

Alternativas al tratamiento convencional en postcosecha de citrus

Vero, S.¹; Garmendia, G.¹; Garat, F.¹; Alaniz, S.²; de Aurrecoechea, I.³; Wozniak, A.¹; Silvera E.²

1.Cátedra de Microbiología. Facultad de Química. UdelaR

2.Unidad de Fitopatología, Dto. de Protección Vegetal, Facultad de Agronomía UdelaR

3.Departamento de Estadística, Biometría y Computación. Facultad de Agronomía. UdelaR

SITUACIÓN ACTUAL. TRATAMIENTO CONVENCIONAL.

Los citrus son la producción frutícola más importante en Uruguay. La exportación constituye el principal destino de esta producción, siendo los principales importadores países del MERCOSUR y de la Unión Europea.

El tiempo de arribo a los mercados europeos es de aproximadamente un mes. Durante este período la fruta es almacenada a temperaturas bajas para mantener su calidad. De esta forma se busca controlar la aparición de podredumbres postcosecha, como las ocasionadas por hongos pertenecientes al género *Penicillium*, en particular *Penicillium italicum* y *Penicillium digitatum* causantes del moho azul y moho verde respectivamente. Estos hongos, en general penetran a la fruta a través de heridas, por lo cual resulta muy importante minimizar los golpes y machucamientos durante y después de la cosecha. Esta medida, sin embargo no resulta suficiente, por lo que se somete a la fruta a tratamientos previos al empaque, de forma de minimizar las pérdidas durante el almacenamiento.

Actualmente en nuestro país las frutas cítricas que ingresan a una planta de empaque sufren un tratamiento que involucra, en grandes rasgos, un primer lavado con hipoclorito de sodio, un posterior lavado con ortofenilfenato de sodio (SOPP) seguido de un enjuague con agua y un tratamiento con fungicidas de síntesis química, principalmente tiabendazol (TBZ) o imazalil (IMZ). Sin embargo, se han planteado una serie de problemas asociados a este tratamiento convencional.

Uno de dichos problemas, es el uso de hipoclorito de sodio. El hipoclorito de sodio es un oxidante fuerte. Se utiliza como desinfectante superficial de la fruta siendo la concentración de uso de alrededor de 100ppm. Sin embargo, este desinfectante, reacciona con materia orgánica pudiendo producir trihalometanos tóxicos. Su actividad depende mucho del pH del medio, siendo la forma activa, el ácido hipocloroso no ionizado. Esto hace que el control del pH del baño sea sumamente necesario para lograr una adecuada eficiencia desinfectante.

Por otro lado, se han planteado problemas al uso de fungicidas de síntesis química, especialmente en la etapa de postcosecha. Se ha incrementado la conciencia por parte de los consumidores y público en general acerca de los riesgos a la salud y al medio ambiente que puede traer consigo el uso de fungicidas. Ha surgido así, un nuevo concepto de calidad. Los consumidores ya no reparan solamente en la estética del producto, sino que exigen, que el mismo esté libre de residuos tóxicos y que, además, haya sido producido siguiendo prácticas sustentables y respetuosas del medio ambiente. Como consecuencia, la presencia de residuos de plaguicidas en los productos agrícolas surge como una barrera no arancelaria a la exportación de los mismos. Los países importadores exigen cada vez menores niveles

de plaguicidas en los productos agrícolas. Además, en la actualidad, es muy reducido el número de principios activos efectivos autorizados para su uso en postcosecha, debido principalmente a consideraciones toxicológicas. Esto ha generado dificultades a la hora de instrumentar estrategias de manejo anti-resistencia, las que se basan en la alternancia o rotación de principios activos de diferente modo de acción. Como consecuencia, en la práctica se ha confirmado la presencia de poblaciones de patógenos resistentes a los fungicidas más comúnmente utilizados.

