 3. Efficacy of chitin in different concentrations on the reduction of anthracnose in mango cv. Azúcar fruits inoculated with *C. gloeosporioides* Y3 after storage for seven days at 23 °C. Columns with the same letter are not significantly different, according to Tukey's test (*= P>0.05).

en tanto que al evaluar únicamente el tratamiento hidrotérmico se obtuvo el menor desempeño con un 19% de eficacia (Figura 4).

Eficacia de la combinación de alternativas en el control de la antracnosis a partir de infecciones quiescentes de *C. gloeosporioides*. Con respecto a la reducción en la expresión de las infecciones quiescentes, se observó que al combinar el tratamiento hidrotérmico con la adición de quitina o el posterior temperado de los frutos en las suspensiones de *L. xylaniticus* AP282 o *R. glutinis* Lv316, se redujo la incidencia de las infecciones con mayor eficacia en el control de la enfermedad en comparación con solo el tratamiento hidrotérmico, y aunque estos tratamientos superaron el 80% de eficacia fue la combinación de la hidroterapia y la inmersión en la Lv316 con un 89% el más destacado (Figuras 5 y 6).

gloeosporioides. However, the combination of the hydrothermal process and the tempering of the fruits in the *L. xylaniticus* AP282 suspension presented the greatest control, with an efficacy of 84%, whereas an evaluation of only the hydrothermal treatment presented the lowest performance, with an efficacy of 19% (Figure 4).

Efficacy of the combination of alternatives in the control of anthracnose from quiescent *C. gloeosporioides* infections. Regarding the reduction in the expression of quiescent infections, combining the hydrothermal treatment with the addition of chitin or the later tempered of the fruits in the *L. xylaniticus* AP282 or *R. glutinis* Lv316 suspensions reduced the incidence of infections with a greater efficacy in the control of the disease in comparison with the hydrothermal treatment alone, and although these treatments surpassed an efficacy

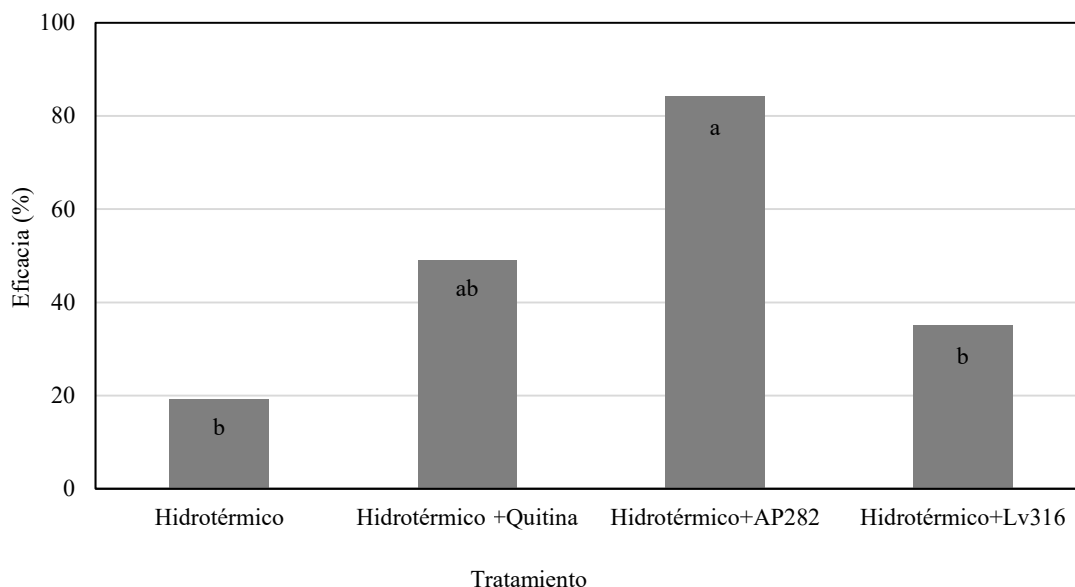


Figura 4. Eficacia de la combinación de tratamientos en la reducción de la antracnosis en frutos de mango cv. Azúcar inoculados con *C. gloeosporioides* Y3 después de 15 días de almacenamiento a 13 °C. Columnas con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey (*= P>0.05).

