

**“EVALUACIÓN DE UN PRODUCTO FUNGICIDA NO  
CONTAMINANTE PARA PREVENIR EL DETERIORO FÚNGICO EN  
FRUTOS TROPICALES EN POSTCOSECHA”**

POR:

**I.T.B CAROLINA RODRÍGUEZ PEREIDA**

TESIS PROPUESTA A LA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS EN ALIMENTOS

DIRECTOR DE TESIS:  
DR. PORFIRIO GUTIÉRREZ MARTÍNEZ

CO-DIRECTOR:  
DR. RAFAEL GÓMEZ JAIMES

Tepic, Nayarit a 15 Junio del 2018.

## ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS .....	v
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vii
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. ANTECEDENTES .....	3
2.1 Plátano ( <i>Musa paradisiaca</i> L.) .....	3
2.1.1 Importancia económica del plátano .....	3
2.1.2 Producción nacional del plátano .....	3
2.1.3 Producción de plátano en Nayarit .....	4
2.1.4 Enfermedades postcosecha en plátano .....	5
2.2 Papaya ( <i>Carica papaya</i> L.) .....	6
2.2.1 Importancia económica de la papaya .....	7
2.2.2 Producción nacional de papaya .....	7
2.2.3 Producción de papaya en Nayarit .....	8
2.2.4 Enfermedades postcosecha en papaya .....	8
2.3 Limón ( <i>Citrus latifolia</i> ) .....	9
2.3.1 Importancia económica del limón .....	9
2.3.2 Producción nacional de limón .....	9
2.3.3 Producción de limón en Nayarit .....	10
2.3.4 Enfermedades postcosecha en limón .....	10
2.4 Pérdidas postcosecha .....	11
2.5 Estrategias de control .....	12
2.6 Agua electrolizada .....	13
2.6.1 Generación de agua electrolizada .....	14
2.6.2 Usos del agua electrolizada .....	16

2.6.3	Ventajas y desventajas del agua electrolizada .....	17
2.6.4	Principio de la actividad antimicrobiana .....	17
3.	JUSTIFICACIÓN .....	19
4.	OBJETIVOS .....	20
4.1	Objetivo General .....	20
4.2	Objetivos Específicos.....	20
5.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	21
5.1	Material vegetal .....	21
5.2	Aislamiento, purificación e identificación de patógenos de postcosecha .....	21
5.3	Tratamientos.....	22
5.4	Pruebas “ <i>in vitro</i> ” .....	23
5.4.1.	Determinación del crecimiento micelial .....	24
5.4.2.	Esporulación .....	24
5.4.3	Germinación.....	25
5.5	Pruebas “ <i>in vivo</i> ”.....	26
5.5.1	Inoculación del hongo en frutos .....	26
5.5.2	Aplicación del tratamiento con agua electrolizada .....	27
5.6	Pruebas fitopatógenas .....	28
5.6.1	Incidencia .....	28
5.6.2	Severidad.....	29
5.6.3	Efectividad biológica.....	30
5.7	Pruebas fisicoquímicas .....	30
5.7.1	Pérdida fisiológica de peso .....	30
5.7.2	Firmeza .....	31
5.7.3	Sólidos solubles totales (SST) .....	31

5.7.4 pH.....	31
5.7.5 Acidez titulable .....	32
5.7.6 Porcentaje de jugo .....	32
5.8 Diseño Estadístico .....	33
5.8.1 Pruebas “ <i>in vitro</i> ” .....	33
5.8.2 Pruebas “ <i>in vivo</i> ” .....	33
6. RESULTADOS .....	35
6.1 Aislamiento e identificación de patógenos postcosecha .....	35
6.2 Efecto del agua electrolizada oxidante a nivel “ <i>in vitro</i> ” .....	36
6.2.1 Crecimiento micelial y porcentaje de inhibición .....	37
6.2.2 Esporulación .....	40
6.2.3 Germinación de esporas .....	42
6.3 Efecto del agua electrolizada oxidante a nivel “ <i>in vivo</i> ” .....	43
6.3.1 Pruebas fitopatógenas.....	43
6.3.2 Pruebas fisicoquímicas.....	55
7. CONCLUSIONES.....	65
8. BIBLIOGRAFIA .....	66
9. ANEXOS .....	73
Anexo 1. Aplicación de los tratamientos “ <i>in vivo</i> ” con agua EO (pruebas fitopatógenas).....	73

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1. Producción de plátano en México (2010).....	4
Cuadro 2.2 Estudios previos con agua electrolizada.....	16
Cuadro 5.1. Características del agua electrolizada oxidante en sus diversas diluciones.....	23
Cuadro 5.2. Escala de severidad de la enfermedad.....	29
Cuadro 5.3. Diseño estadístico pruebas “ <i>in vitro</i> ”.....	33
Cuadro 5.4. Diseño estadístico pruebas fisicoquímicas.....	34
Cuadro 5.5. Diseño estadístico pruebas fitopatógenas.....	34
Cuadro 5.6. Diseño estadístico entre métodos (A y B).....	34
Cuadro 6.1. Efecto del agua electrolizada oxidante a distintas concentraciones de cloro activo en el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de <i>Colletotrichum sp.</i> , <i>Fusarium sp.</i> y <i>Penicillium sp.</i> .....	37
Cuadro 6.2. Efecto del agua electrolizada oxidante a distintas concentraciones de cloro activo en la esporulación de <i>Colletotrichum sp.</i> , <i>Fusarium sp.</i> y <i>Penicillium sp.</i> .....	41
Cuadro 6.3. Germinación de esporas de <i>Colletotrichum sp.</i> , <i>Fusarium sp.</i> y <i>Penicillium sp.</i> tratadas con agua electrolizada oxidante a diferentes concentraciones de cloro activo.....	42
Cuadro 6.4. Efecto del agua electrolizada oxidante a distintas concentraciones de cloro activo en la incidencia de la enfermedad.....	44
Cuadro 6.5. Comportamiento de severidad en limón (Método A).....	47
Cuadro 6.6. Comportamiento de severidad en plátano (Método A).....	48
Cuadro 6.7. Comportamiento de severidad en papaya (Método A).....	49
Cuadro 6.8. Comportamiento de severidad en limón (Método B). ....	50

Cuadro 6.9. Comportamiento de severidad en plátano (Método B).....	51
Cuadro 6.10. Comportamiento de severidad en papaya (Método B).....	52
Cuadro 6.11. Efectividad biológica del agua electrolizada oxidante a diferentes concentraciones de cloro activo.....	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Volumen de producción de plátano en México (2015).....	5
Figura 2.2. Pudrición de la corona en plátano.....	5
Figura 2.3. Figura 3. Síntomas. (A) Antracnosis, (B) Pudrición de la punta del cigarro.....	6
Figura 2.4. Características del fruto infectado. (A) <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , (B) <i>Fusarium oxysporum</i> , (C) <i>Penicillium digitatum</i> , (D) <i>Rhizopus stolonifera</i> .....	8
Figura 2.5. Producción nacional de limón persa en el 2012.....	10
Figura 2.6. Deterioro del fruto por <i>Penicillium</i> .....	11
Figura 2.7. Diferentes niveles de severidad de <i>C. gloeosporioides</i> en limón mexicano.....	11
Figura 2.8. Generación de agua electrolizada.....	15
Figura 6.1. Aislamiento “ <i>in vitro</i> ” de <i>Colletotrichum sp.</i> en frutos de papaya.....	35
Figura 6.2. Aislamiento “ <i>in vitro</i> ” de <i>Fusarium sp.</i> en frutos de plátano.....	36
Figura 6.3. Aislamiento “ <i>in vitro</i> ” de <i>Penicillium sp.</i> de frutos de limón.....	36
Figura 6.4. Comportamiento gráfico del crecimiento micelial de <i>Colletotrichum sp.</i> tratado con diferentes concentraciones de agua electrolizada oxidante.....	38
Figura 6.5. Comportamiento gráfico del crecimiento micelial de <i>Fusarium sp.</i> tratado con diferentes concentraciones de agua electrolizada oxidante.....	39
Figura 6.6. Comportamiento gráfico del crecimiento micelial de <i>Penicillium sp.</i> tratado con diferentes concentraciones de agua electrolizada oxidante.....	39
Figura 6.7. Efecto del agua electrolizada oxidante a 30 ppm de cloro activo en la pérdida fisiológica de peso (PFP).....	56

Figura 6.8. Cambios de firmeza en los frutos tratados a 30 ppm y los frutos controles.....	58
Figura 6.9. Cambios en el contenido de sólidos solubles totales (SST) de los frutos tratados a 30 ppm y los frutos controles.....	60
Figura 6.10. Comportamiento del pH de los frutos tratados a 30 ppm y los frutos controles.....	62
Figura 6.11. Comportamiento de la acidez titulable de los frutos tratados a 30 ppm y los frutos controles.....	63
Figura 6.12. Porcentaje de jugo de limón de los frutos tratados a 30 ppm y los frutos controles.....	64



## 1. INTRODUCCIÓN

Las pérdidas postcosecha, que se producen entre la etapa de la cosecha y el consumo del producto hortofrutícola (frutas, vegetales, tubérculos, raíces), es un tema de importancia a nivel mundial.

Este tipo de productos frescos se les conoce también como productos perecederos debido a su tendencia inherente de deteriorarse por razones físicas, fisiológicas, o por la invasión de plagas, infecciones y enfermedades causadas por patógenos.

En los países en desarrollo en donde existe una gran deficiencia en la infraestructura de comercialización, las pérdidas postcosecha varían entre 25 a 50% de la producción. Las mermas de esta magnitud representan una pérdida significativa de alimentos y un considerable daño económico para los comerciantes y productores.

En la actualidad, resulta fundamental la incorporación de nuevas técnicas y tecnologías alternas a los métodos tradicionales que permitan conservar la calidad de los productos, evitar pérdidas e incrementar la disponibilidad de los alimentos.

Un descubrimiento reciente en la industria alimentaria es la posibilidad de usar agua electrolizada como agente desinfectante. Este es el resultado de un nuevo concepto desarrollado en Japón, y que es tema de interés en los países desarrollados.

Existen pruebas de que el agua electrolizada puede funcionar mejor que las soluciones de agua y cloro como desinfectante de carnes, frutas y vegetales, utensilios y equipo de procesamiento.

El agua electrolizada (EW por sus siglas en inglés "Electrolyzed Water") consiste en una solución, obtenida por electrólisis diafragmática, de agua corriente y una solución saturada salina, en donde los agentes desinfectantes se producen directamente en el agua resultado de la corriente eléctrica, sin la adición de aditivos químicos.

Tras el proceso de electrólisis diafragmática se obtienen dos soluciones con características y propiedades diferentes: agua electrolizada ácida o agua electrolizada oxidante (EO), generada en la cámara del ánodo, y agua electrolizada básica o agua electrolizada reducida (ER), generada en la cámara del cátodo.

En base a lo anterior, el presente trabajo tiene como propósito evaluar el efecto del agua electrolizada oxidante (EO) como agente germicida de hongos fitopatógenos y en la conservación de la calidad postcosecha en frutos de plátano, papaya y limón.

La obtención de resultados favorables, sería positivo en el ámbito tecnológico, creando un nuevo proceso tecnológico; económico, reduciendo significativamente el volumen de frutas y hortalizas con daños en postcosecha, y con ello incrementando ingresos; ecológico, disminuyendo el impacto ambiental y alteraciones en los agroecosistemas; y social, reduciendo los daños a la salud humana por el uso de fungicidas y productos tóxicos; manteniendo y preservando a la vez la calidad de los productos.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 Plátano (*Musa paradisiaca* L.)**

El plátano es el nombre comúnmente utilizado para referirse a la fruta de la especie de género *Musa* que se cultiva en los países tropicales y subtropicales de todo el mundo (Alabi y cols., 2013). Es posiblemente el cultivo más antiguo del mundo (Kumar y cols., 2012).

Se caracteriza por ser un fruto oblongo de color amarillo verdoso, amarillo, amarillo rojizo o rojo. Los plátanos son polimórficos, pudiendo contener de 5-20 manos, cada una con 2-20 frutos. Durante su desarrollo éstos se doblan geotrópicamente, según su peso, determinando esta reacción la forma del racimo (INFOAGRO, 2017).

#### **2.1.1 Importancia económica del plátano**

El plátano es la fruta tropical más cultivada y una de las más importantes en términos globales (INFOAGRO, 2017). Es una de las frutas más consumidas en México y en el mundo (SIAP- SAGARPA, 2014).

#### **2.1.2 Producción nacional del plátano**

En México el plátano se produce en 16 entidades del país: Campeche, Colima, Chiapas, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz y Yucatán; en una superficie de alrededor de 78 mil 600 hectáreas, con una producción promedio de los últimos cuatro años de 2 millones 243 mil toneladas (SAGARPA, 2017).

Los cinco principales estados productores son Chiapas, Tabasco, Veracruz, Jalisco y Colima, con una producción estimada en 2 millones 45 mil toneladas en 2016, lo que significa el 84.6 % del volumen nacional registrado (SAGARPA, 2017).

Cuadro 2.1. Producción de plátano en México (2016).

<b>Estado productor</b>	<b>Producción (miles de ton)</b>	<b>%</b>
Chiapas	708 miles de ton	29.3%
Tabasco	601.7 miles de ton	24.9%
Veracruz	322.6 miles de ton	13.3%
Jalisco	217.5 miles de ton	9.0%
Colima	195.1 miles de ton	8.1%

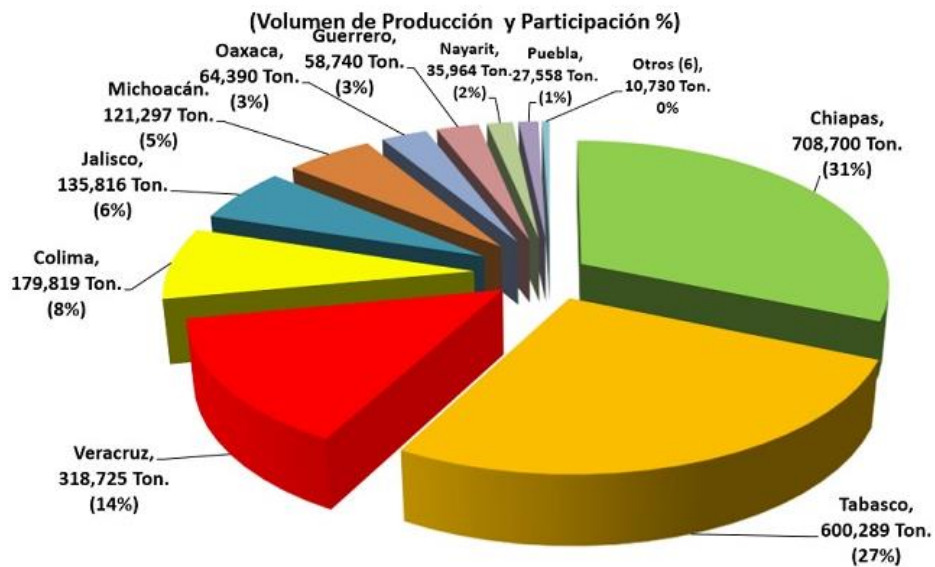
Fuente: SAGARPA, 2017.

En lo que corresponde a comercio exterior, el plátano “Hecho en México” es exportado a 34 países, entre ellos Estados Unidos, Guatemala, Países Bajos, Reino Unido, España, Japón, Canadá, Alemania, entre otros. Los dos principales compradores de plátano mexicano son Estados Unidos y Países Bajos, cuyas importaciones alcanzan 155 millones 119 mil dólares (SAGARPA, 2017).

### **2.1.3 Producción de plátano en Nayarit**

En el estado de Nayarit, el plátano es uno de los cultivos más importantes dentro de los frutales. En el 2015, se obtuvo una producción aproximada de 35 mil 964 toneladas, representando el 2% del volumen de producción total nacional (SIAP, 2015).

Figura 2.1. Volumen de producción de plátano en México (2015).



Fuente: SIAP, 2015.

#### 2.1.4 Enfermedades postcosecha en plátano

La principal enfermedad de postcosecha en plátano es la conocida como pudrición de corona o crown rot (Alvindia y cols., 2004), enfermedad se caracteriza por el desarrollo de una capa micelial blanquecina en la superficie de la corona. *Colletotrichum musae* y *Fusarium spp.* son sus principales agentes causales (Lassois y cols., 2010).



Figura 2.2. Pudrición de la corona en plátano.

La antracnosis es otra de las principales enfermedades postcosecha que afecta la calidad del fruto, se considera que *Colletotrichum gloeosporioides* es el agente causal (Lima y cols., 2003). La pudrición de la punta del cigarro causada por los hongos *Trachysphaera fructigena* y *Verticillium theobromae*; y la pudrición de los dedos causada por *Botryodiplodia theobromae*, son enfermedades postcosecha que a su vez ocasionan serias pérdidas de plátano tanto en términos de cantidad, como de calidad (Dadzie y Orchard).