Problemas asociados a los fungicidas utilizados en postcosecha de citrus

Los fungicidas utilizados en postcosecha de citrus presentan diferentes riesgos en cuanto a la toxicidad, el impacto al medio ambiente y la posibilidad de aparición de cepas patogénicas resistentes. En cuanto a la toxicidad aguda, el imazalil es el que presenta mayores problemas. Es un fungicida categoría II, mientras que el SOPP y el tiabendazol pertenecen a las categorías III y IV respectivamente (MGAP-DGSA, 2005). Ninguno de los tres presenta reconocidos efectos carcinogénicos, ni teratogénicos. Sin embargo el SOPP está categorizado por la agencia Internacional de Investigación del Cáncer en Francia, como posible carcinogénico en humanos (<http://monographs.iarc.fr/htdocs/monographs/suppl7/sodium-ophenylphenate.html>). Por su parte la Oficina de programas de Pesticidas de la EPA de USA reafirma la clasificación del SOPP y afirma que existen estudios que plantean la sospecha del imazalil como posible carcinogénico. <http://www.epi.uci.edu/valleycenter/EPAListCarcinogenicChemicals.pdf>.

Los tres fungicidas son altamente persistentes en el suelo por lo que la dispensación de los residuos de los baños fungicidas debería ser cuidadosa.

Con respecto a la falta de efectividad por aparición de cepas resistentes, el que presenta mayores riesgos es el tiabendazol (Brent, 1998), ya que las cepas resistentes surgen por aparición de una mutación puntual en la secuencia que codifica para la β tubulina (blanco de acción del fungicida). Dicha mutación es estable ya que su aparición no modifica la adaptabilidad ni la competitividad de las cepas.

En el año 2002, nuestro equipo de investigación realizó una evaluación del grado de sensibilidad de aislamientos nativos de *Penicillium* patógenos de citrus, a imazalil, tiabendazol y SOPP. Los estudios se hicieron en primera instancia *in vitro* correlacionándose luego con estudios de resistencia sobre fruta en condiciones de uso.

El primer paso de nuestro trabajo consistió en el estudio de la población local de patógenos. De fruta cítrica con síntomas de moho verde o moho azul, provenientes del norte y sur del país, se aislaron 132 cepas nativas de *Penicillium* capaces de reproducir los síntomas en fruta sana. Los aislamientos fueron identificados y se determinó que pertenecían a tres especies: *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* y *Penicillium ulaiense*. La Figura 1 muestra los síntomas ocasionados cuando heridas hechas artificialmente sobre fruta, se inocularon con aislamientos de las distintas especies. Las cepas de *P. ulaiense* son mucho menos agresivas y menos frecuentes. Sólo un 4% de los aislamientos obtenidos pertenece a



Figura 1

esa especie.

Para todos los aislamientos se determinó el grado de sensibilidad a los fungicidas *in vitro* y se correlacionó con la resistencia sobre fruta en condiciones de uso. Nuestros resultados indicaron que para el 66%, el 46% y el 100% de las cepas de *P. digitatum*, *P. italicum* y *P. ulaiense* respectivamente, el tiabendazol fue totalmente efectivo en condiciones de uso, mientras que la efectividad del imazalil se manifestó totalmente en el 98% de las cepas *P. digitatum* y el 100% de las cepas de *P. italicum* y *P. ulaiense*. (Figura 2)