Figure 4. Efficacy of the combination of treatments in the reduction of anthracnose in mango cv. Azúcar fruits inoculated with *C. gloeosporioides* Y3 after storage for 15 days at 13 °C. Columns with the same letter are not significantly different, according to Tukey's test (*= P>0.05).

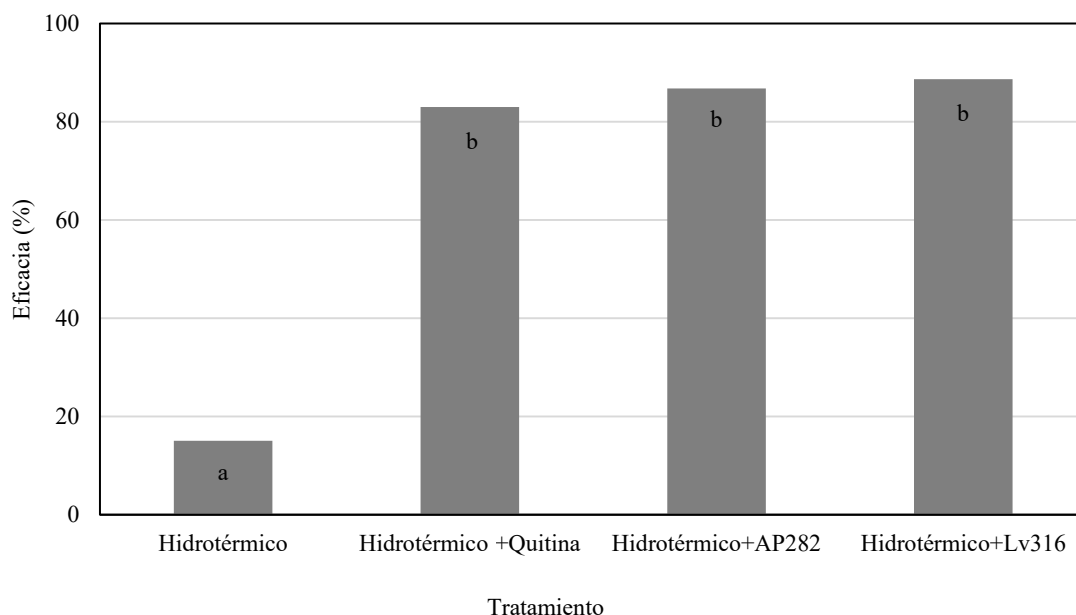


Figura 5. Eficacia de la combinación de tratamientos en la reducción de la antracnosis a partir de infecciones quiescentes de *C. gloeosporioides* en frutos de mango cv. Azúcar después de 19 días de almacenamiento a 13 °C. Columnas con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey (*= P>0.05).

Figure 5. Efficacy of the combination of treatments in the reduction of anthracnose from quiescent infections of *C. gloeosporioides* in mango cv. Azúcar fruits after storage for 19 days at 13 °C. Columns with the same letter are not significantly different, according to Tukey's test (*= P>0.05).