Figura 2.3. Síntomas. (A) Antracnosis, (B) Pudrición de la punta del cigarro.

## 2.2 Papaya (*Carica papaya* L.)

La papaya, perteneciente a la familia *Caricaceae*, es un cultivo hortícola principal de regiones tropicales y subtropicales (Campostrini y Glenn, 2007). Es una baya alargada de varios tamaños con una piel fina y lisa, de un color amarillo verdoso. Su pulpa es gruesa con un color que va desde el amarillo al rojo y ofrece un agradable, dulce, suave sabor. Es una fruta climatérica, y se desarrolla a lo largo de todo el año (Fuggate y cols., 2010).

Las partes de la planta de papaya que tienen uso incluyen las hojas, los frutos, las semillas, el látex, y la raíz. (Anibijuwon y Udeze, 2009). La papaína es una sustancia bioactiva importante recuperada del látex de la fruta verde (Boshra y Tajul, 2013).

### **2.2.1 Importancia económica de la papaya**

Debido a su alto rendimiento, valor nutricional, propiedades funcionales, y producción durante todo el año, la importancia del cultivo de papaya en todo el mundo es innegable (Jiménez y cols., 2014).

Cada parte de la planta de papaya posee valor económico, ya que es útil de una u otra manera, desde su fruto hasta su tallo y sus hojas, por lo que se cultiva en escala comercial. Durante las últimas décadas se han logrado progresos considerables en cuanto a la actividad biológica y la aplicación medicinal de la papaya y ahora se considera una valiosa nutracéutica planta frutal (Krishna y cols., 2008).

### **2.2.2 Producción nacional de papaya**

En México la papaya es producida en 19 entidades, donde los cinco principales estados productores son Oaxaca, Colima, Chiapas, Veracruz y Michoacán, estados que aportan el 81.1% del volumen total nacional, lo que asciende a 776.6 mil toneladas. De esta forma, Oaxaca aporta el 32.7% de la producción nacional, Colima 16.5%, Chiapas 13.6 %, Veracruz 10.9 %, y Michoacán el 7.3% (SAGARPA, 2017).

En la actualidad, México ocupa el quinto lugar en producción de papaya, la cual es producida de manera constante durante todo el año (SAGARPA, 2017).

Los cinco principales países compradores de papaya mexicana son Estados Unidos, Reino Unido, Canadá, Alemania y Países Bajos, reportando ingresos el año pasado de 92.8 millones de dólares (SAGARPA, 2017).

### 2.2.3 Producción de papaya en Nayarit

Nayarit es una de las entidades productoras de papaya. El registro de producción más actual que se tiene es en el 2002, con una producción de papaya variedad maradol de 13 mil 322 toneladas (SAGARPA, 2005).

Durante el 2016, Nayarit registró un incremento en la producción de papaya del 16.3% (SAGARPA, 2017).

### 2.2.4 Enfermedades postcosecha en papaya

Entre las enfermedades que afectan a la papaya se encuentran la antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* y *Colletotrichum capsici*, la pudrición blanda por *Rhizopus stolonifer*, la pudrición húmeda por *Phomopsis caricaepapayae*, la mancha por *Alternaria alternata* y la pudrición peduncular por *Lasiodiplodia theobromae*. Se identificaron otros géneros de hongos asociados a los daños en los frutos de papaya como *Cladosporium spp.*, *Penicillium spp.*, *Corynespora spp.* y *Fusarium spp.* (Mulkay y cols., 2010).

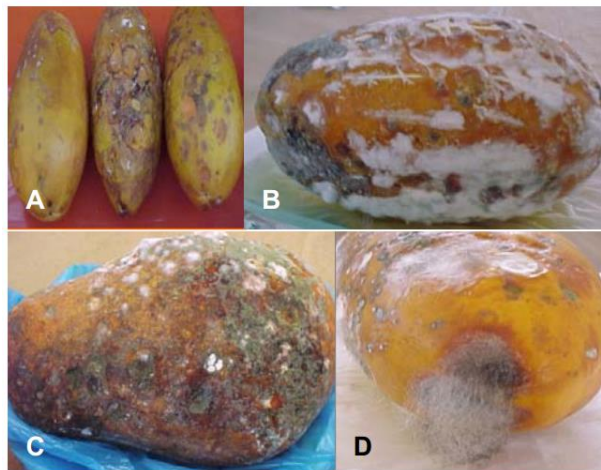


Figura 2.4 Características del fruto infectado. (A) *Colletotrichum gloeosporioides*, (B) *Fusarium oxysporum*, (C) *Penicillium digitatum*, (D) *Rhizopus stolonifera*.



## **2.3 Limón (*Citrus latifolia*)**

El limonero, es un árbol perenne que pertenece a la familia de las Rutáceas. Su fruto, el limón, es un hesperidio de forma oblonga cuyo color pasa del verde oscuro al amarillo intenso cuando alcanza su madurez. Tiene cáscara gruesa de gran porosidad, y en su interior, la pulpa está dividida en gajos que poseen su característico jugo agrio. Sus semillas son pequeñas y puntiagudas (Landa, 2014).

### **2.3.1 Importancia económica del limón**

Los cítricos son el principal cultivo frutal del mundo, con una superficie cultivada superior a 8,6 millones de hectáreas y una producción de casi 124 millones de toneladas en el 2010 (FAOSTAT, 2012).

Dentro de los cítricos, el limón representa una actividad económica importante ocupando el segundo lugar en importancia tanto por su consumo fresco como por su uso industrial (González, 2011).

### **2.3.2 Producción nacional de limón**

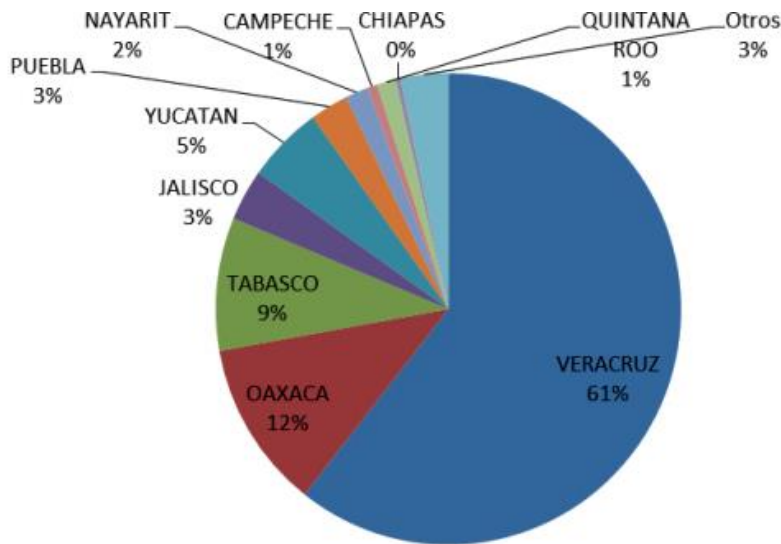
México ocupa el segundo lugar a nivel mundial como productor de limón, sólo por debajo de la India, con más de 2 millones 120 mil toneladas, aporta el 14 % de la producción mundial y es Estados Unidos el principal destino de las exportaciones mexicanas de limón (SAGARPA, 2016).

En México la producción de limón se extiende por casi todo el territorio nacional, siendo Michoacán y Veracruz los principales productores con el 34 y 26 %, respectivamente, de la producción del país; y juntos aportan más del 50 % del volumen nacional (SAGARPA, 2016).

### 2.3.3 Producción de limón en Nayarit

Nayarit es productor de limón persa. En el 2012 se registró una producción de 14 mil 570 toneladas de limón, representando el 2% de la producción total estatal (Figura 5), y alcanzando un valor de 32, 356 miles de pesos (SAGARPA, 2014).

Figura 2.5. Producción nacional de limón persa en el 2012.



Fuente: SAGARPA, 2014.

### 2.3.4 Enfermedades postcosecha en limón

La enfermedad más común y grave que afecta a los cítricos son los hongos verdes y azules causados, respectivamente, por *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum*, seguidos en importancia por la pudrición ácida causada por el hongo *Geotrichum citri-aurantii* o *Geotrichum candidum* (Palou y cols., 2002; Zheng y cols., 2005).



Figura 2.6. Deterioro del fruto por *Penicillium*.

El deterioro postcosecha del limón también puede provenir de infecciones latentes, tales como la pudrición negra causada por *Alternaria alternata*, la pudrición parda causada por *Phytophthora citrophthora* y la antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Talibi y cols., 2014).



Figura 2.7. Diferentes niveles de severidad de *C. gloeosporioides* en limón mexicano.

#### 2.4 Pérdidas postcosecha

La pérdida postcosecha puede definirse como la degradación en cantidad y calidad de una producción alimentaria que va desde la cosecha hasta el consumo. Las pérdidas de calidad incluyen aquellas que afectan la composición nutricional o calórica del producto, estas pérdidas son generalmente comunes en los países desarrollados (Kader, 2002). Las pérdidas por cantidad se refieren a aquellas que

resultan en la pérdida de la cantidad de un producto, común en los países en desarrollo (Kitinoja y Gorny, 1999).

A partir de muchos estudios y observaciones de campo en los últimos 40 años, se ha reportado que el 40-50% de los cultivos hortícolas producidos en los países en desarrollo se pierden antes de que puedan ser consumidos (Kitinoja, 2002; Ray y cols., 2005; Bautista-Baños, 2014).

Las pérdidas se originan por daños mecánicos, almacenamiento inadecuado, manipulación, transporte incorrecto, por el tiempo en vitrina (Ferreira y cols., 2005); así como por hongos fitopatógenos causantes de enfermedades de pre y postcosecha (Agrios, 2005). Algunas fuentes estiman que dichas pérdidas son del orden de 2-25% en países desarrollados y 20-50% en países en desarrollo (FHIA, 2007).

Una amplia gama de hongos han sido caracterizados como causantes del deterioro patológico en una variedad de productos, siendo las especies más comunes *Alternaria*, *Botrytis*, *Diplodia*, *Monilinia*, *Penicillium*, *Colletotrichum*, *Phomopsis*, *Fusarium*, *Rhizopus* y *Mucor* (FHIA, 2007).

A nivel mundial los hongos fitopatógenos constituyen el grupo más importante desde el punto de vista económico en cuanto a su frecuencia de aparición y daño que pueden causar. El daño que ocasionan no sólo se refiere a las pérdidas de producción económica, sino también a las pérdidas en la producción biológica (FAO, 2004; Agrios, 2005).

## **2.5 Estrategias de control**

Las enfermedades postcosecha en los productos hortofrutícolas pueden ser reducidas mediante el uso de fungicidas, tratamientos físicos que incluyen calor, irradiación, temperaturas bajas, atmósferas hipobáricas, modificadas y controladas, control biológico con microorganismos antagónicos y compuestos GRAS

(generalmente considerados como seguros) tales como desinfectantes, sales, volátiles, y en menor medida, mediante la aplicación de prácticas de manejo postcosecha. Actualmente, la investigación en patología postcosecha también se centra en mejorar el potencial individual del huésped para responder al ataque de patógenos mediante inductores de resistencia. Productos como jasmonatos, quitosano, ácido salicílico, entre otros, están en estudio (Bautista-Baños, 2014; Romanazzi y cols., 2016).

Durante muchos años se han utilizado a los fungicidas sintéticos como el sistema tradicional para controlar a estos patógenos, pero se ha demostrado que estos microorganismos se hacen resistentes a dichos productos, además de representar un riesgo potencial para el ambiente y la salud humana (Pedraza y cols., 2010; Peres y cols., 2010; Tortora y cols., 2012).

Debido a los riesgos asociados con el uso de los agentes biocidas existentes, nace la necesidad de explorar nuevos métodos de desinfección para ayudar a mantener un control eficaz de la carga biológica (Thorn y cols., 2011).

El agua electrolizada, conocida también como, soluciones de superoxidación (SSO), soluciones electrolizadas de superoxidación (SES), soluciones electroquímicamente activadas (ECAS por sus siglas en inglés Electrochemically Activated Solutions), entre otros nombres (Al-Haq y cols., 2005); son soluciones con efecto desinfectante, esterilizante y antiséptico, relativamente de reciente tecnología. Desde su aparición comercial han llamado mucho la atención por su efectividad en contra de bacterias, virus, hongos, esporas y micobacterias, así como por su baja toxicidad y fácil manejo en el almacenamiento, uso y desecho (Ding y cols., 2015).

## **2.6 Agua electrolizada**

El uso de agua electrolizada se desarrolló inicialmente en Japón (Shimizu y Hurusawa, 1992; Hati y cols., 2012). Se ha reportado que tiene un efecto bactericida

fuerte e inmediato, sin producir respuestas alérgicas en los seres humanos (Shiba, 1996). Por lo que se ha convertido en un desinfectante noble para inactivar microorganismos en alimentos y superficies de equipos de procesamiento de alimentos (Huang y cols., 2008).

### **2.6.1 Generación de agua electrolizada**

El agua electrolizada (EW por “Electrolyzed Water”) se genera a partir de una solución saturada salina (NaCl o KCl o MgCl) diluida en agua del grifo. Esta disolución se hace pasar a través una cámara que cuenta con dos electrodos, uno positivo (ánodo) y otro negativo (cátodo), divididos por una membrana diafragmática, y a la que se le induce corriente eléctrica (Huang y cols., 2008; Su y cols., 2007).

Al someter los electrodos a voltajes de corriente continua, los iones cargados negativamente como cloruro e hidróxido en la solución de sal diluida se mueven al ánodo para liberar electrones y se convierten en gas oxígeno, cloro gas, hipoclorito, ácido hipocloroso y ácido clorhídrico. Los iones tales como hidrógeno y sodio se mueven al cátodo para tomar electrones y se convierten en gas hidrógeno e hidróxido sódico (Hsu, 2005).

Dos tipos de agua se producen simultáneamente:

- a) Agua electrolizada ácida o agua electrolizada oxidante (AEW por “Acidic Electrolyzed Water” o EO por “Electrolyzed Oxidizing Water”), generada en la cámara del ánodo, con pH bajo (pH 2.3-2.7), alto potencial de oxidación-reducción (OPR > 1000 mV), oxígeno disuelto alto y contiene cloro libre (la concentración depende del ajuste de la máquina ~10 a 90 ppm); tiene un fuerte efecto bactericida (Anonymous, 1997; Hsu, 2005; Hati y cols., 2012).

- b) Agua electrolizada básica o agua electrolizada reducida (BEW por “Basic Electrolyzed Water” o ER por “Electrolyzed Reduced Water”), generada en la cámara del cátodo, con alto pH (pH 10-11.5), hidrógeno disuelto alto y ORP bajo (ORP-800 a -900 mV); tiene un fuerte potencial de reducción (Hsu, 2005; Hati y cols., 2012).

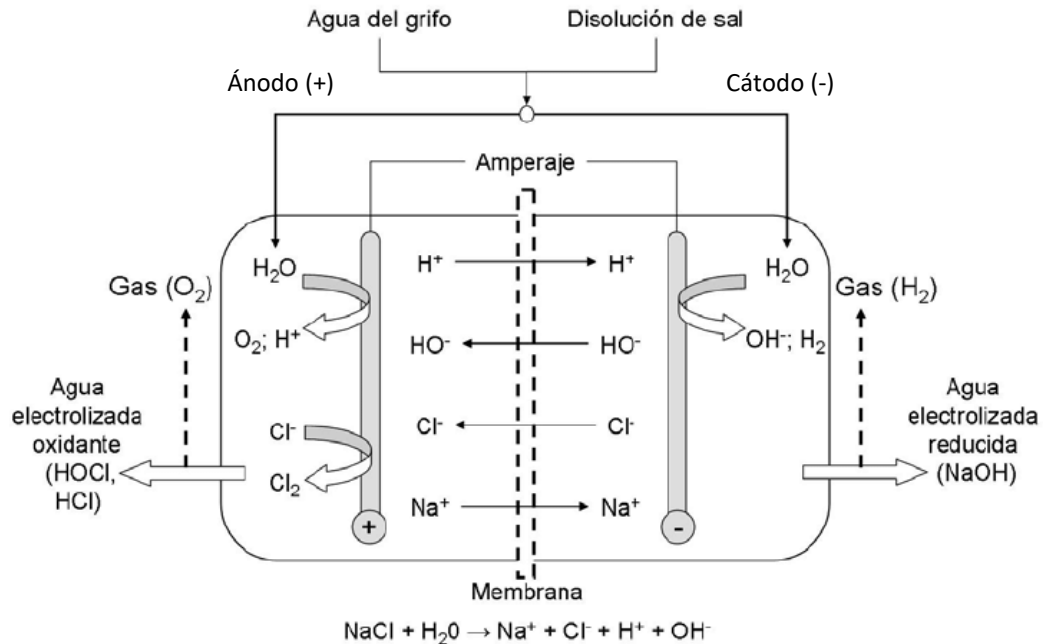


Figura 2.8. Generación de agua electrolizada.