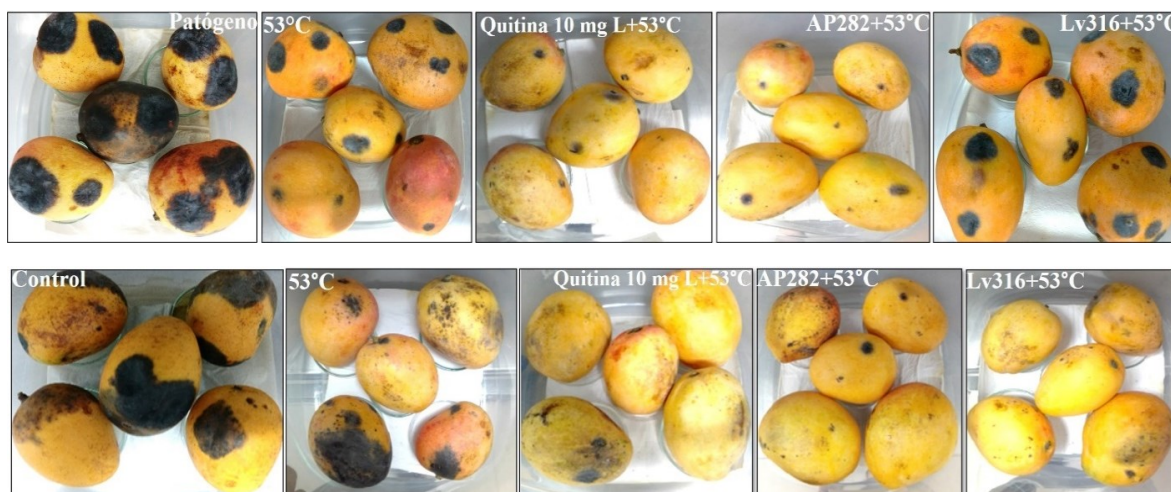


Figura 6. Síntomas de antracnosis en frutos de mango cv. Azúcar tratados con la combinación de tratamientos en almacenamiento a 13 °C. Superior: Frutos inoculados con *C. gloeosporioides* Y3 después de 15 días de almacenamiento. Inferior: Infecciones quiescentes de *C. gloeosporioides* en los frutos tratados después de 19 días de almacenamiento.

Figure 6. Symptoms of anthracnose in mango cv. Azúcar fruits treated with the combination of treatments storage at 13 °C. Top: Fruits inoculated with *C. gloeosporioides* Y3 after 15 days of storage. Bottom: Quiescent infections of *C. gloeosporioides* in treated fruits after 19 days of storage.

DISCUSIÓN

Lysinibacillus xylaniticus AP282, *R. glutinis* Lv316 y quitina (10 mg L⁻¹) mostraron control de la antracnosis en los frutos inoculados con el patógeno en condiciones de almacenamiento que favorecían su desarrollo (HR del 90% a 23 °C) y posteriormente, al evaluarse en una condición más cercana al almacenamiento comercial (13 °C) mantuvieron o aumentaron su protección y redujeron además la expresión de infecciones quiescentes. Mientras que la aplicación única del tratamiento hidrotérmico mostró una eficacia del 19%, pero al combinarse con el temperado en la suspensión de los antagonistas o la adición de quitina, la eficacia aumentó, particularmente en el caso de las infecciones quiescentes.

En este sentido, el desarrollo de *C. gloeosporioides* puede limitarse por la ausencia de nutrientes como nitrógeno orgánico y microelementos como hierro, necesarios para la germinación de los conidios y posteriores procesos de infección de tejidos, de igual forma por la exposición a metabolitos producidos por microorganismos antagonistas que puedan tener acción sobre el desarrollo del patógeno a partir de las infecciones quiescentes (Liu *et al.*, 2013).

Bacterias y levaduras presentan mecanismos de acción que pueden inhibir el desarrollo de diferentes patógenos, siendo estos la competencia por espacio y nutrientes, la producción de antibióticos, sideróforos, el parasitismo y la inducción de respuestas de defensa en las plantas (Rungjindamai, 2016). Aunque se conoce muy poco de los mecanismos de acción de *L. xylaniticus*, se sabe que otras especies de este género, como *Lysinibacillus sphaericus* ZA9 tienen la capacidad de inhibir *in vitro* el crecimiento de *Aspergillus* sp., *A. alternata*, *Bipolaris spicifera*, *Curvularia lunata* y *Sclerotinia* sp., mediante la secreción de sideróforos, ácido

of 80%, the combination of hydrotherapy and the immersion in Lv316 was the most outstanding, with 89% (Figures 5 and 6).

DISCUSSION

Lysinibacillus xylaniticus AP282, *R. glutinis* Lv316 and chitin (10 mg L⁻¹) proved to control the anthracnose in the fruits inoculated with the pathogen under storage conditions that favors their development (RH of 90% at 23 °C) and afterwards, when evaluating under a condition nearer to commercial storage (13 °C), they maintained or increased their protection and also reduced the expression of quiescent infections. Meanwhile, the single application of the hydrothermal treatment displayed an efficacy of 19%, but when combining it with tempering in the suspension of antagonists or adding chitin, its efficacy increased, particularly in the case of quiescent infections.

In this sense, the development of *C. gloeosporioides* may be limited by the absence of nutrients such as organic nitrogen and microelements such as iron, needed in the germination of conidia and later tissue infection processes, as well as by the exposure to metabolites produced by antagonistic microorganisms that may take action on the pathogen from quiescent infections (Liu *et al.*, 2013).

Bacteria and yeasts display action mechanisms that may inhibit the development of different pathogens, namely, competition for space and nutrients, the production of antibiotics, siderophores, parasitism and the induction of defense responses in plants (Rungjindamai, 2016). Although little is known on the action mechanisms of *L. xylaniticus*, other species of this genus, such as *Lysinibacillus sphaericus* ZA9, are known to have the ability to inhibit the growth of

cianhídrico (HCN), quitinasas, proteasas y lipasas, compuestos tipo clicloalcano y quinolina (Naureen *et al.*, 2017). Sin embargo, para tener claridad con respecto a cómo *L. xylaniticus* AP282 ejerce control sobre *C. gloeosporioides* Y3 es necesario determinar sus mecanismos de acción.

De otra parte, *R. glutinis* puede competir por espacio y nutrientes con diferentes patógenos, estudios han demostrado la capacidad de esta levadura para colonizar heridas en frutos de fresa y peras, observando una rápida colonización de heridas y control sobre *B. cinerea* a 20 °C sin afectar parámetros de calidad como pérdida de masa, firmeza y acidez (Zhang *et al.*, 2008, 2010). Adicionalmente, *R. glutinis* produce ácido rodotorúlico, sideróforo que quela el hierro presente en el sustrato ofreciéndole una ventaja competitiva (Calvente *et al.*, 1999). Para *R. glutinis* Lv316, en estudios desarrollados por Zapata y Cotes, (2013) se obtuvo un control del 60% para *B. cinerea* en cultivos comerciales de mora, superior al obtenido con aplicaciones de Prochloraz (58%) y Carbendazim (27%), relacionándose con la reducción de las infecciones quiescente en las flores.

En cuanto a la quitina por su carácter catiónico presenta actividad antifúngica mediada por la interacción de sus grupos amino libres (cargados positivamente en medio ácido) con los residuos negativos de las moléculas en la pared de los hongos, modificando la permeabilidad en la membrana plasmática provocando homeostasia iónica de K^+ y Ca^{2+} causando la pérdida de pequeñas moléculas como fosfatos, nucleótidos y sustrato de reacciones enzimáticas que eventualmente afectan el metabolismo fúngico (Ban *et al.*, 2015; Bautista-Baños *et al.*, 2006). Lucas-Bautista *et al.* (2019), encontraron mayor contenido de quitinasas en cáscaras maduras de papaya liofilizadas (29.000 unidades de quitinasa (UQ) g^{-1}) a las contenidas en cáscaras maduras congeladas (1.500 UQ g^{-1}), además de

Aspergillus sp., *A. alternata*, *Bipolaris spicifera*, *Curvularia lunata* and *Sclerotinia* sp. *in vitro*, by secreting siderophores, hydrocyanic acid (HCN), chitinases, proteases and lipases, cycloalkane and quinoline type compounds (Naureen *et al.*, 2017). However, in order to clarify how *L. xylaniticus* AP282 controls *C. gloeosporioides* Y3, its action mechanisms should be established.

On the other hand, *R. glutinis* may compete for space and nutrients with different pathogens. Studies have shown the ability of this yeast to colonize lesions in strawberry and pear fruits, observing a rapid colonization on lesions and control over *B. cinerea* at 20 °C without affecting quality parameters, such as the loss of mass, firmness and acidity (Zhang *et al.*, 2008, 2010). In addition, *R. glutinis* produces rhodotorulic acid, a siderophore that chelates the iron in the substrate, giving it a competitive advantage (Calvente *et al.*, 1999). For *R. glutinis* Lv316, a study carried out by Zapata and Cotes, (2013) obtained a control of 60% for *B. cinerea* in commercial berry crops, higher than that obtained with Prochloraz (58%) and Carbendazim (27%) applications, relating to the reduction of quiescent infections in the flowers.