AEW y BEW se recogen en recipientes separados. Posteriormente, estas dos soluciones pueden combinarse dando lugar al agua electrolizada neutra (NEW por “Neutral Electrolyzed Water”), algunos científicos también han utilizado NEW, para la desinfección de los materiales alimenticios. Esta agua se caracteriza por tener un pH de 5.5 -7.0, un ORP de 600 a 800 mV, y una concentración de cloro de aproximadamente 20 ppm (Hirano y Ueda, 1997).

Aunque todas las soluciones de agua electrolizada son obtenidas por un proceso de electrólisis similar, las variaciones en la concentración activa y en su pH producen agentes antimicrobianos con diferente potencia microbicida. Sin embargo, todas ellas comparten un espectro antimicrobiano amplio, con capacidad

micobactericida, viricida y bactericida y esporicida en un tiempo relativamente corto (usualmente dentro de 5 a 20 segundos) (Ding y cols., 2015; Hao y cols., 2015; Hricova y cols., 2008; Huang y cols., 2008).

El agua electrolizada suele prepararse justo antes de su uso, pero se han realizado estudios sobre las posibilidades de preservar el agua en la oscuridad (Len y cols., 2002) y convertirlo en cubitos de hielo para uso posterior (Koseki y cols., 2002).

### 2.6.2 Usos del agua electrolizada

El agua electrolizada se utiliza en la industria médica, dental, agroalimentaria y agrícola. Se ha utilizado como desinfectante de alimentos, instrumentos y utensilios, superficies de contacto y equipo de procesamiento de alimentos. También puede utilizarse como fungicida durante el procesamiento postcosecha de frutas y verduras suprimiendo la pudrición por hongos (Cuadro 2.2), y como sanitizante para lavar las carcasas de carne y aves de corral, en los que reduce la población de patógenos a niveles indetectables (Al-Haq y cols., 2005).

Cuadro 2.2 Estudios previos con agua electrolizada.

Producto	Referencia
Limón	Fallanaj y cols., 2015.
Mandarina	Whangchal y cols., 2010.
Durazno	Al-Haq y cols., 2005.
Fresa	Koseki y cols., 2004.
Cilantro	Wang y cols., 2004.
Mango	Al-Haq y cols., 2003.
Jitomate	Bari y cols., 2003.
Pera	Al-Haq y cols., 2002.
Zanahoria	Izumi y Suzuki, 2000.



### **2.6.3 Ventajas y desventajas del agua electrolizada**

La principal ventaja del agua electrolizada es su alto poder antimicrobiano, sin promover resistencia bacteriana. Es un producto seguro, ya que se produce por simple electrólisis utilizando agua pura y una solución salina (NaCl), sin adición de productos químicos peligrosos, por lo que, tiene menor impacto negativo en el medio ambiente, así como en la salud humana. No es corrosivo para la piel, membrana mucosa o material orgánico. Se produce in situ. Después del coste inicial del aparato de electrólisis, los gastos operativos son mínimos. No da lugar a cambios fisicoquímicos y sensoriales en el alimento. Reduce los tiempos de limpieza y es fácil de manejar (Al-Haq y cols., 2005; Huang y cols., 2008).

La principal desventaja del agua electrolizada es que con el tiempo la solución pierde su actividad antimicrobiana si no se suministra continuamente con  $H^+$ , HOCl y  $Cl_2$  por electrólisis. La compra inicial del equipo puede ser costoso. Puede oxidar algunos metales (Al-Haq y cols., 2005; Huang y cols., 2008).

### **2.6.4 Principio de la actividad antimicrobiana**

El mecanismo antimicrobiano del agua electrolizada aún no se entiende completamente.

- Agua electrolizada ácida (AEW)

Algunos investigadores creen que la actividad antimicrobiana del AEW se debe a la presencia de especies de cloro en la solución (principalmente en forma de HOCl), las cuales penetran las membranas de las células microbianas y posteriormente, ejercen su acción antimicrobiana a través de la oxidación de los principales sistemas metabólicos. Otros creen que el bajo pH es responsable. Algunos estudios han

sugerido que esta actividad se debe a su alto ORP. Algunos científicos dicen que es una mezcla de todas estas razones (Al-Haq y cols., 2005).

- Agua electrolizada neutra (NEW)

Se dice que los factores activos responsables del efecto bactericida del agua electrolizada neutra son, al igual que el AEW, el cloro gas ( $\text{Cl}_2$ ), el ácido hipocloroso ( $\text{HClO}$ ) y el ion hipoclorito ( $\text{ClO}^-$ ) (Shiba y cols., 1997).

- Agua electrolizada básica (BEW)

Se reconoce que el principio activo del BEW se debe a su fuerte potencial de reducción (de -800 mV o menos), lo que conduce a la reducción de los radicales libres en los sistemas biológicos; así como a la presencia de NaOH diluido, hidrógeno disuelto e hidrógeno activo (Al-Haq y cols., 2005; Hati y cols., 2012).

### 3. JUSTIFICACIÓN

Durante años, la industria hortofrutícola enfrenta una problemática referente a la reducción cuantitativa y cualitativa de alimentos de magnitud muy variable. Desde la etapa de la cosecha hasta la entrega al consumidor final se registran pérdidas causadas por diversos factores, entre los cuales se encuentran las enfermedades causadas por hongos que perjudican el desarrollo del cultivo y la producción, y que representan grandes pérdidas económicas.

Los fungicidas han sido parte vital para el manejo de enfermedades sobre todo en productos altamente perecederos como papaya, plátano y cítricos, ya que controlan de manera satisfactoria varias de las enfermedades postcosecha. Sin embargo, dado que el modo de acción de algunos fungicidas es muy específico, el uso indiscriminado de estos ha generado cambios genéticos en los hongos, lo que ha provocado que los organismos superen la efectividad de dichos fungicidas, y las poblaciones de patógenos generen resistencia. Además que presentan efectos nocivos para la salud humana y el medio ambiente.

En la actualidad se buscan nuevas alternativas para controlar el desarrollo de hongos patógenos, que no afecten al medio ambiente ni que causen daños a los seres humanos. Una alternativa es el uso de agua electrolizada oxidante (EO), una nueva tecnología atóxica, ecológica e inocua que podría dar respuesta a esa búsqueda de un control de plagas eficiente, que a su vez, permita conservar la calidad del producto, alargar su vida de anaquel, y evitar pérdidas postcosecha.

Por lo tanto, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto del agua electrolizada oxidante (EO) como fungicida no contaminante, para el control de enfermedades producidas por hongos en frutos tropicales, en contraste con el manejo químico tradicional.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto germicida del agua electrolizada oxidante (EO) en el control de enfermedades inducidas por hongos fitopatógenos en frutos tropicales en postcosecha.

### 4.2 Objetivos Específicos

- Evaluar la actividad antifúngica “*in vitro*” de una solución de agua electrolizada oxidante a diferentes concentraciones de cloro activo en hongos de *Colletotrichum sp.*, *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.*
- Evaluar la actividad antifúngica de una solución de agua electrolizada oxidante a diferentes concentraciones de cloro activo en el control de las enfermedades postcosecha en frutos inoculados de limón, papaya y plátano.
- Evaluar el efecto de una solución de agua electrolizada oxidante a diferentes concentraciones de cloro activo sobre algunos parámetros de calidad postcosecha (°Brix, acidez, firmeza, SST, etc) de los frutos a evaluar durante su almacenamiento.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Material vegetal

Se obtuvieron frutos de papaya, plátano y limón de huertas del estado de Nayarit, los cuales fueron trasladados al Laboratorio Integral de Investigación en Alimentos (LIIA) en el Instituto Tecnológico de Tepic, en donde a cada fruto se le aplicó el procedimiento correspondiente para el aislamiento de cepas puras de *Colletotrichum sp.*, *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.*

Posteriormente, fueron necesarios más frutos para la realización de diversas pruebas “*in vivo*”.

### 5.2 Aislamiento, purificación e identificación de patógenos de postcosecha

Para estimular el desarrollo de hongos causantes de enfermedades postcosecha, los frutos de papaya, plátano y limón se colocaron por separado dentro de cámaras húmedas durante 5 días con los siguientes parámetros: una humedad relativa entre 90-95% y una temperatura de 25°C, permitiendo así el desarrollo de síntomas de interés.

Una vez desarrollados los síntomas se realizó el aislamiento que consistió en cortar secciones de tejido del fruto (1x1 cm) en una relación de 50% de tejido sano y 50% de tejido infectado. Las secciones del tejido fueron desinfectados sumergiéndolos en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) a una concentración de 2% (v/v) durante 2 minutos. Posteriormente, el tejido se enjuagó con agua destilada estéril por 2 min, y se colocó sobre papel filtro, tratando de eliminar la mayor cantidad de humedad. Las secciones de tejidos libres de humedad, se colocaron en cajas de petri con medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) y se incubaron a 25°C por un periodo de 24 a 72 horas bajo condiciones estériles.

Se procedió a realizar resiembras a partir de las colonias que crecieron en la periferia de las secciones del tejido para obtener un solo tipo de morfología por placa, para lo cual se tomaron secciones de agar con micelio con una aguja de disección y se colocaron en el centro de placas con medio agar papa dextrosa (PDA). Se incubaron a  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 6 a 8 días hasta la observación de las colonias con características homogéneas.

La identificación del hongo se basó en el análisis macroscópico de la colonia y en sus características microscópicas. Algunas semejanzas macroscópicas como la forma de la colonia, el color de la superficie y la textura resultaron útiles para la identificación. La identificación definitiva se basó en la morfología microscópica del hongo, tomando micelio, colocándolo en un portaobjetos y añadiéndole una gota de agua destilada y colocando sobre este un cubreobjetos. Los aislamientos se observaron en el microscopio óptico marca Motic BA300 utilizando los objetivos 40 y 100X, y se determinó el género con la ayuda de claves taxonómicas dicotómicas (Barnett y Hunter, 1998). Una vez identificado el patógeno éste fue inoculado en frutos sanos para realizar las pruebas de patogenicidad, y así confirmar que el patógeno aislado fuera el causante de la enfermedad postcosecha de interés, para posteriormente realizar con cada hongo las respectivas pruebas “*in vitro*” e “*in vivo*”.

### **5.3 Tratamientos**

Se realizaron tratamientos “*in vitro*” e “*in vivo*” que consistieron en la aplicación del agua electrolizada oxidante a diversas concentraciones de cloro activo.

Para la preparación del agua oxidante electrolizada (EO) en sus diferentes concentraciones, a partir de una concentración de agua electrolizada oxidante (EO) con 45 ppm de cloro activo, se realizaron diluciones con agua destilada estéril para obtener concentraciones a 0.5, 1, 6, 12 y 30 ppm de cloro activo.

Las concentraciones de las soluciones se midieron con un equipo de medición de cloro activo HANNA instruments® modelo HI 96771 de rango ultra alto. En todos los tratamientos se midió la concentración de cloro activo y pH.

En el siguiente cuadro se muestran las características del agua electrolizada oxidante (EO) de cada uno de los tratamientos.

Cuadro 5.1. Características del agua EO en los diversos tratamientos.

<b>Cloro activo</b>	<b>OPR</b>	<b>pH</b>
0.5 ppm	760 mV	7.04
1 ppm	765 mV	7.06
6 ppm	860 mV	7.09
12 ppm	870 mV	7.10
30 ppm	1010 mV	7.07

#### **5.4 Pruebas “in vitro”**

Para las pruebas “in vitro”, primeramente, se realizó una suspensión de esporas  $1 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$  por cada hongo (previamente aislado, purificado e identificado); para ello, a las cajas de petri inoculadas de 7 días con *Colletotrichum sp.*, *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.*, se les añadió 10 mL de agua destilada estéril y se raspó la superficie del hongo con ayuda de una varilla de vidrio estéril. Las suspensiones se filtraron a través de gasas estériles para eliminar los segmentos de medio y micelio, depositándose después en tubos falcon. Se calculó la concentración de las suspensiones y se ajustaron para llegar a la concentración final de  $1 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ .

Posteriormente, en tubos eppendorf se combinó una alícuota de 100  $\mu\text{L}$  de la suspensión de esporas de interés junto con 900  $\mu\text{L}$  del tratamiento con agua electrolizada oxidante a concentraciones de 0.5, 1, 6 y 12 ppm de cloro activo. Cada

tratamiento se realizó por triplicado, incluyendo un control que contenía la suspensión de esporas de interés y agua destilada estéril.

#### **5.4.1. Determinación del crecimiento micelial**

Se determinó el diámetro micelial para conocer el efecto que tienen las diversas concentraciones de cloro activo presentes en los tratamientos con agua EO frente al hongo. Para su realización, se tomó una alícuota de 20 µL (proveniente de los tratamientos de las pruebas “*in vitro*”) y se colocó en el centro de la caja de petri con medio PDA (Agar papa dextrosa). De igual manera se incluyó una caja control para observar las diferencias. Todas las cajas se incubaron a 25°C.

El diámetro micelial se midió cada 24 hr durante 10 días con ayuda de un vernier.

##### **5.4.1.1. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial**

Se utilizó la siguiente fórmula para calcular el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de cada tratamiento:

$$\frac{\text{Diámetro de la colonia control} - \text{Diámetro de la colonia de tratamiento}}{\text{Diámetro de la colonia control} - \text{Diametro del disco inicial}} \times 100$$

#### **5.4.2. Esporulación**

Para evaluar el efecto de los tratamientos en la esporulación, se realizó una suspensión de esporas por cada repetición empleando para ello las mismas cajas de petri que se utilizaron para medir el crecimiento micelial, mismas a las que se les añadió 10 mL de agua destilada estéril, raspó la superficie con una varilla de vidrio



estéril, filtró a través de gasas estériles y depositó en tubos falcon. Una vez depositada la suspensión de esporas de cada tratamiento en tubos falcon, se procedió a determinar la concentración de esporas por mL.

Para el conteo de esporas, se tomó una alícuota de 10  $\mu$ L de las diversas suspensiones colocándolas sobre la cámara de Neubauer y visualizándose a través de un microscopio óptico marca Motic BA300 utilizando el objetivo 40X. En cada una de las suspensiones obtenidas se determinó el número de esporas/mL, incluyendo el control (Ramos-Guerrero y cols., 2018).

#### 5.4.2.1 Número de esporas

Se calculó el número de esporas por mililitro utilizando la siguiente ecuación:

$$\frac{Cel}{mL} = \frac{N}{10} \cdot 25 \cdot 10^4 \cdot F = N \cdot 25 \cdot 10^3 \cdot F$$

Siendo:

N: Suma total de células contadas en 5 cuadrantes

25: Número total de cuadrantes en la cámara

$10^4$ : Factor para pasar el número de células en el cuadrante central (vol=  $0.1\text{mm}^3 = 0.1 \mu\text{L}$ ) a número de células por mL ( $1000\text{mm}^3 = 1000\mu\text{L}$ ) 10N

F: Factor de dilución

#### 5.4.3 Germinación

Se determinó el porcentaje de esporas germinadas en los diferentes tratamientos con agua electrolizada oxidante para observar el efecto que tiene sobre la espora diversas concentraciones de cloro activo (0.5, 1, 6 y 12 ppm). Para ello, se tomó

una alícuota de 10 µL, directamente de los tubos eppendorf donde se llevaron a cabo los tratamientos (punto 5.4), y se colocó en la cámara de Neubauer.

El conteo de esporas germinadas se realizó 12 horas después del inicio del tratamiento, a través de un microscopio óptico marca Motic BA300 utilizando el objetivo 40X. Las esporas se consideraron germinadas cuando la longitud del tubo germinativo fue el doble del diámetro de la misma.

El porcentaje de germinación se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ germinación} = \frac{\text{No. de esporas germinadas}}{\text{No. de esporas totales}} \times 100$$

## **5.5 Pruebas “*in vivo*”**

Para las pruebas “*in vivo*”, frutos de papaya, plátano y limón fueron sometidos a diversas pruebas experimentales para comparar los resultados de las pruebas “*in vitro*”, y a su vez, comprobar la efectividad del agua electrolizada oxidante (EO) contra el desarrollo de hongos fitopatógenos.

### **5.5.1 Inoculación del hongo en frutos**

La inoculación del hongo por fruto se efectuó a través de 10 heridas de 3 mm de profundidad realizadas mediante una jeringa estándar de insulina estéril. Cada herida se inoculó con el patógeno de interés colocando 10 µL de una suspensión de esporas previamente ajustada ( $1 \times 10^6$  esporas  $\text{ml}^{-1}$ ).

Previo al procedimiento de inoculación y aplicación de los tratamientos, todos los frutos de papaya, plátano y limón fueron lavados y desinfectados por una solución con hipoclorito de sodio (NaClO) al 2% (v/v) durante 2 min, y se dejaron secar a temperatura ambiente (25 °C).