Regarding chitin, its cationic character displays antifungal activity, mediated by the interaction of its free amino groups (positively charged in an acidic medium) with the negative residues in the molecules of the fungal walls modifying the permeability of the plasmatic membrane, causing the ionic homeostasis of K^+ and Ca^{2+} causing the loss of small molecules such as phosphates, nucleotides and substrates of enzyme reactions that will eventually affect the fungal metabolism (Ban *et al.*, 2015; Bautista-Baños *et al.*, 2006). Lucas-Bautista *et al.* (2019) found a greater content of chitinases in mature lyophilized papaya skins (29.000 units of chitinases (UC) g^{-1}) than those contained in mature frozen skins (1.500 UC g^{-1}),

determinar que la quitina contenida en *C. gloeosporioides* como patógeno presente en la poscosecha de papaya puede tener hasta un 20.6%.

Si bien los tratamientos hidrotérmicos tienden a sellar o curar las heridas limitando los sitios de penetración para los patógenos (Schirra *et al.*, 2000), mediante la adición de quitina (10 mg L⁻¹) o el temperado de la fruta en las suspensiones de *L. xylaniticus* AP282 o *R. glutinis* Lv316 se puede reducir las infecciones secundarias potencializando el control; sin embargo, es necesario desarrollar estudios tendientes a desarrollar bioplaguicidas con base en los microorganismos seleccionados, los cuales permitan su implementación a escala comercial, por otra parte, teniendo en cuenta la eficiencia de la quitina, es necesario contar con un sustituto comercial considerando que en este trabajo se utilizó quitina grado reactivo.

La inoculación de microorganismos antagonistas durante el temperado posterior al tratamiento hidrotérmico ha mostrado un alto potencial en la reducción de daños por patógenos en poscosecha, Karabulut y Baykal (2004) observaron que la incidencia de *B. cinerea* y *Penicillium expansum* en melocotones disminuía al someterse a un tratamiento hidrotérmico a 55 °C por 10 segundos y posterior inoculación con *C. oleophila*. De otra parte, es posible que con la aplicación conjunta de los antagonistas se pueda potenciar aún más el control, tal como lo demostraron Carrillo-Fasio *et al.*, (2005) quienes evaluaron aislamientos del género *Bacillus* y *Rhodotorula* solos y en combinación, encontrando un mayor control sobre antracnosis en frutos de mango Kent al aplicar la mezcla de biocontroladores.

En este sentido, el control de las infecciones quiescentes mediante el tratamiento hidrotérmico con adición de quitina a 10 mg L⁻¹ o el posterior temperado de la fruta en la suspensión de *R. glutinis* Lv316 o *L. xylaniticus* AP282 puede ser una

and they also determined that the chitin contained in *C. gloeosporioides* as a pathogen present in the papaya postharvest may contain up to 20.6%.

Despite the tendency of hydrothermal treatments to seal or cure lesions, limiting the areas of penetration for the pathogens (Schirra *et al.*, 2000), with the action of chitin (10 mg L⁻¹) or the tempering of the fruit in the suspensions of *L. xylaniticus* AP282 or *R. glutinis* Lv316, it is possible to reduce secondary infections by reinforcing control. However, studies must be carried out to develop biopesticides based on the selected microorganisms to allow their implementation on a commercial scale. On the other hand, considering the efficacy of chitin, it is necessary to have a commercial substitute, considering that this study used reactive grade chitin.

The inoculation of antagonistic microorganisms during the tempering after the hydrothermal treatment has shown a high potential for the reduction of damages by pathogens in postharvest. Karabulut and Baykal (2004) observed that the incidence of *B. cinerea* and *Penicillium expansum* in peaches decreased with a hydrothermal treatment at 55 °C for 10 seconds followed by inoculation with *C. oleophila*. On the other hand, it is possible that with the combined application of the antagonists, the control may be greater, as proven by Carrillo-Fasio *et al.* (2005), who evaluated isolations of the genus *Bacillus* and *Rhodotorula* on their own and combined, finding a greater control of anthracnose in Kent mango fruits when applying the mixture of biocontrol agents.