### **5.5.2 Aplicación del tratamiento con agua electrolizada**

Se utilizaron dos métodos para la aplicación de los tratamientos:

- **Método A: Tratamiento curativo**

En el método A o tratamiento curativo, en un primer tiempo, los frutos fueron inoculados con el hongo de interés y se mantuvieron a temperatura ambiente en un área estéril durante 12 horas con el fin de que las esporas se establecieran en el fruto. Transcurrido el tiempo, se realizó la inmersión de los frutos en los tratamientos a 6, 12 y 30 ppm de cloro activo durante 5 min. Simultáneamente, se realizó un tratamiento control para aquellos frutos que únicamente se sumergieron en agua destilada.

- **Método B: Tratamiento preventivo**

En el método B o tratamiento preventivo, primeramente, los frutos fueron sometidos a inmersión durante 5 min a los mismos tratamientos que en el método anterior (6, 12, 30 ppm de cloro activo y control). Los frutos se dejaron secar durante 2 horas, y posteriormente fueron inoculados con el hongo de interés.

Posterior a los tratamientos, los frutos tratados incluyendo el control, se dejaron secar, se almacenaron a temperatura ambiente y se prosiguió con las pruebas correspondientes. Todos los tratamientos y las pruebas se realizaron por triplicado.

Se midió la concentración de cloro activo y pH en todos los tratamientos antes y después de las inmersiones de los frutos en las soluciones.

En el Anexo 1 se puede observar un esquema de la forma en que se llevaron a cabo la aplicación de los diversos tratamientos para cada fruto, tomando en cuenta las diferentes concentraciones y metodologías.

## **5.6 Pruebas fitopatógenas**

Se realizaron pruebas de patogenicidad con la finalidad de corroborar que los tratamientos que emplean agua electrolizada oxidante (EO) tienen un efecto positivo en el control de enfermedades producidas por hongos. Las pruebas realizadas para cada tipo de hongo y fruto fueron:

### **5.6.1 Incidencia**

Se determinó la incidencia de la enfermedad tomando en cuenta el número de heridas infectadas por fruto en relación al número de heridas totales. Cada fruto se evaluó considerándose cada uno como una repetición con ayuda de la siguiente fórmula (Andrades y cols., 2009).

$$\% \text{ Incidencia} = \frac{\text{No. de heridas infectadas}}{\text{No. de heridas totales}} \times 100$$

### 5.6.2 Severidad

Se evaluó el porcentaje de severidad de la enfermedad a través de la medición del diámetro de las heridas inoculadas en los frutos, expresadas en milímetros (mm). La severidad se calculó utilizando la siguiente ecuación (Hernández-Lauzardo, y cols., 2007):

$$\% \textit{ Severidad} = \frac{\text{Diámetro promedio de las lesiones de las heridas control}}{\text{Diámetro promedio de las lesiones de las heridas tratadas}} \times 100$$

Posteriormente los frutos se clasificaron mediante una escala visual que contempla la severidad según el siguiente criterio (Andrades y cols., 2009):

Cuadro 5.2. Escala de grado de severidad.

<b>Grado</b>	<b>Severidad (%)</b>
0	0
1	0-3
2	3-6
3	6-12
4	12-25
5	25-50
6	50-75
7	75-87
8	87-94
9	94-97
10	97-100
11	100

### 5.6.3 Efectividad biológica

Se utilizó la fórmula de Abbott (1925) para calcular el porcentaje de efectividad biológica de cada uno de los tratamientos evaluados, tomando como referencia la variable severidad, que se determinó a través del diámetro de las lesiones de los frutos, expresada en milímetros (mm):

$$\% \textit{Efectividad} = \frac{DLT - DLt}{DLT} \times 100$$

Donde:

DLT = Diámetro de la lesión en el testigo

DLt = Diámetro de la lesión en el tratamiento

### 5.7 Pruebas fisicoquímicas

Se llevaron a cabo pruebas fisicoquímicas con el objetivo de verificar que la calidad postcosecha de los frutos no se vio afectada tras el tratamiento anti fúngico al cual fueron sometidos. Las pruebas realizadas fueron las siguientes:

#### 5.7.1 Pérdida fisiológica de peso

Los frutos de plátano y limón se pesaron una báscula analítica marca Radwag modelo AS 220/C/2. Por su parte, debido a su mayor magnitud, los frutos de papaya se pesaron en una báscula digital marca Torrey. Los resultados se reportaron en porcentaje de pérdida fisiológica de peso de acuerdo a la siguiente ecuación (Lester y Burton, 1986):

$$\% \text{ Pérdida fisiológica de peso} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso actual}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$

### **5.7.2 Firmeza**

Para la determinación de la firmeza se empleó un texturómetro modelo TA.XT Plus empleando la prueba de penetración a lo largo del fruto con cáscara. Los resultados se expresaron en Newtons (N) utilizando el software del equipo (Bourne, 1980).

### **5.7.3 Sólidos solubles totales (SST)**

Los SST se determinaron con ayuda de un refractómetro digital marca Atago. Los resultados se reportaron en °Brix (AOAC, 2000).

### **5.7.4 pH**

La determinación de pH se realizó utilizando un potenciómetro marca Hanna Instruments HI 2210, sumergiendo el electrodo en la muestra y tomando la lectura correspondiente (AOAC, 2000).

### 5.7.5 Acidez titulable

La acidez titulable se determinó empleando 5 g de muestra homogénea, diluida en 50 ml de agua destilada y añadiendo 3 gotas de fenolftaleína como indicador, titulando con NaOH al 0.1 N. Los cálculos se reportaron en porcentaje del ácido predominante del fruto con la ayuda de la siguiente ecuación (AOAC, 2000):

$$\% \text{ de Acidez} = \frac{\text{Normalidad de NaOH} \times \text{Vol. de NaOH gastados (ml)} \times \text{Meq}}{\text{Cantidad de muestra (gr)}} \times 100$$

Meq de ácido cítrico (0.064)

Meq de ácido málico (0.067)

### 5.7.6 Porcentaje de jugo

Se determinó el porcentaje de jugo extraíble, jugosidad, o contenido de zumo del limón, exprimiendo el fruto y utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de jugo} = \frac{\text{Masa de zumo obtenida}}{\text{Masa total de fruto}} \times 100$$



## 5.8 Diseño Estadístico

### 5.8.1 Pruebas “*in vitro*”

En el análisis estadístico para las pruebas “*in vitro*” se empleó un diseño unifactorial completamente aleatorizado con cinco niveles, teniendo como variables de respuesta el crecimiento micelial, la germinación de esporas y la esporulación.

Cuadro 5.3. Diseño estadístico pruebas “*in vitro*”.

<b>Factor</b>	<b>Niveles</b>				
Concentración de cloro activo	Control	0.5	1	6	12

Los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA), y se realizaron comparaciones de medias por una prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ), empleando el paquete estadístico SAS.

### 5.8.2 Pruebas “*in vivo*”

En el análisis estadístico para las pruebas fisicoquímicas se empleó un diseño de bloques completamente aleatorizado, teniendo como variables de respuesta la pérdida fisiológica de peso, firmeza, SST, pH, acidez titulable y porcentaje de jugo.

Cuadro 5.4. Diseño estadístico pruebas fisicoquímicas

<b>Factor</b>	<b>Niveles</b>	<b>Valores</b>				
Días	5	0	3	6	9	12
Tratamiento	2	Control			30 ppm	

En el análisis estadístico para las pruebas fitopatógicas se empleó un diseño unifactorial completamente aleatorizado con cuatro niveles, teniendo como variables de respuesta la incidencia, severidad y efectividad biológica.

Cuadro 5.5. Diseño estadístico pruebas fitopatógicas.

<b>Factor</b>	<b>Niveles</b>			
Tratamiento	Control	6 ppm	12 ppm	30 ppm

Asimismo, se realizó la comparación estadística entre los métodos A y B para todas las variables de respuesta anteriormente descritas a través de un diseño de bloques completamente aleatorizado.

Cuadro 5.6. Diseño estadístico entre métodos (A y B).

<b>Factor</b>	<b>Niveles</b>	<b>Valores</b>		
Tratamiento	3	6	12	30
Método	2	A		B

Todos los resultados se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA), y se realizaron comparaciones de medias por una prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ), empleando el paquete estadístico SAS.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Aislamiento e identificación de patógenos postcosecha

Se lograron aislar e identificar patógenos de interés causantes de enfermedades postcosecha en frutos de papaya, plátano y limón.

De acuerdo a las características morfológicas de cada colonia (micelio, color de la colonia, forma de los conidios) y a las claves taxonómicas empleadas, se logró aislar *Colletotrichum sp.* de papaya, hongo asociado con la antracnosis. Las características de este patógeno son: micelio blanco y conidios cilíndricos con tamaño de 11-16  $\mu\text{m}$  de largo por 2.7-5.4  $\mu\text{m}$  de ancho (Barnett y Hunter, 1998).



Figura 6.1. Aislamiento “*in vitro*” de *Colletotrichum sp.* en frutos de papaya.

De plátano se logró obtener *Fusarium sp.*, patógeno causante de la pudrición de la corona. Sus características son: micelio extenso y algodonoso, a menudo con algunos matices de rosa o morado, de conidios oblongos o ligeramente curvados.



Figura 6.2. Aislamiento “*in vitro*” de *Fusarium* sp. en frutos de plátano.

Por su parte, *Penicillium* sp. fue aislado de limón, agente causal de moho verde en cítricos, caracterizado por conidios totalmente ovoides.

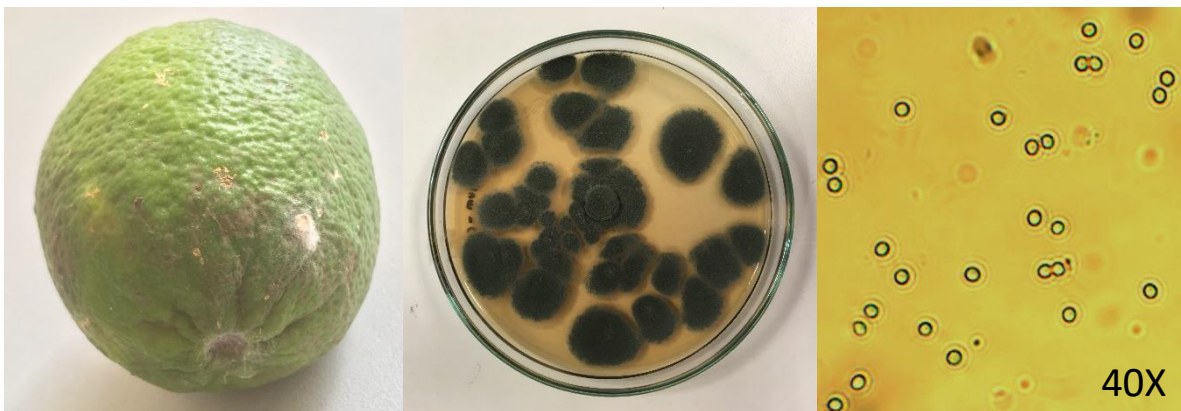


Figura 6.3. Aislamiento “*in vitro*” de *Penicillium* sp. de frutos de limón.

## 6.2 Efecto del agua electrolizada oxidante a nivel “*in vitro*”

El agua electrolizada oxidante (EO) fue probada a nivel “*in vitro*” contra *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp. y *Penicillium* sp. a diversas concentraciones de cloro activo – tratamientos (0.5, 1, 6 y 12 ppm), obteniendo los siguientes resultados:

### 6.2.1 Crecimiento micelial y porcentaje de inhibición

En el cuadro 6.2 se muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Colletotrichum sp.*, *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.*, donde se puede observar que los tratamientos que emplean agua electrolizada oxidante con 6 y 12 ppm de cloro activo lograron inhibir el 100% del crecimiento, y que este parámetro fue disminuyendo a medida que disminuía la concentración de cloro activo en los tratamientos.

Cuadro 6.1. Efecto del agua electrolizada oxidante a distintas concentraciones de cloro activo en el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Colletotrichum sp.*, *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.*

Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial			
Tratamiento			
Cloro Activo (ppm)	<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Penicillium sp.</i>
0.5	13.08 ±1.93 c	0.42 ±0.73 c	3.29 ±2.15 bc
1	16.88 ±1.93 b	5.91 ±3.19 b	4.69 ±2.15 b
6	100 a	100 a	100 a
12	100 a	100 a	100 a
0	0 d	0 c	0 c

Los valores son las medias de tres repeticiones ± desviación estándar. Letras diferentes por columna indican diferencia significativa entre tratamientos ( $P < 0.05$ ).

Los tratamientos que presentaron diferencias significativas con respecto al control fueron las concentraciones de 6 y 12 ppm, siguiendo en menor medida la de 1 ppm, y no presentando ninguna reducción significativa el tratamiento de 0.5 ppm, con excepción en *Colletotrichum sp.* que presentó una inhibición del crecimiento micelial de 13.08%.

El comportamiento gráfico del crecimiento micelial de *Colletotrichum sp.*, *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.* se muestran en las figuras 6.4, 6.5 y 6.6 respectivamente, donde se puede observar que el crecimiento micelial alcanzado por el control después de 10 días fue de 72 mm para *Penicillium sp.*, y de 80 mm para *Colletotrichum sp.* y *Fusarium sp.*

Gráficamente también se puede observar una reducción significativa del crecimiento micelial de *Colletotrichum sp.*, *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.* con los tratamientos que emplean concentraciones de 6 y 12 ppm de cloro activo, y una reducción no tan significativa en *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.*, con los tratamientos que emplean 1 y 0.5 ppm de cloro activo; siendo *Colletotrichum sp.* quien presentó mayor sensibilidad a los tratamientos con respecto a los otros hongos al demostrar diferencias significativas con respecto al control en cada uno de los tratamientos aplicados.

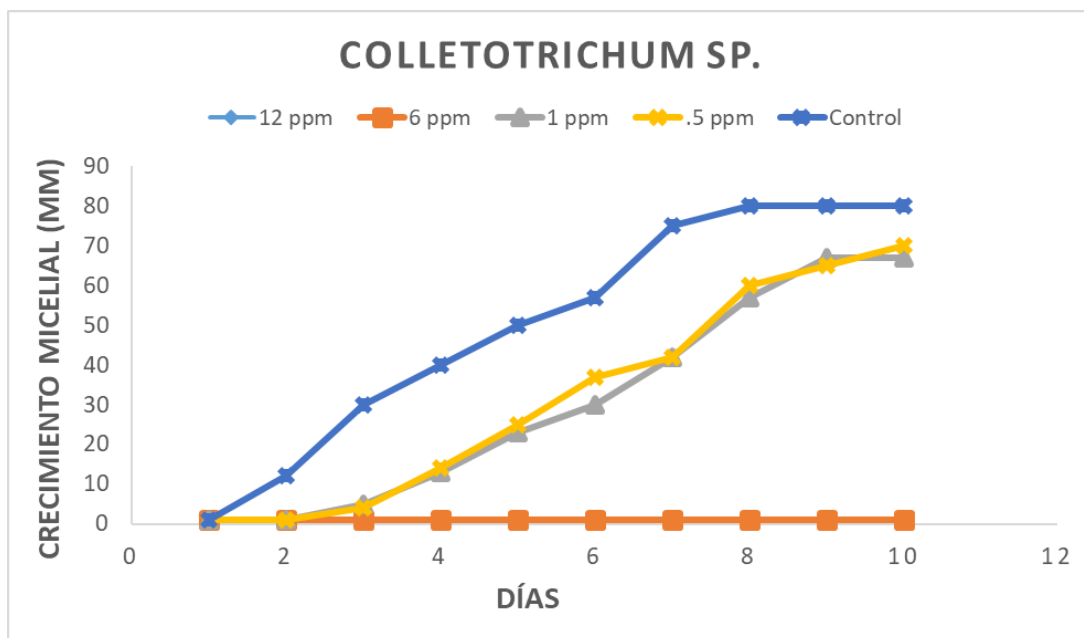


Figura 6.4. Comportamiento gráfico del crecimiento micelial de *Colletotrichum sp.* tratado con diferentes concentraciones de agua electrolizada oxidante.