In this sense, controlling quiescent infections with the hydrothermal treatments with the addition of chitin at 10 mg L⁻¹ or the later tempering of the fruit in the suspension of *R. glutinis* Lv316 or *L. xylaniticus* AP282 may be a strategy to treat the mango cv. Azúcar immediately after its harvest, allowing the microorganisms in the fruit

estrategia para tratar el mango Azúcar inmediatamente después de su cosecha, permitiendo el establecimiento de los microorganismos en la fruta para aumentar su capacidad protectora durante el almacenamiento.

CONCLUSIONES

La combinación del tratamiento hidrotérmico a 53 °C por 5 minutos con adición de quitina a 10 mg L⁻¹ o el posterior temperado de los mangos en las suspensiones de *R. glutinis* Lv316 o *L. xylinaticus* AP282 presentó una eficacia del 83 al 89% en el control de la antracnosis originada partir de las infecciones quiescentes de *C. gloeosporioides*, alternativas que pueden considerarse en el tratamiento poscosecha del mango cv. Azúcar.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) de Colombia y a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA por la financiación del proyecto “Evaluación de métodos y herramientas de prevención de Antracnosis en campo y poscosecha (Primera aproximación)” que permitió el desarrollo de este trabajo.

LITERATURA CITADA

- Alvarado JR y Moreno LA. 2012. Acuerdo de competitividad cadena productiva del mango en Colombia. <https://sioc.minagricultura.gov.co/Mango/Normatividad/004%20-%20D.C.%20-%20Acuerdo%20Competitividad%20Cadena%20Mango.pdf>. (Consulta, marzo 2021).
- Arauz L. 2000. Mango anthracnose: Economic impact and current options for integrated management. *Plant Disease* 84(6): 600–611. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.6.600>
- Asmar S. 2021. Productores de mango del Magdalena recibieron luz verde para exportar hacia Europa. Agronegocios. <https://www.agronegocios.co/agricultura/productores-de-mango-del-magdalena-recibieron-luz-verde-para-exportar-hacia-europa-3146069>. (Consulta, marzo 2021).

to establish and therefore, increase their protective ability during storage.

CONCLUSIONS

The combination of the hydrothermal treatment at 53 °C for 5 minutes with the addition of chitin at 10 mg L⁻¹ or the later tempering of the mangoes in the suspensions of *R. glutinis* Lv316 or *L. xylinaticus* AP282 presented an efficacy between 83 and 89% in the control of anthracnose originated from the quiescent *C. gloeosporioides* infections, alternatives which may be considered in the postharvest treatment of the mango cv. Azúcar.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank the Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia and the Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA for funding the project “Evaluation of prevention methods and tools to prevent anthracnose on the field and postharvest (First approach)” that allowed this research to be carried out.

~~~~~ End of the English version ~~~~~

- <https://www.agronegocios.co/agricultura/productores-de-mango-del-magdalena-recibieron-luz-verde-para-exportar-hacia-europa-3146069>. (Consulta, marzo 2021).
- Ban Z, Wei W, Yang X, Feng J, Guan J and Li L. 2015. Combination of heat treatment and chitosan coating to improve postharvest quality of wolfberry (*Lycium barbarum*). *International Journal of Food Science and Technology* 50(4): 1019–1025. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12734>
- Bautista-Baños S, Hernández-Lauzardo AN, Velázquez-Del Valle MG, Hernández-López M, Ait Barka E, Bosquez-Molina E and Wilson CL. 2006. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection* 25(2): 108–118. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.03.010>
- Bautista-Rosales P, Calderon-Santoyo M, Servín-Villegas R, Ochoa-Álvarez N, Vázquez-Juárez R and Ragazzo-Sánchez J. 2014. Biocontrol action mechanisms of *Cryptococ-*



- cus laurentii* on *Colletotrichum gloeosporioides* of mango. *Crop Protection* (65): 194–201. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.07.019>
- Calvente V, Benuzzi D and de Tosetti M. 1999. Antagonistic action of siderophores from *Rhodotorula glutinis* upon the postharvest pathogen *Penicillium expansum*. *International Biodeterioration and Biodegradation* 43(4): 167–172. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(99\)00046-3](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(99)00046-3)
- Chechi A, Stahlecker J, Dowling ME and Schnabel G. 2019. Diversity in species composition and fungicide resistance profiles in *Colletotrichum* isolates from apples. *Pesticide Biochemistry and Physiology* (158): 18–24. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.04.002>
- Corrales-Bernal A, Maldonado ME, Urango LA, Franco MC and Rojano BA. 2014. Mango de azúcar (*Mangifera indica*), variedad de Colombia: características antioxidantes, nutricionales y sensoriales. *Revista chilena de nutrición* 41(3): 312–318. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182014000300013>
- Carrillo-Fasio JA, García-Estrada RS, Muy-Rangel MD, Sañudo-Barajas A, Márquez-Zequera I, Allende-Molar R. 2005. Control Biológico de Antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc.] y su Efecto en la Calidad Poscosecha del Mango (*Mangifera indica* L.) en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 23: 24–32. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61223104.pdf>
- Corkidi G, Balderas-Ruiz KA, Taboada B, Serrano-Carreón L and Galindo E. 2006. Assessing mango anthracnose using a new three-dimensional image-analysis technique to quantify lesions on fruit. *Plant Pathology* 55(2): 250–257. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01321.x>
- Díaz-García A, García-Riaño J and Zapata-Narváez J. 2015. Improvement of sporulation conditions of a new strain of *Bacillus amyloliquefaciens* in liquid fermentation. *Advances in Bioscience and Biotechnology* 6 (4): 302–310. <http://dx.doi.org/10.4236/abb.2015.64029>
- Fallik E. 2004. Prestorage hot water treatments (immersion, rinsing and brushing). *Postharvest Biology and Technology* 32(2): 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.10.005>
- Fallik E, Grinberg S, Alkalai S and Lurie S. 1996. The effectiveness of postharvest hot water dipping on the control of grey and black moulds in sweet red pepper (*Capsicum annuum*). *Plant Pathology* 45(4): 644–649. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.1996.d01-175.x>
- Gámez RM, Rodríguez F, Bernal JF, Agarwala R, Landsman D and Mariño-Ramírez L. 2015. Genome sequence of the Banana plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* BS006. *Genome announcements* 3(6): e01391-15. <https://doi.org/10.1128/genomeA.01391-15>
- Kamle M and Kumar P. 2016. *Colletotrichum gloeosporioides*: Pathogen of anthracnose disease in Mango (*Mangifera indica* L.). In: Kumar P, Kumar GV, Kumar TA and Kamle M (Ed.). *Current Trends in Plant Disease Diagnostics and Management Practices*, Fungal Biology, 207–219. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-27312-9\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-319-27312-9_9)
- Karabulut O and Baykal N. 2004. Integrated control of postharvest diseases of peaches with a yeast antagonist, hot water and modified atmosphere packaging. *Crop Protection* 23(5): 431–435. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2003.09.012>