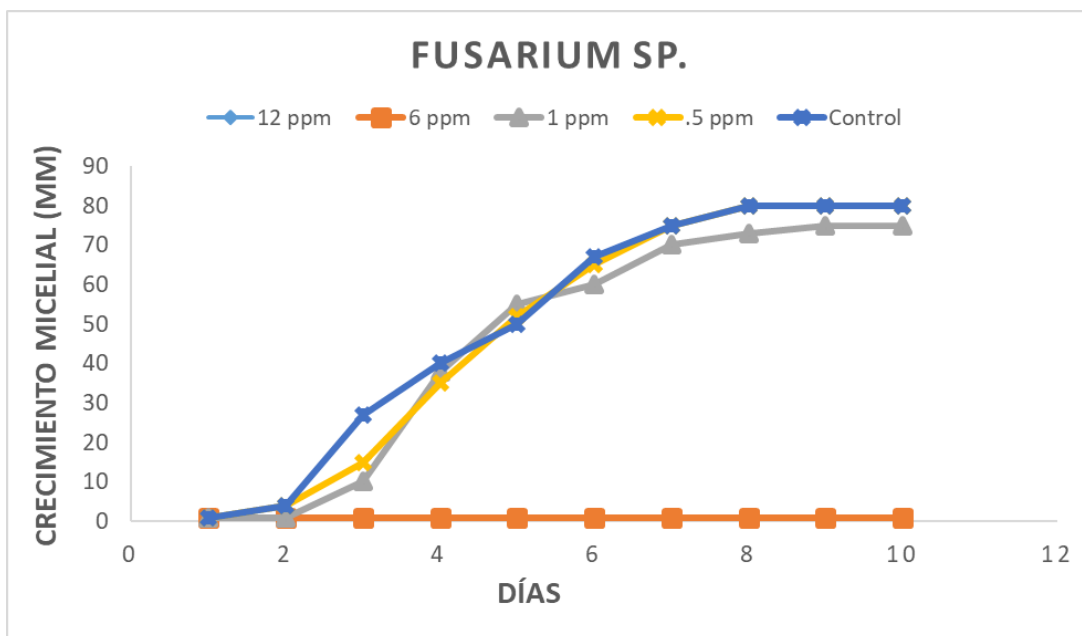


Figura 6.5. Comportamiento gráfico del crecimiento micelial de *Fusarium sp.* tratado con diferentes concentraciones de agua electrolizada oxidante.

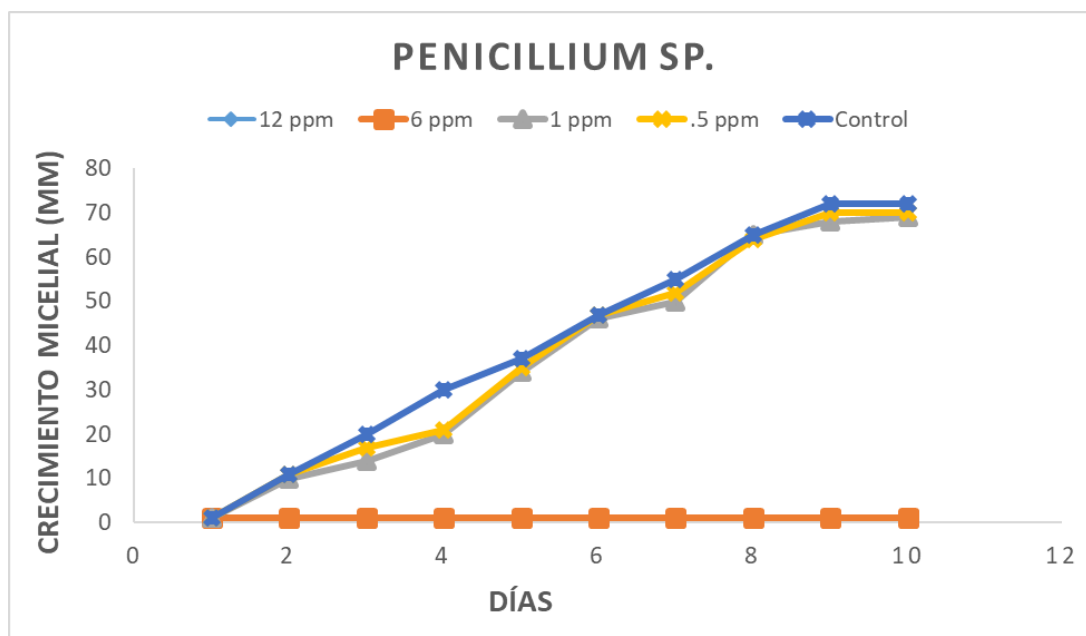


Figura 6.6. Comportamiento gráfico del crecimiento micelial de *Penicillium sp.* tratado con diferentes concentraciones de agua electrolizada oxidante.

Este resultado indica que existe un efecto directamente relacionado con la concentración de cloro libre del agua EO para reducir el crecimiento de hongos. En el cloro libre (cloro que queda sin reaccionar en la solución y está disponible para desinfección) existen altos niveles de ácido hipocloroso (HOCl), la especie de cloro más activa (Kim y cols., 2000), producidos durante la electrólisis, que penetran las membranas celulares y producen radicales hidroxilos que ejercen la actividad antimicrobiana a través de la oxidación de compuestos metabólicos clave, causando daños irreversibles en la membrana, descarboxilación de aminoácidos, reacciones con ácidos nucleicos, entre otros (Hricova y cols., 2008). El alto potencial de oxidación-reducción (ORP) y el pH son también otros factores implicados en la actividad antimicrobiana del agua EO (Al-Haq y cols., 2005).

### **6.2.2 Esporulación**

En el Cuadro 6.3 se muestra la esporulación de *Colletotrichum sp.*, *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.* de los diferentes tratamientos (0.5, 1, 6 y 12 ppm de cloro activo) con agua electrolizada oxidante, donde se puede observar que la concentración de 6 y 12 ppm inhibió en su totalidad la concentración de esporas con respecto al control; también se puede observar que a mayor concentración de cloro activo menor es la esporulación.



Cuadro 6.2. Efecto del agua electrolizada oxidante a distintas concentraciones de cloro activo en la esporulación de *Colletotrichum sp.*, *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.*

<b>Esporulación (esporas/ml)</b>			
Tratamiento			
Cloro Activo (ppm)	<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Penicillium sp.</i>
0.5	$4.53 \times 10^7 \pm 1.76$ ab	$5.97 \times 10^7 \pm 1.55$ ab	$1.33 \times 10^7 \pm 0.27$ a
1	$3.03 \times 10^7 \pm 1.70$ ab	$3.83 \times 10^7 \pm 3.12$ ab	$1.37 \times 10^7 \pm 0.32$ a
6	0 b	0 b	0 b
12	0 b	0 b	0 b
0	$5.39 \times 10^7 \pm 1.22$ a	$7.12 \times 10^7 \pm 0.22$ a	$1.47 \times 10^7 \pm 0.20$ a

Los valores son las medias de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar. Letras diferentes por columna indican diferencia significativa entre tratamientos ( $P < 0.05$ ).

La reducción e inhibición de las esporas es interpretado como que el agua EO ha sido fungicidamente efectivo, observándose nuevamente una relación entre la concentración de cloro activo presente en los tratamientos y su efectividad.

Ünal y cols. (2014) mostraron también eficacia “*in vitro*” del agua electrolizada contra varias especies de hongos como *Aspergillus niger*.

Poco se sabe sobre el mecanismo de acción contra hongos, pero como se había mencionado anteriormente, el radical hidroxilo (OH) generado durante la electrólisis así como el potencial de oxidación-reducción (ORP) del EO, parecen jugar un papel importante en la inactivación de los conidios y la supresión del crecimiento fúngico, donde de acuerdo a Xiong y cols. (2010) se produce un daño en la estructura morfológica de los conidios, específicamente en la función de la pared celular y la membrana del conidio, lo que conduce a la fuga de iones  $K^+$  y  $Mg^{2+}$ , provocando finalmente a los conidios a perder su función normal.

### 6.2.3 Germinación de esporas

En el Cuadro 6.3 se muestran los resultados obtenidos del porcentaje de germinación para las esporas de *Colletotrichum sp.*, *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.*, donde se puede observar que a partir de la concentración de 1 ppm de cloro activo se inhibió totalmente la germinación de los hongos, y que para el tratamiento con 0.5 ppm inhibió en algún grado la germinación en comparación con el control, el cual presentó un 100% de germinación al término del periodo de incubación.

Cuadro 6.3. Germinación de esporas de *Colletotrichum sp.*, *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.* tratadas con agua electrolizada oxidante a diferentes concentraciones de cloro activo.

Porcentaje de Germinación			
Tratamiento	<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Penicillium sp.</i>
Cloro Activo (ppm)			
0.5	16.67 ±1.53 b	32.67 ±2.08 b	80.33 ±2.08 b
1	0 c	0 c	0 c
6	0 c	0 c	0 c
12	0 c	0 c	0 c
0	100 a	100 a	100 a

Los valores son las medias de tres repeticiones ± desviación estándar. Letras diferentes por columna indican diferencia significativa entre tratamientos ( $P < 0.05$ ).

Estos resultados concuerdan con Buck y cols. (2002) que reportan una completa inhibición en la germinación de esporas de *Colletotrichum sp.* y *Fusarium sp.* por una exposición de 30 segundos al agua EO. La rapidez de la inhibición puede deberse a que las características del agua que manejaron en su experimento fueron de hasta 54 ppm de cloro activo.

Por su parte, Fallanaj y cols. (2013) también reportaron una reducción de la germinación de las esporas de *Penicillium digitatum* desde un 33% hasta un 90%, en el que el porcentaje de inhibición del patógeno depende de la solución de sal electrolizada utilizada en el tratamiento.

Por todo lo anterior, de acuerdo con los resultados obtenidos y los análisis estadísticos realizados, los mejores tratamientos de las pruebas a nivel “*in vitro*” fue el agua electrolizada oxidante (EO) a concentraciones de 6 y 12 ppm de cloro activo, no existiendo diferencia significativa entre ambas concentraciones por lo que se contempla que cualquiera de ellas puede tener efectos positivos en el control de patógenos para las pruebas “*in vivo*”.

### **6.3 Efecto del agua electrolizada oxidante a nivel “*in vivo*”**

El agua electrolizada oxidante (EO) fue probada a nivel “*in vivo*” en frutos de papaya, plátano y limón a diversas concentraciones de cloro activo, obteniendo los siguientes resultados:

#### **6.3.1 Pruebas fitopatógenas**

En el cuadro 6.4 se muestra el porcentaje de incidencia de cada fruto según la concentración de cloro activo presente en el tratamiento y la metodología utilizada en su aplicación (Método A= Tratamiento curativo, Método B= Tratamiento preventivo), en el cual se puede observar que en el Método A el limón mostró diferencias significativas entre el control (que fue quien presentó mayor porcentaje de incidencia) y los tratamientos a 6, 12 y 30 ppm, y no encontrándose ninguna diferencia significativa entre estas tres concentraciones. Para el plátano se pudo observar que el tratamiento con 30 ppm fue el único que presentó alguna diferencia significativa en la reducción de la incidencia de la enfermedad con respecto a los demás tratamientos. Por su parte, en papaya el tratamiento de 30 ppm fue el que

registró menor porcentaje de incidencia, sin embargo, no mostró ninguna diferencia significativa con respecto a los demás tratamientos ni al control, considerándose todavía un porcentaje de incidencia alto y no deseado.

En el Método B (tratamiento preventivo) se pudo observar que el fruto de limón fue el único que demostró diferencias significativas entre los tratamientos, siendo el de 30 ppm el más eficiente con respecto al control y a los tratamientos de 6 y 12 ppm, con un 0% de incidencia. Por el contrario, no se encontró ninguna diferencia significativa entre tratamientos para plátano y papaya, alcanzando en ambos casos un porcentaje de incidencia del 100% en todos los tratamientos.

Cuadro 6.4. Efecto del agua electrolizada oxidante a distintas concentraciones de cloro activo en la incidencia de la enfermedad.

Porcentaje de incidencia de la enfermedad				
Tratamiento		Limón	Plátano	Papaya
Cloro Activo (ppm)				
Método A	0	76.67 ±5.77 a	100 a	96.67 ±5.77 a
	6	20.00 ±26.46 b	100 a	83.33 ±20.82 a
	12	20.00 ±26.46 b	93.33 ±5.77 a	83.33 ±28.87 a
	30	0 b	76.67 ±5.77 b	80.00 ±10.00 a
Método B	0	63.33 ±15.28 a	100 a	100 a
	6	26.67 ±25.17 ab	100 a	100 a
	12	23.33 ±20.82 ab	100 a	100 a
	30	0 b	100 a	100 a

Los valores son las medias de tres repeticiones ± desviación estándar. Letras diferentes por columna para cada método indican diferencia significativa entre tratamientos ( $P < 0.05$ ).

Asimismo, se realizó la comparación estadística del porcentaje de incidencia entre el Método A y el Método B para cada fruto, a fin de detectar si algún método es más eficiente que el otro, con lo que se pudo encontrar que para el caso del limón no se

muestran diferencias significativas entre los métodos, pero que tanto para el caso del plátano y la papaya si existe una diferencia significativa en el método empleado, siendo el método A la mejor opción puesto que reduce en al menos un grado el porcentaje de incidencia.

Para el porcentaje de severidad de la enfermedad, en la mayoría de los casos el diámetro de la lesión fue incrementando con el paso de los días, salvo en aquellas heridas que no lograron infectarse debido a la acción del tratamiento o a los mecanismos de defensas propias del fruto en cuestión.

En el cuadro 6.5 se muestra el comportamiento de severidad del limón para el método A, siendo el fruto control, para éste y todos los demás casos, el punto de comparación para determinar el porcentaje de severidad de los diversos tratamientos con cloro activo (6, 12, 30 ppm), donde se puede observar que, en el tratamiento con 30 ppm de cloro activo, los frutos obtuvieron un grado de severidad del 0% debido a que la infección del patógeno no se presentó en las heridas infectadas. No obstante, se puede apreciar un ligero cambio en la pigmentación del fruto pasando de verde oscuro a verde amarillento conforme al paso de los días. Por el contrario, en los tratamientos de 6 y 12 ppm se presentó el desarrollo de los síntomas desde las 24h de infección, incrementando progresivamente el daño de la lesión en ambos casos. Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas entre estos dos tratamientos, únicamente en el tratamiento de 30 ppm. El mismo fenómeno se puede apreciar en el cuadro 6.8 en el comportamiento de la severidad del limón para el método B.

























En plátano, en el cuadro 6.6 y 6.9 se puede observar la evidencia del avance de la enfermedad para el método A y el método B respectivamente, en ambos casos la herida infectada comenzó a tornarse negra y fue creciendo periódicamente, desarrollándose en algunas heridas una capa micelial blanquecina típica de la infección; además de que se promovió la pudrición de la corona en todos los frutos inoculados. De acuerdo a la prueba estadística realizada se pudo observar que en el método A, el tratamiento a 30 ppm fue el único que presentó una diferencia significativa en relación a los demás tratamientos, obteniendo un porcentaje de

severidad del 73.53%. Por el contrario, en el método B ningún tratamiento presentó diferencias significativas, alcanzando los tratamientos de 6 y 12 ppm un grado de severidad de 11, el máximo valor asignado, representando el 100% de severidad.

Por otro lado, la severidad de la enfermedad en papaya mostró un avance de infección acelerado en ambos métodos (A y B), detectando señales de pudrición a las 48h después de la inoculación del patógeno, y produciéndose una contaminación cruzada de los frutos con otros hongos, como fue el caso con *Penicillium digitatum*. A las 192h los frutos se encontraban totalmente deteriorados, presentando un 100% de severidad en todos los tratamientos del método B, y un porcentaje de severidad entre el 90-96% para el método A. No se observan diferencias significativas entre tratamientos (6, 12 y 30 ppm).






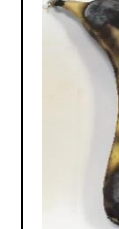


















Las características y composición de las cáscaras de cada uno de los frutos evaluados pudieron haber influido sobre los resultados encontrados.

Cuadro 6.5. Comportamiento de severidad en limón (Método A).

Tratamiento	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	% Sev
Control							a
6 ppm							27.30% a
12 ppm							22.70% a
30 ppm							0% b

Notas: Los valores son las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).





















Cuadro 6.6. Comportamiento de severidad en plátano (Método A).

Tratamiento	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	% Sev
Control							a
6 ppm							97.14% a
12 ppm							91.09% a
30 ppm							73.53% b

Notas: Los valores son las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).



























Cuadro 6.7. Comportamiento de severidad en papaya (Método A).

Tratamiento	0 h	48 h	96 h	144 h	192 h	% Sev
Control						-
6 ppm						96.60% a
12 ppm						92.33% a
30 ppm						90.06% a






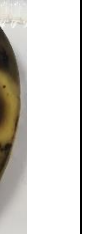



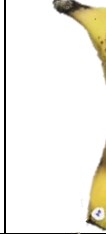
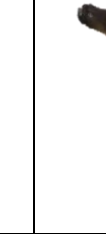




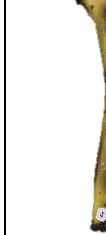






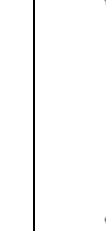

Notas: Los valores son las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

Cuadro 6.8. Comportamiento de severidad en limón (Método B).