- Koller M, Rayns F, Cubison S and Schmutz U. 2016. Guidelines for Experimental Practice in Organic Greenhouse Horticulture. BioGreenhouse COST Action FA 1105. <http://dx.doi.org/10.18174/373581>
- Lastochkina O, Seifikalhor M, Aliniaiefard S, Baymiev A, Pusenkova L, Garipova S Kulabuhova D and Maksimov I. 2019. *Bacillus* spp: Efficient biotic strategy to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Plants* 8(4): 97. <https://doi.org/10.3390/plants8040097>
- Lucas-Bautista JA, Bautista-Baños S, Ventura-Aguilar RI y Gómez-Ramírez M. 2019. Determinación de quitina en hongos poscosecha y de quitinasas en frutos de papaya "Maradol". *Revista Mexicana de Fitopatología* 37 (No. Esp. 1): 1-7. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1902-3>
- Liu J, Sui Y, Wisniewski M, Droby S and Liu Y. 2013. Review: Utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. *International Journal of Food Microbiology* 167(2): 153–160. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.09.004>
- MINAGRICULTURA. 2018. Mango. [https://www.agronet.gov.co/Documents/13-MANGO\\_2017.pdf](https://www.agronet.gov.co/Documents/13-MANGO_2017.pdf) (Consulta diciembre, 2020).
- Moreno CA, Zapata JA, Díaz A and Cotes AM. 2012. Selection of a *Pichia onychis* isolate for biological control of *Botrytis cinerea* based on its eco-physiological characteristics. *IOBC-WPRS Bulletin* 78(2):229-233.
- Naureen Z, Rehman NU, Hussain H, Hussain J, Gilani SA, Al Housni SK, Mabood F, Khan AL, Farooq S, Abbas G and Harrasi AA. 2017. Exploring the potentials of *Lysinibacillus sphaericus* ZA9 for plant growth promotion and biocontrol activities against phytopathogenic fungi. *Frontiers in Microbiology* (8):1477. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01477>
- Perez M, Contreras L, Garnica N, Fernández-Zenoff M, Farias M, Sepulveda M, Ramallo J and Dib J. 2016. Native killer yeasts as biocontrol agents of postharvest fungal diseases in lemons. *PLoS ONE* 11(10): 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165590>
- Prusky D, Alkan N, Mengiste T and Fluhr R. 2013. Quiescent and necrotrophic lifestyle choice during postharvest disease development. *Annual Review of Phytopathology* 51(1): 155–176. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102349>
- Rungjindamai N. 2016. Isolation and evaluation of biocontrol agents in controlling anthracnose disease of mango in Thailand. *Journal of Plant Protection Research* 56(3): 306–311. <https://doi.org/10.1515/jppr-2016-0034>
- Schirra M, D'hallewin G, Ben-yehoshua S and Fallik E. 2000. Host-pathogen interaction modulated by heat treatment. *Postharvest Biology and Technology* 21(1): 71–85. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00166-6](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00166-6)
- Trinidad-Ángel E, Ascencio-Valle FDJ, Ulloa OA, Ramírez-Ramírez OC, Ragazzo-Sánchez JA, Calderón-Santoyo M and Bautista PU. 2017. Identificación y caracterización de *Colletotrichum* spp. causante de antracnosis en aguacate de Nayarit, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* (19):3953-3964. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i19.664>
- Usall J, Ippolito A, Sisquella M and Neri F. 2016. Physical treatments to control postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology* (122): 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.05.002>

- Vilaplana R, Pazmiño L and Valencia-Chamorro S. 2018. Control of anthracnose, caused by *Colletotrichum musae*, on postharvest organic banana by thyme oil. *Postharvest Biology and Technology* (138): 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.12.008>
- Zapata J, Acosta C, Díaz A, Villamizar L and Cotes AM. 2011. Characterization of *Rhodotorula glutinis* and *Pichia onychis* isolates with potential as biopesticides for controlling *Botrytis cinerea*. *Acta Horticulturae* (905): 155–160. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2011.905.16>
- Zapata J and Cotes AM. 2013. Eficacia de dos prototipos de bioplaguicida a base de *Rhodotorula glutinis* cepa LvCo7 y un bioplaguicida a base de *Trichoderma koningiopsis* cepa Th003 en el control de *B. cinerea* en cultivos de mora. Pp. 73–79. *En*: Zapata, J. (Ed.), Desarrollo de prototipos de bioplaguicida a base de *Rhodotorula glutinis* LvCo7 para el control de *Botrytis cinerea* en cultivos de mora. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Corpoica, Produmedios 79p. <http://hdl.handle.net/20.500.12324/13072>
- Zhang H, Komla G, Castoria R, Tibiru M and Yang Q. 2017. Augmentation of biocontrol agents with physical methods against postharvest diseases of fruits and vegetables. *Trends in Food Science & Technology* (69): 36–45. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.020>
- Zhang H, Ma L, Turner M, Xu H, Zheng X, Dong Y and Jiang S. 2010. Salicylic acid enhances biocontrol efficacy of *Rhodotorula glutinis* against postharvest Rhizopus rot of strawberries and the possible mechanisms involved. *Food Chemistry* 122(3): 577–583. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.013>
- Zhang H, Wang L, Dong Y, Jiang S, Zhang H and Zheng X. 2008. Control of postharvest pear diseases using *Rhodotorula glutinis* and its effects on postharvest quality parameters. *International Journal of Food Microbiology* 126(1–2): 167–171. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.05.018>