Tratamiento	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	% Sev
Control							a
6 ppm							44.77% a
12 ppm							28.87% a
30 ppm							0% b






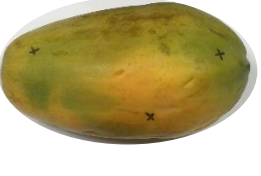
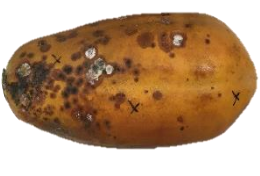








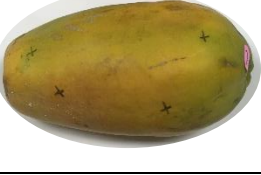
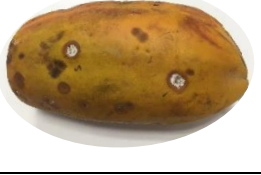



Notas: Los valores son las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

Cuadro 6.9. Comportamiento de severidad en plátano (Método B).

Tratamiento	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	% Sev
Control							a
6 ppm							100% a
12 ppm							100% a
30 ppm							87.43% a

Notas: Los valores son las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

Cuadro 6.10. Comportamiento de severidad en papaya (Método B).

Tratamiento	0 h	48 h	96 h	144 h	192 h	% Sev
Control						-
6 ppm						100% a
12 ppm						100% a
30 ppm						100% a

Notas: Los valores son las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

Al realizarse la comparación estadística del porcentaje de severidad entre los métodos A y B para cada fruto, se pudo detectar que no se muestran diferencias significativas para ningún caso, por lo que, para disminuir la severidad de la enfermedad ningún método es mejor que el otro.

En base a lo anterior, el porcentaje de efectividad biológica para cada fruto, tratamiento y método se muestra en el cuadro 6.11, mismo en el que se puede observar que para el método A el tratamiento con 30 ppm fue el que presentó el mayor porcentaje de efectividad para cada uno de los frutos, y que esta efectividad fue disminuyendo a medida que disminuía la concentración de cloro activo en los tratamientos. Sin embargo, el tratamiento de 30 ppm sólo representa una diferencia significativa para limón y plátano.

Cuadro 6.11. Efectividad biológica del agua electrolizada oxidante a diferentes concentraciones de cloro activo.

<b>Porcentaje de efectividad biológica</b>				
Tratamiento		Limón	Plátano	Papaya
Cloro Activo (ppm)				
Método "A"	6	72.70 ± 25.08 b	2.86 ± 16.68 b	3.40 ± 80.27 a
	12	77.30 ± 40.47 b	8.91 ± 12.67 b	7.67 ± 63.06 a
	30	100 a	26.47 ± 12.03 a	9.94 ± 37.58 a
Método "B"	6	55.23 ± 31.33 b	0 a	0 a
	12	71.13 ± 19.10 b	0 a	0 a
	30	100 a	12.57 ± 4.55 a	0 a

Los valores son las medias de tres repeticiones ± desviación estándar. Letras diferentes por columna para cada método indican diferencia significativa entre tratamientos (P<0.05).

En el método B, se puede observar que el patógeno *Fusarium sp.* de plátano y *Colletotrichum sp.* de papaya presentaron gran patogenicidad contra los frutos, causando en papaya una nula efectividad en todos los tratamientos (6, 12 y 30 ppm), y en plátano en los tratamientos a 6 y 12 ppm, el tratamiento a 30 ppm fue el único que obtuvo una efectividad del 12.57%, sin embargo, no constituye una diferencia significativa con relación a los demás tratamientos. Una posible explicación de la poca efectividad del tratamiento puede ser porque los frutos venían infectados desde campo, posiblemente desde la floración y permaneciendo latente en el fruto. Además, la herida ocasionada pudo haber fomentado el desarrollo más rápido del patógeno, como lo mencionan Holmes y Stange., (2002) quienes evaluaron el desarrollo del patógeno y demostraron que el método de infección por magulladuras o heridas causan una mayor incidencia de la enfermedad, impidiendo así la efectividad del tratamiento una vez que se presentan las condiciones adecuadas para el desarrollo del patógeno.

Por otra parte, en el caso de limón, al igual que en el método A, el tratamiento a 30 ppm fue el que presentó el mayor porcentaje de efectividad y diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos, con un 100% de efectividad. Al realizar la comparación estadísticamente del porcentaje de efectividad biológica entre el método A y el método B, no se encontraron diferencias significativas para ningún fruto, lo que en dicho contexto significa que ningún método mostró mayor eficiencia que el otro.

Efectos similares encontraron Al-Haq, y cols., (2001) en durazno, en donde el agua EO redujo, pero no evitó la pudrición parda causada por *Monilinia fructicola* en frutos inoculados. Estudio en el que además se demuestra que la efectividad del tratamiento depende también de ciertos factores como el período de inmersión, las propiedades del agua EO, la inoculación del fruto con o sin herida, así como del almacenamiento en frío, puesto que frutos tratados con agua EO y mantenidos durante 8 días en 2 °C, 50% HR, no desarrollaron síntomas de pudrición hasta que se transfirieron a 20 °C, 95% HR; y por lo tanto indicaron que una combinación de

almacenamiento en frío con EO podría ser mejor que la aplicación de un solo tratamiento.

### **6.3.2 Pruebas fisicoquímicas**

De acuerdo a la efectividad demostrada en las pruebas fitopatógenas, el tratamiento a 30 ppm de cloro activo fue quien presentó mejores resultados, por lo que para la realización de las pruebas correspondientes en esta etapa se tomó en cuenta únicamente dicho tratamiento y se comparó con frutos control. Las pruebas se realizaron cada tercer día durante 12 días para los frutos antes mencionados.

En la Figura 6.7 se muestra el efecto que tuvo el agua electrolizada oxidante (EO) a 30 ppm en la pérdida fisiológica de peso (PFP) para cada fruto. La pérdida fisiológica de peso es un factor que representa la pérdida de humedad a consecuencia del proceso respiratorio del fruto, provocando el deterioro del aspecto del mismo. En ese sentido, se puede apreciar que conforme al paso de los días el porcentaje de pérdida de peso fue aumentando gradualmente para cada caso. Sin embargo, no hubo diferencia significativa entre tratamientos para ningún fruto, obteniéndose valores finales de pérdida de peso en limón del 17.8% para el control y del 20.2% para el tratamiento a 30 ppm; en plátano de 27.2% para el control y 23.5% para el tratamiento a 30 ppm; y en papaya del 14.5% para ambos casos.

Resultados previos muestran un efecto similar en fresa y brócoli (Hung y cols., 2010), donde no se encontraron diferencias significativas entre muestras tratadas con agua EO a 55 y 100 ppm de cloro activo, observándose que inclusive a mayores concentraciones de cloro activo no hay daño en la pared celular ni provoca la pérdida de agua.

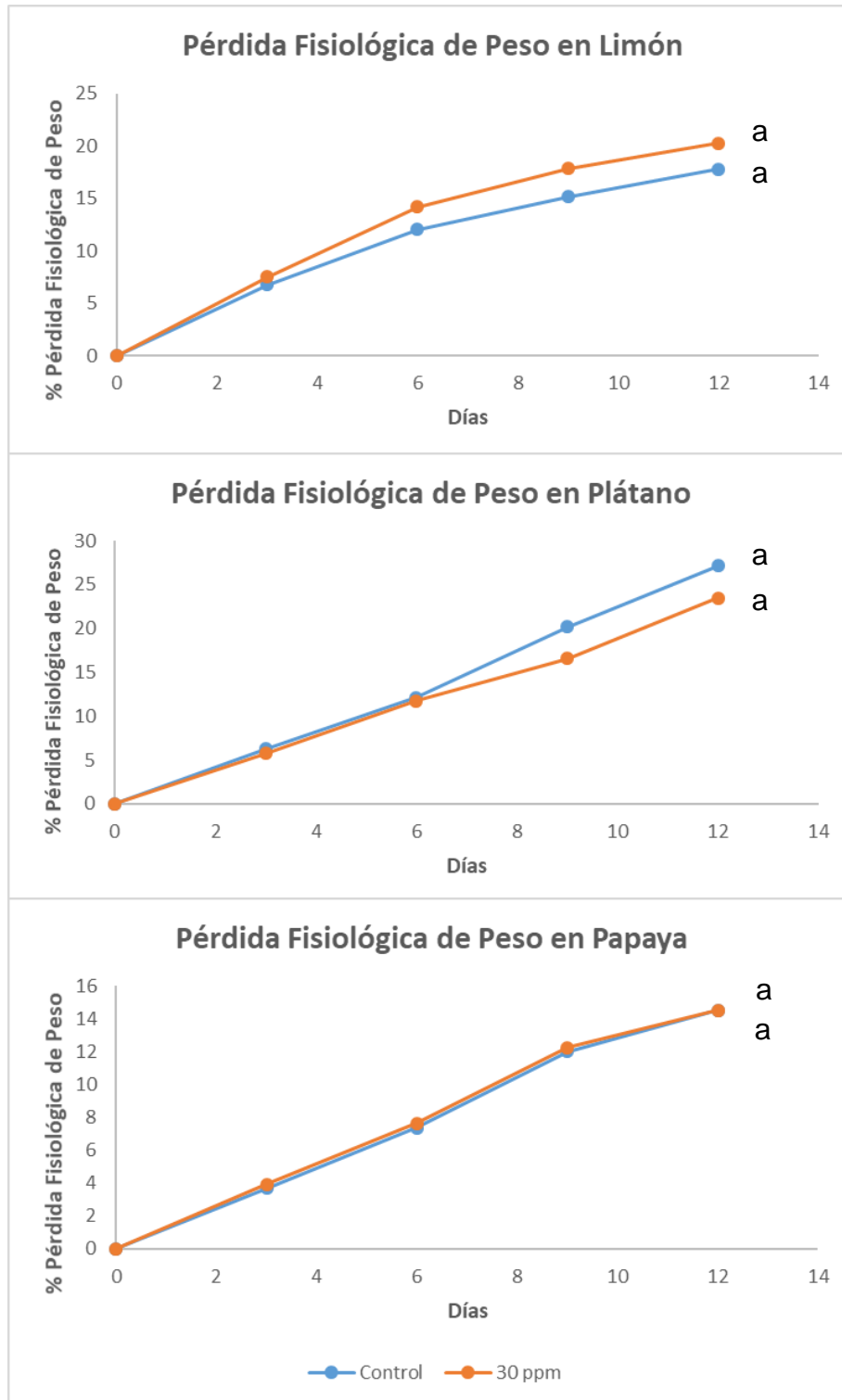


Figura 6.7. Efecto del agua electrolizada oxidante a 30 ppm de cloro activo en la pérdida fisiológica de peso (PFP). Notas: Los valores son las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).



La pérdida de firmeza es uno de los factores que más afecta la calidad de un fruto y juega un papel importante en la aceptabilidad del consumidor. En la literatura, se sabe que la firmeza está relacionada con la presión de turgencia celular, el tamaño de las células, la resistencia de la pared celular y la adhesión intercelular en las células (Aday, 2016).

Los cambios de firmeza entre los frutos tratados a 30 ppm y los frutos controles se muestran en la Figura 6.8, donde se puede observar que el comportamiento en plátano y papaya en cada uno de los tratamientos fue similar, en donde la firmeza tendió a disminuir gradualmente a lo largo del periodo de almacenamiento. Batisse y cols. (1996) indican que la degradación de la pared celular y la estructura celular es la principal contribuyente para la disminución de la firmeza durante el almacenamiento. Por el contrario, la firmeza en limón fue aumentado, representando una conducta normal en firmeza para cada fruto.

No se encontraron diferencias significativas entre los frutos tratados con agua EO a 30 ppm y el control. Resultados que coinciden con los reportados por Eda y cols., (2015), que evaluaron el efecto de diferentes tratamientos con agua electrolizada en la calidad y atributos sensoriales de la cereza dulce durante almacenamiento en atmósfera pasiva, quienes muestran que no se encontraron diferencias significativas de firmeza entre las muestras de control y las muestras tratadas con agua electrolizada a 100, 200, 300 y 400 ppm. Estos resultados también concuerdan con el estudio de Hung y cols., (2010) quien reveló que 100 ppm de tratamiento con agua EO no causa ningún daño en la firmeza del brócoli.

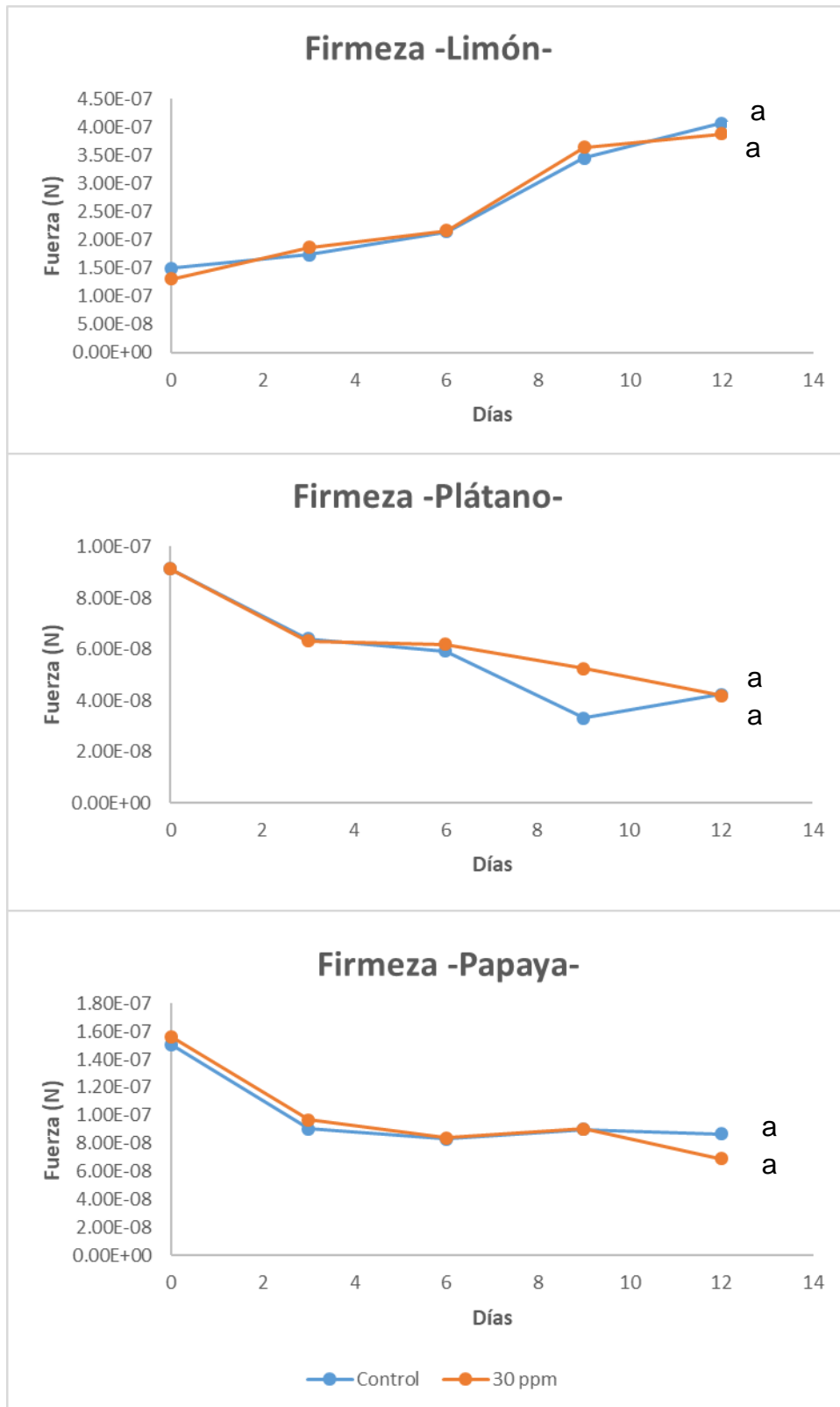


Figura 6.8. Cambios de firmeza en los frutos tratados a 30 ppm y los frutos controles. Notas: Los valores son las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

En la Figura 6.9 se muestran los resultados obtenidos del cambio en el contenido de sólidos solubles totales (SST) en los frutos tratados y los controles durante los días de evaluación. El comportamiento de los SST o °Brix está asociado a la madurez del fruto, esto se debe a la reacción que ocurre durante la maduración para la síntesis de azúcares, que es la hidrólisis del almidón a carbohidratos más simples del tipo disacáridos y monosacáridos (glucosa, sacarosa y fructosa), mediada por la acción de enzimas como la  $\alpha$  y  $\beta$  amilasas (Kader, 2002).

En general, se puede observar un aumento gradual de los SST con el avance de la maduración principalmente en plátano y papaya, y en menor medida en limón, iniciando en plátano con 13.1 °Brix para los frutos control y con 11.9 °Brix para los frutos con tratamiento, aumentando hasta obtener valores finales de 25.4 y 23.5°Brix respectivamente. En papaya se observó un incremento de 9.7 a 17.6°Bx para los frutos control, y de 8.7 a 18.8°Bx para los frutos con tratamiento. En limón se observó un mínimo aumento en el contenido de SST ya que al ser un fruto no climatérico éste madura en la planta y contiene menor proporción de almidón, presentando un aumento de 10.1 a 10.6 °Bx para el control, y de 8.5 a 9.8 °Bx para los frutos con tratamiento. El análisis estadístico indicó que el contenido de SST de los frutos control y con tratamiento no presentan diferencias significativas, lo que significa que el tratamiento con agua electrolizada oxidante (EO) a 30 ppm no modifica los °Brix del fruto.

Resultados estadísticos que también coinciden con el estudio realizado por Khayankarn y cols., (2013) quienes evaluaron en piña 'Phu Lae' la pérdida fisiológica de peso, sólidos solubles totales, acidez titulable y ph, parámetros que también se evaluaron en este trabajo, no encontrando alguna diferencia significativa entre los datos recabados respectivamente de cada prueba para el control y el tratamiento que empleó agua electrolizada en combinación con una onda ultrasónica.

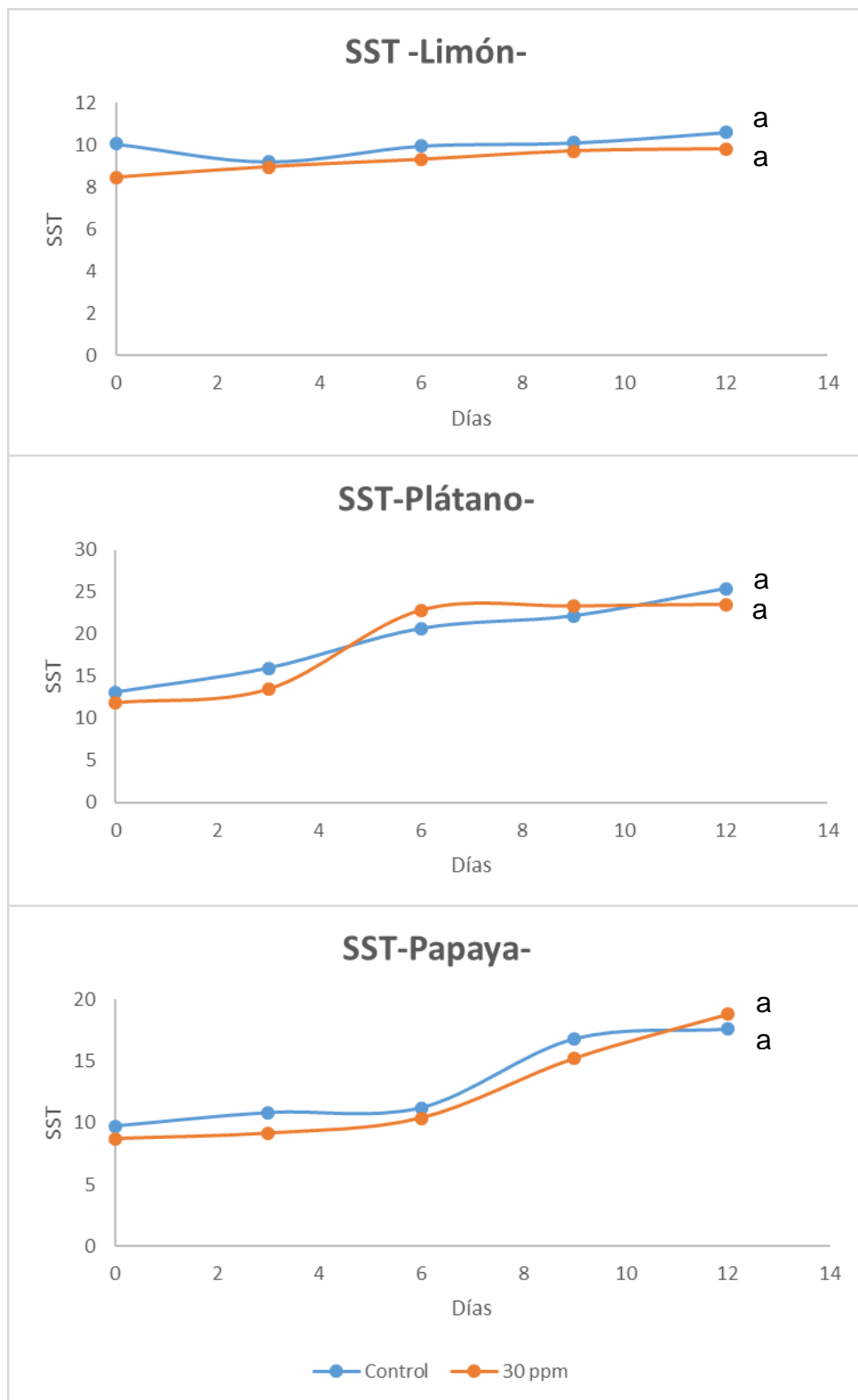


Figura 6.9. Cambios en el contenido de sólidos solubles totales (SST) de los frutos tratados a 30 ppm y los frutos controles. Notas: Los valores son las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

En lo que corresponde a la medición de pH, en la Figura 6.10 se muestra el comportamiento de dicho parámetro conforme a los días. El pH inicial y final en limón control fue de 1.38 y 1.98, y respectivamente de 1.38 y 2.12 para el tratado a 30 ppm de cloro activo; en plátano se obtuvieron valores iniciales para el control y el tratado de 4.38 y 4.34 respectivamente, y valores finales de 5.10 y 5.0 para cada caso; mientras que en papaya el control pasó de tener un pH inicial de 5.49 a uno final de 5.92, y un pH de 5.57 a uno de 5.90 para el tratado. Como se puede observar, los valores de pH presentaron un incremento progresivo a través del tiempo de almacenamiento en todos los frutos, y una vez más se puede observar que estadísticamente no existe diferencia estadística significativa entre tratamientos

Por su parte, en la Figura 6.11 se observan los resultados de acidez titulable para cada fruto, expresado como porcentaje de ácido cítrico para limón, y como porcentaje de ácido málico para plátano y papaya, de acuerdo al ácido predominante en cada fruto. De acuerdo al comportamiento observado, el valor inicial y final del porcentaje de acidez titulable en limón fue respectivamente de 3.7 y 3.1% para el tratamiento control, y de 3.6 y 3.2% para el tratamiento a 30 ppm, siendo el limón el fruto que mostró mayor porcentaje de acidez en relación a los demás frutos. El mismo comportamiento se presentó en los frutos de plátano y papaya, aunque a menor escala, en donde se puede observar gráficamente cómo la acidez fue disminuyendo paulatinamente, alcanzando en plátano una acidez inicial de 0.33% y final de 0.14% para el control, y respectivamente de 0.30 y 0.16% para los frutos tratados. En lo que concierne a la acidez en papaya, el valor inicial y final fue de 0.60 y 0.06% para el control, y de 0.50 y 0.04% para el tratado, mostrando los niveles de acidez más bajos en comparación con los demás frutos.

Como se puede observar, el pH presentó un comportamiento inverso a la acidez, lo que es normal, ya que a mayor acidez menor pH. Por su parte, el análisis estadístico indicó que la acidez titulable tanto del tratamiento como del control no presenta diferencias significativas.

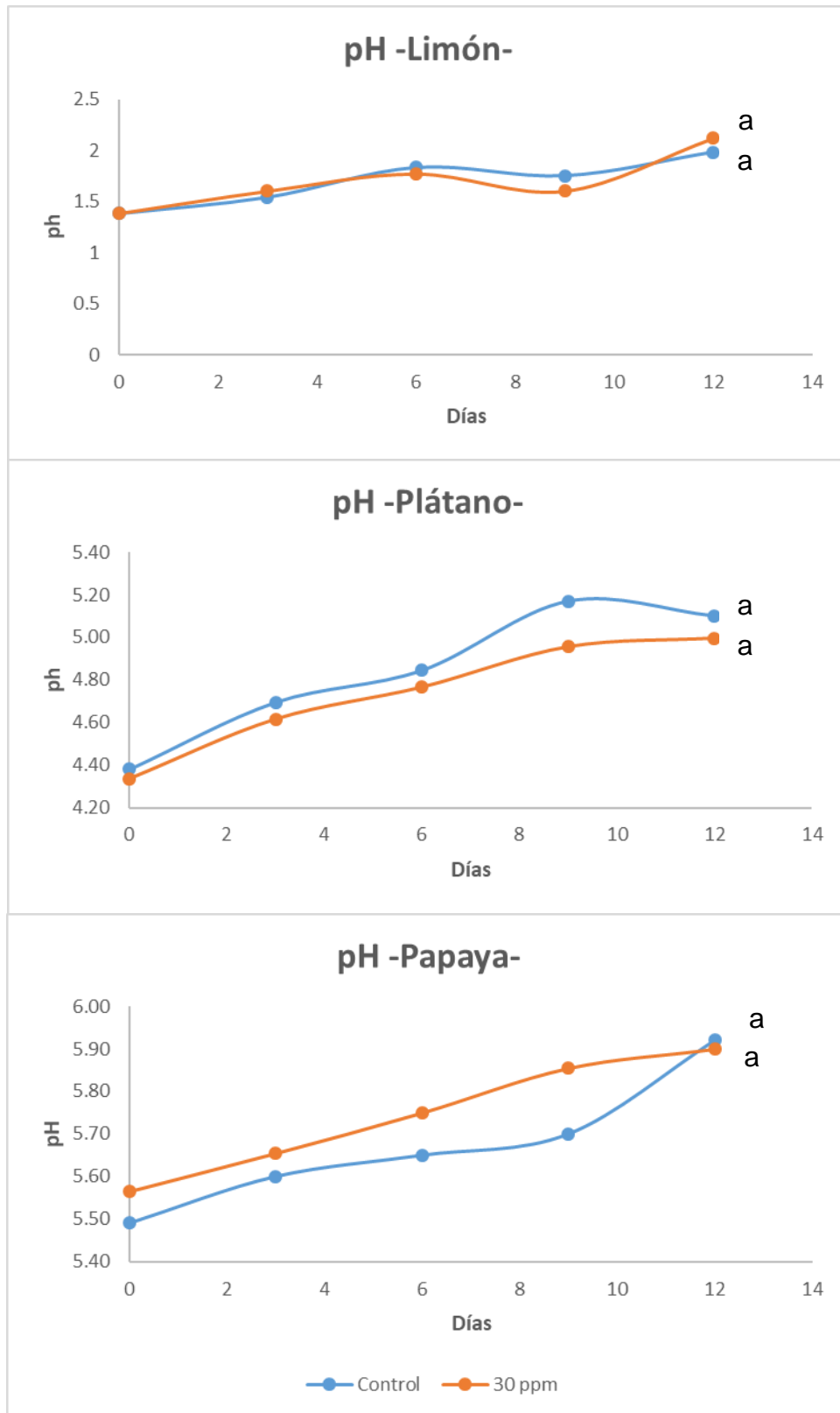


Figura 6.10. Comportamiento del pH de los frutos tratados a 30 ppm y los frutos controles. Notas: Los valores son las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

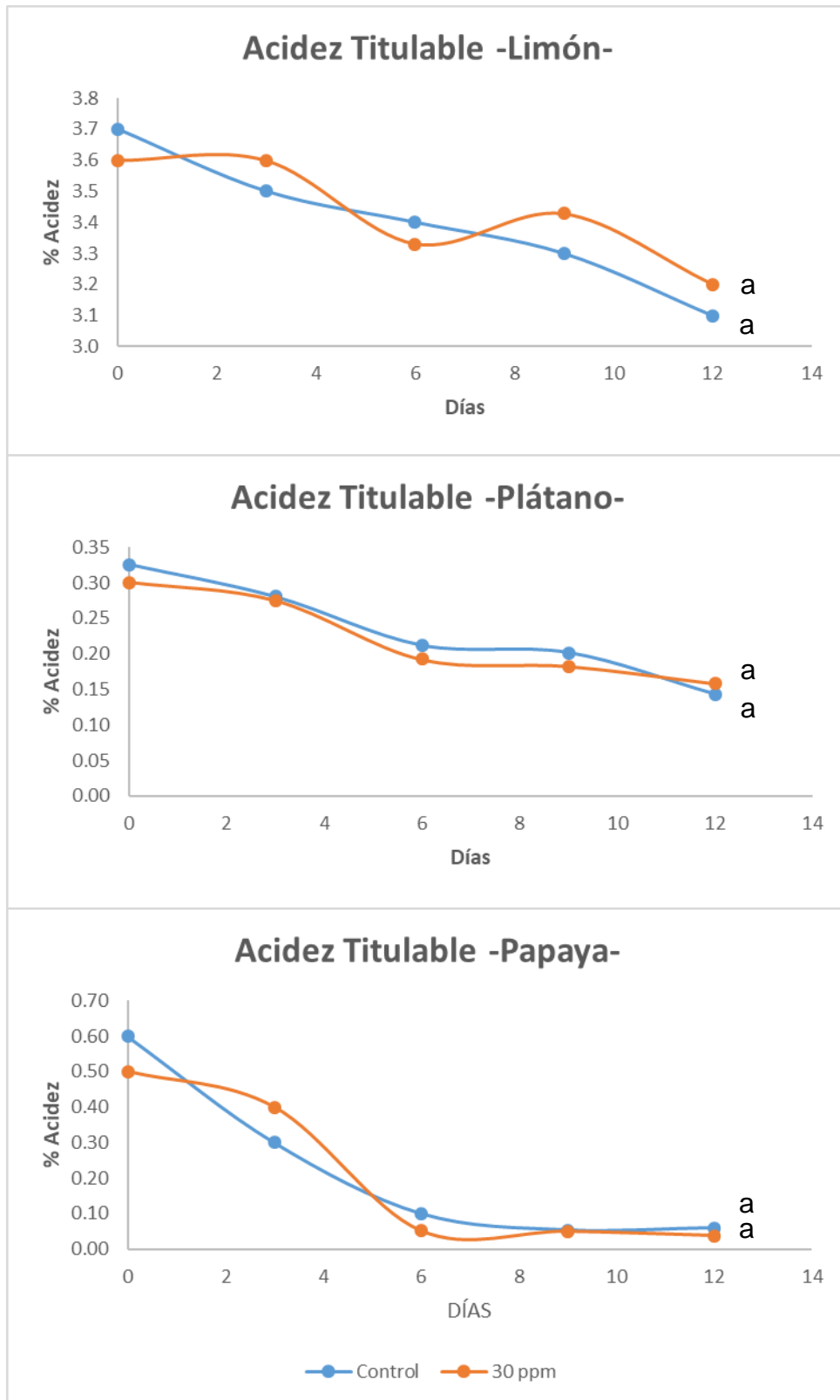


Figura 6.11. Comportamiento de la acidez titulable de los frutos tratados a 30 ppm y los frutos controles. Notas: Los valores son las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

Finalmente, se midió el porcentaje de jugo de limón, el cual suele ser aproximadamente el 30% del peso del fruto. En dichas pruebas se obtuvieron valores similares entre los frutos tratados y los frutos controles, alcanzando un porcentaje de jugo mínimo del 42% y un máximo de 52%.

De acuerdo al Pliego de Condiciones para el uso de la Marca Oficial México Calidad Selecta en limón Persa (PC-012-2004) y la Norma Mexicana NMX-FF-077-1996, el porcentaje promedio que se exige de jugo por fruto para su comercialización debe ser superior o igual al 42%, por lo que dichos frutos se encuentran bajo las especificaciones mencionadas; además, no existe diferencia significativa entre tratamientos, lo que quiere decir que el tratamiento no interfiere tampoco en el contenido de jugo de limón.

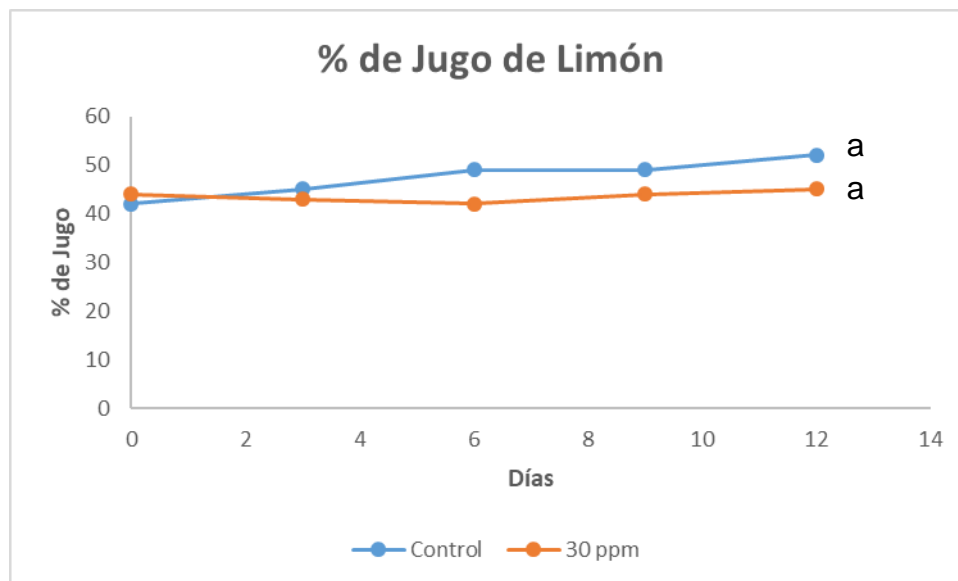


Figura 6.12. Porcentaje de jugo de limón de los frutos tratados a 30 ppm y los frutos controles. Notas: Los valores son las medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).



## 7. CONCLUSIONES

Se aisló e identificó a *Colletotrichum sp.* agente causal de la enfermedad de antracnosis en frutos de papaya; *Fusarium sp.* hongo causante de la pudrición de la corona en plátano, y *Penicillium sp.* hongo asociado con la aparición de moho verde en limón.

A nivel “*in vitro*”, los tratamientos que emplean la aplicación de agua electrolizada oxidante en concentraciones de 6 y 12 ppm de cloro activo fueron los que presentaron mejores resultados, inhibiendo completamente el crecimiento micelial, la esporulación y la germinación de los tres hongos.

A nivel “*in vivo*”, el tratamiento a 30 ppm de cloro activo fue quien presentó mejores resultados, reduciendo en cierto grado la incidencia y severidad de la enfermedad.

Se observó un efecto relacionado con la concentración de cloro activo presente en los tratamientos y la reducción o inhibición de los patógenos tanto en las pruebas “*in vitro*” como en las pruebas “*in vivo*”.

El tratamiento de agua EO a 30 ppm no tuvo ningún efecto significativo negativo sobre la calidad de los frutos según lo determinado por el porcentaje de pérdida de peso, firmeza, sólidos solubles totales, pH, acidez titulable y porcentaje de jugo.

## 8. BIBLIOGRAFIA

1. A.O.A.C. 2000. Official Method of Analysis of the Association of Agricultural Chemist. 14th Edition. Washington D.C.
2. Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18: 267-267.
3. Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*. Quinta Edición. Academic Press. Nueva York. pp.:803.
4. Aday, M. S. 2016. Application of electrolyzed water for improving postharvest quality of mushroom. *LWT - Food Science and Technology*. 68: 44-51.
5. Andrades, I., F. Yender, J. Labarca, D. Ulacio, C. Paredes, y Y. Marín. 2009. Evaluación de la antracnosis (*Colletotrichum sp.*) en guanábana (*Annona muricata L.*) tipo Gigante en el sector del estado de Zulia. *Revista UDO Agrícola*. 9:148-157.
6. Anonymous. 1997. Principle of formation of electrolytic water. Hoshizaki Electric Co. Ltd., Sakae, Toyoake, Aichi, Japan.
7. Anibijuwon, I., Udeze A. 2009. Antimicrobial activity of *Carica papaya* (pawpaw leaf) on some pathogenic organisms of clinical origin from South-Western Nigeria. *Ethnobotanical Leaflets*. 1(7):4.
8. Alabi, A.S., Omotoso, G.O., Enaibe, B.U., Akinola, O.B., Tagoe, C.N.B. 2013. Beneficial effects of low dose *Musa paradisiaca* on the semen quality of male Wistar rats. *Niger Med J*. 54(2): 92–95.
9. Al-Haq, M. I., Seo, Y., Oshita, S., Kawagoe, Y. 2001. Fungicidal Effectiveness of Electrolyzed Oxidizing Water on Postharvest Brown Rot of Peach. *Hortscience*. 36(7):1310–1314.
10. Al-Haq, M. I., Sugiyama, J., Isobe, S. 2005. Applications of electrolyzed water in agriculture and food industries. *Food Science and Technology Research*. 11(2):135-146.
11. Alvindia, D. G., Kobayashi, T., Natsuaki, K.T. y Tanda, D. 2004. Inhibitory influence of inorganic salts on banana postharvest pathogens and preliminary application to control crown rot. *Journal of General Plant Pathology* 70(1):61-65.

12. Bautista-Baños S. 2014. Postharvest Decay: Control Strategies. Elsevier Inc. U.S.A. pp.:35-345.
13. Barnet, H., Hunter, B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Mac Millan Publishing Co., New York. pp: 200-201.
14. Batisse, C., Buret, M., Coulomb, P.J., 1996. Biochemical differences in cell wall of cherry fruit between soft and crisp fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44: 453–457.
15. Bourne, M. 1980. Texture evaluation of horticultural crops. *HortScience*. 15(1):7.
16. Boshra, V., Tajul, A.Y. 2013. Papaya - An Innovative Raw Material for Food and Pharmaceutical Processing Industry. *Health and the Environment Journal*. 4(1):68-75.
17. Buck, J. W., van Iersel, M. W., Oetting, R. D., Hung, Y.-C. 2002. In vitro fungicidal activity of acidic electrolyzed oxidizing water. *Plant Disease Journal*. 86:278-281.
18. Campostrini, E., Glenn, D. M. 2007. Ecophysiology of papaya: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 19(4):413-424.
19. Dadzie, B.K., Orchard, J.E. Evaluación rutinaria postcosecha de híbridos de bananos y plátanos: criterios y métodos. Guías técnicas INIBAP. Pág 54.
20. Ding, T., Ge, Z., Shi, J., Xu, Y.T., Jones, C.L., Liu, D.H. 2015. Impact of slightly acidic electrolyzed water (SAEW) and ultrasound on microbial loads and quality of fresh fruits. *LWT- Food Science and Technology*. 60(2):1195–9.
21. Eda, H., Mehmet, S. A. 2015. The effect of different electrolyzed water treatments on the quality and sensory attributes of sweet cherry during passive atmosphere packaging storage. *Postharvest Biology and Technology*. 102: 32-41.
22. FAO (2004). [www.fao.org](http://www.fao.org)
23. FAOSTAT (2012). [www.fao.org/faostat](http://www.fao.org/faostat)
24. Fallanaj, F., Sanzani S.M., Zavanella C., Ippolito A. 2013. Salt addition improves the control of citrus postharvest diseases using electrolysis with conductive diamond electrodes. *Journal of Plant Pathology*. 95 (2), 373-383.

25. Fuggate, P., Wongs-Aree, C., Noichinda, S., & Kanlayanarat, S. 2010. Quality and volatile attributes of attached and detached “Pluk Mai Lie” papaya during fruit ripening. *Scientia Horticulturae*.126, 120–129.
26. Ferreira, M.D., Franco, T.O.A., Kasper, R.F., Ferraz, A.C.O., Honório, S.L., Tavares, M. 2005. Post-harvest quality of freshmarketed tomatoes as a function of harvest periods. *Scientia Agricola (Piracicaba)*. 62(5): 446-451.
27. FHIA: Fundación Hondureña de Investigación Agrícola. 2007. Deterioro postcosecha de las frutas y hortalizas frescas por hongos y bacterias.15(4):2-5.
28. González, C. F., 2011. Compilación bibliográfica del limón persa (*Citrus latifolia*). Trabajo Recepcional de Químico Agrícola. Universidad Veracruzana. Orizaba, Veracruz, México.
29. Hao, J., Li, H., Wan, Y., Liu, H. 2015. Combined effect of acidic electrolyzed water (AcEW) and alkaline electrolyzed water (AIEW) on the microbial reduction of fresh-cut cilantro. *Food Control*. 50:699–704.
30. Hati, S., Mandal, S., Minz, P.S., Vij, S., Khetra, Y., Singh, B. P., Yadav, D. 2012. Eletrolyzed oxidized water (EOW): Non-thermal approach for decontamination of food borne microorganisms in food industry. 3:760-768.
31. Hirano, H., Ueda, O. 1997. Characteristics of electrolyzed neutral water possibility of the practical use for food hygiene. *Shokuhin Kogyo, Japan*. 40(1): 25-35.
32. Hernández-Lauzardo, A.N., Bautista-Baños, S., Velásquez-Del Valle, M.G., y Hernández-Rodríguez, A. 2007. Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades poscosecha en frutos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25(1):66-74
33. Holmes, G., Stange, R. 2002. Influence of wound type and storage duration on susceptibility of sweetpotatoes to *Rhizopus* soft rot. *Plant Disease*. 86:345-348.
34. Hricova, D., Stephan, R., Zweifel, C. 2008. Electrolyzed water and its application in the food industry. *Journal of Food Protection*. 71(9):1934–1947.
35. Hsu, S. Y. 2005. Effects of flow rate, temperature and salt concentration on chemical and physical properties of electrolyzed oxidizing water. *Journal of Food Engineering*. 66 (1): 171–176.

36. Huang, Y.R., Hung, Y.C., Hsu, S.Y., Huang, Y.W., Hwang, D.F. 2008. Application of electrolyzed water in food industry. *Food Control* 19: 329-345.
37. Hung, Y.-C., Bailly, D., Kim, C., Zhao, Y., Wang, X. 2010. Effect of electrolyzed oxidizing water and chlorinated water treatments on strawberry and broccoli quality. *Journal of Food Quality* 33: 578–598.
38. INFOAGRO. 2017. El cultivo del plátano (primera parte).
39. Jiménez, V. M., Mora- Newcomer E., Gutiérrez-Soto, M. V. 2014. Chapter 2: Biology of the Papaya Plant. Springer Science. New York. pp.:17-33.
40. Kader, A.A. 2002. Postharvest technology of horticultural crops. 3rd edition. Agriculture and Natural Resources. Oakland, CA: University of California. Publication 3311.
41. Kitinoja, L., Gorny, J.R. 1999. Postharvest technology for small-scale produce marketers: economic opportunities, quality and food safety. Oakland, CA: University of California. Postharvest Horticulture. Series No. 21.
42. Kitinoja, L. 2002. Making the link: Extension of postharvest technology. In A. A. Kader (Ed.). Postharvest technology of horticultural crops. Publication 3311 (3rd ed., pp. 481–509). Oakland, CA: University of California.
43. Kim, C., Hung, Y.C., Brackett, R.E. 2000. Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) and chemically modified water on different types of foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*. 61: 199-207.
44. Koseki, S., Fujiwara, K., Itoh K. 2002. Decontamination effect of frozen acidic electrolyzed water on lettuce. *Journal of Food Protection*. 65(1): 411-414.
45. Krishna, K. L., Paridhavi, M., Jagruti A. P. 2008. Review on nutritional medicinal and pharmacological properties of Papaya (*Carica papaya Linn.*). *Natural Product Radiance*. 7 (4): 364-373.
46. Khayankarn, S., Uthaibutra, J., Setha, S., Whangchai, K. 2013. Using electrolyzed oxidizing water combined with an ultrasonic wave on the postharvest diseases control of pineapple fruit cv. 'Phu Lae'. *Crop Protection*. 54:43-47.

47. Kumar, K. P. S., Bhowmik, D., Duraivel, S. and Umadevi, M. 2012. Traditional and medicinal uses of banana. *Journal Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1: 51-63.
48. Landa, R. I. 2014. Análisis de la producción y comercialización del limón en Argentina. Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina.
49. Lassois, L., Jijakli, M.H., Chillet, M. 2010. Crown rot of bananas: preharvest factors involved in postharvest disease development and integrated control methods. *Journal of Plant Diseases*. 94: 648– 658.
50. Len, S.V., Hung, Y.C., Chung, D., Anderson, J.L., Ericksen, M.C., Morita, K. 2002. Effects of storage conditions and pH on chlorine loss in electrolyzed oxidizing (EO) water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 209-212.
51. Lester, G.E., Burton B.D. 1986. Relationship of netted muskmelon fruit water loss to postharvest storage life. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 111(5): 727-731.
52. Lima, R., Oliveira S., Menezes M. 2003. Caracterización enzimática y patogenicidad cruzada de *Colletotrichum spp.* asociados a deterioro postcosecha. *Fitopatologia Brasileira* 28: 620-625.
53. Mulkay, T., Paumier, A., Aranguren, M., Herrera, O. 2010. Diagnóstico de las enfermedades fungosas de mayor incidencia durante la postcosecha de la papaya (*Carica papaya L.*), el mango (*Mangifera indica L.*) y el aguacate (*Persea americana Miller*) en tres localidades frutícolas de Cuba. *CitriFrut*, 27(2): 23-30.
54. Palou, L., Usall, J., Smilanick, J.L., Aguilar, M.J., Vinas, I. 2002. Evaluation of food additives and low toxicity compounds as alternative chemicals for the control of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* on citrus fruit. *Pest Management Science*. 58:459- 466.
55. Peres, N.A., Seijo T.E., Turechek, W.W.. 2010. Pre- and post-inoculation activity of a protectant and a systemic fungicide for control of anthracnose fruit rot of strawberry under different wetness durations. *Crop Protection*. 29(1):1105-1110.

56. Pedraza, R. O., Motok, J., Salazar, S.M., Ragout, A., Mentel, M.I., Tortora, M. L., Guerrero-Molina, M.F., Wini, B.C., Díaz-Ricci, J. C. 2010. Growth-promotion of strawberry plants inoculated with *Azospirillum brasilense*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 26(2), 265-272.
57. Ramos-Guerrero, A., González-Estrada, R. R., Hanako-Rosas, G., Bautista-Baños, S., Acevedo-Hernández, G., Tiznado- Hernández, M. E., Gutiérrez-Martínez, P. 2018. Use of inductors in the control of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* isolated from soursop fruits: in vitro tests. *Food Science and Biotechnology*. 27(3): 755–763.
58. Ray, R. C., Ravi, V. 2005. Postharvest spoilage of sweet potato in tropics and control measures. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 45(1):623–644.
59. Romanazzi, G., Sanzani, S. M., Bi, Y., Tian, S., Gutiérrez, M. P., Alkan, N. 2016. Induced resistance to control postharvest decay of fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*. 122: 82-94.
60. SAGARPA (2005). [www.gob.mx/sagarpa](http://www.gob.mx/sagarpa)
61. SAGARPA (2014). [www.gob.mx/sagarpa](http://www.gob.mx/sagarpa)
62. SIAP- SAGARPA (2014). Panorama del plátano. [www.financierarural.gob.mx](http://www.financierarural.gob.mx)
63. SAGARPA (2015). [www.gob.mx/sagarp](http://www.gob.mx/sagarp)
64. SAGARPA (2016). [www.gob.mx/sagarpa](http://www.gob.mx/sagarpa)
65. SAGARPA (2017). [www.gob.mx/sagarpa](http://www.gob.mx/sagarpa)
66. Shiba A, Murai S, Amagasa T. 1997. Electrolyzed acidic water in the dental clinic. Tokyo: Quintessence. pp.: 35-38.
67. Shiba, A., Shiba, K. 1996. A handbook for electrolyzed acidic water. Tokyo: Igakujohosya. pp.: 45-54.
68. Shimizu, Y., Hurusawa, T. 1992. Antiviral, antibacterial, and antifungal actions of electrolyzed oxidizing water through electrolysis. *Dental Journal*. 37(1):1055–1062.
69. Su, Y.C., Liu, C., Hung, Y.C. 2007. Electrolyzed water: principles and applications. In: *New Biocides Development: the Combined Approach of*

- Chemistry and Microbiology, Chap. 14. Zhu PC (ed). American Chemical Society, Washington, DC. pp.: 309-322.
70. Talibi, I., Boubaker H., Boudyach E.H., Aoumar A.B. 2014. Review Article: Alternative methods for the control of postharvest citrus diseases. *Journal of Applied Microbiology*.
  71. Tortora M.L., J.C. Díaz-Ricci y R.O. Pedraza. 2012. Protection of strawberry plants (*Fragaria ananassa Duch.*) against anthracnose disease induced by *Azospirillum brasilense*. *Plant and Soil*. 356(1): 279–290.
  72. Tovar, B., García S. H., Mata, M. 2001. Physiology of pre-cut mango. I. ACC and ACC oxidase activity of slices subjected to osmotic dehydration. *Food Research International*. 34(2-3):207-215.
  73. Thorn, R. M. S., Lee, S. W. H., Robinson, G. M., Greenman, J., Reynolds, D. M. 2011. Soluciones electroquímicamente activadas: evidencia de la eficacia antimicrobiana y aplicaciones en entornos sanitarios. Springer-Verlag. Review.
  74. Ünal, N., Karadağ, A., Yanık, K., Bilgin, K., Günaydın, M., Birinci, A. 2014. Analysis of in vitro efficiency of electrolyzed water against fungi species frequently detected in nosocomial infections. *Universal Journal of Microbiology Research*. 2(3): 50-55.
  75. Xiong, K., Liu, H. J., Liu, R. 2010. Differences in fungicidal efficiency against *Aspergillus flavus* for neutralized and acidic electrolyzed oxidizing waters. *International Journal of Food Microbiology* 137:67-75.
  76. Zheng, X.D., Zhang, H.Y., Sun, P. 2005. Biological control of postharvest green mold decay of oranges by *Rhodotorula glutinis*. *European Food Research and Technology*. 220: 353–357.



## 9. ANEXOS

Anexo 1. Aplicación de los tratamientos “in vivo” con agua EO (pruebas fitopatógenas).