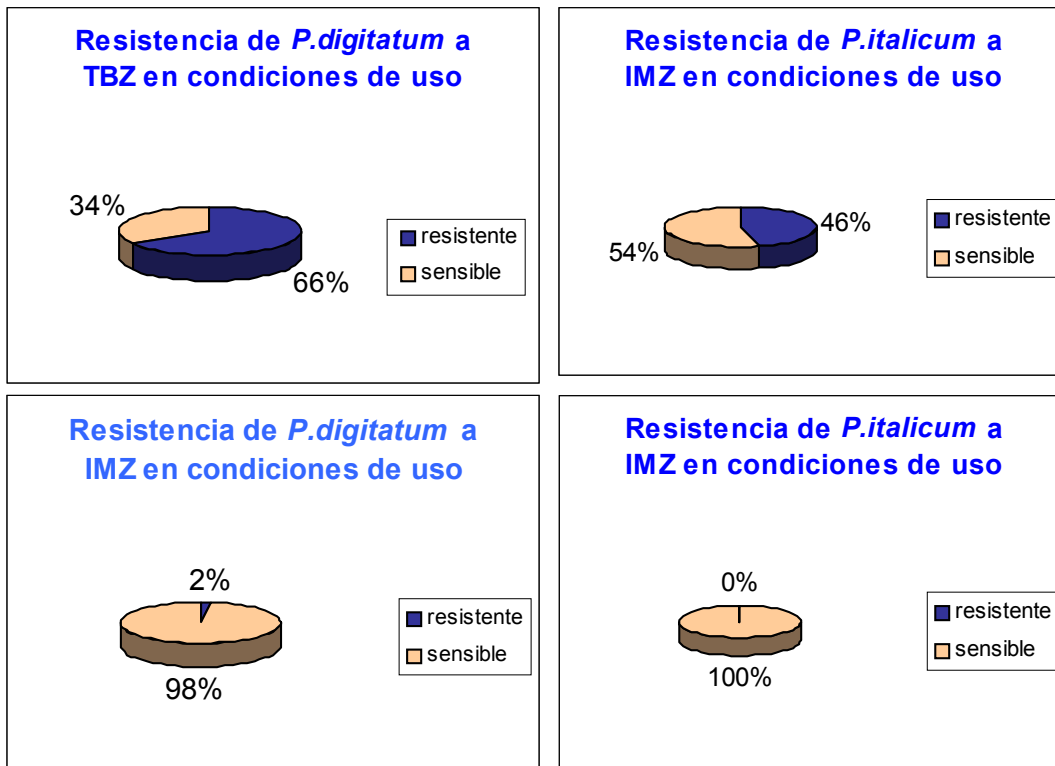


Figura 2 Resistencia de cepas nativas de patógenos a fungicidas comúnmente utilizados en condiciones de uso.

Estos resultados indican que la aplicación de tiabendazol no es efectiva en más de un 50 % de los casos. Sólo se cuenta con el imazalil para un control efectivo. Surge entonces, claramente la necesidad de buscar alternativas para el tratamiento postcosecha en citrus.

ALTERNATIVAS AL TRATAMIENTO CONVENCIONAL

Alternativas al hipoclorito de sodio en la desinfección inicial.

El lavado inicial de la fruta tiene por objetivo una primera desinfección superficial de la fruta, y busca evitar la contaminación cruzada. Como ya se mencionó, en general se utiliza un baño con hipoclorito de sodio a la entrada de la línea de tratamiento.

Debido a los problemas asociados al hipoclorito de sodio, se han planteado alternativas a su uso.

La FDA propone una serie de métodos para la desinfección de vegetales frescos y vegetales mínimamente procesados. Entre ellas se encuentran el hipoclorito de sodio y otros tratamientos alternativos que incluyen tratamientos con calor, irradiación, y varios compuestos químicos con acción desinfectante. Entre los compuestos químicos mencionados se encuentran el dióxido de cloro, el ácido peracético, los amonio cuaternarios, el peróxido de hidrógeno y el ozono entre otros. (<http://www.cfsan.fda.gov/~comm/ift3-5.html>). En este artículo se comentan las ventajas y desventajas de cada método y los posibles usos en la desinfección de productos vegetales. Nuestro equipo ha trabajado en este tema y ha estudiado la acción comparativa del hipoclorito de sodio, el dióxido de cloro y el ácido peracético como desinfectantes superficiales en citrus.

Tanto el dióxido de cloro como ácido peracético son oxidantes fuertes. El dióxido de cloro tiene una reactividad más selectiva que el hipoclorito de sodio, no formándose trihalometanos como subproducto de reacción. Por otro lado, su actividad no es tan dependiente del pH del medio y tiene un poder oxidante 2.5 veces mayor que el del hipoclorito. El ácido peracético, también oxida materia orgánica, pero dicha reacción genera oxígeno y ácido acético, las cuales no son sustancias tóxicas. Mantiene su eficiencia en un rango de pH y materia orgánica mayor que el hipoclorito.

En primer lugar se realizaron ensayos *in vitro*, los cuales consistieron en poner en contacto una suspensión de esporas, de concentración conocida, de cada patógeno, con los diferentes desinfectantes durante distintos tiempos. Se construyeron así, curvas de muerte para cada desinfectante, comprobándose que la acción del dióxido de cloro es más rápida que las de los otros desinfectantes (Figura 3)

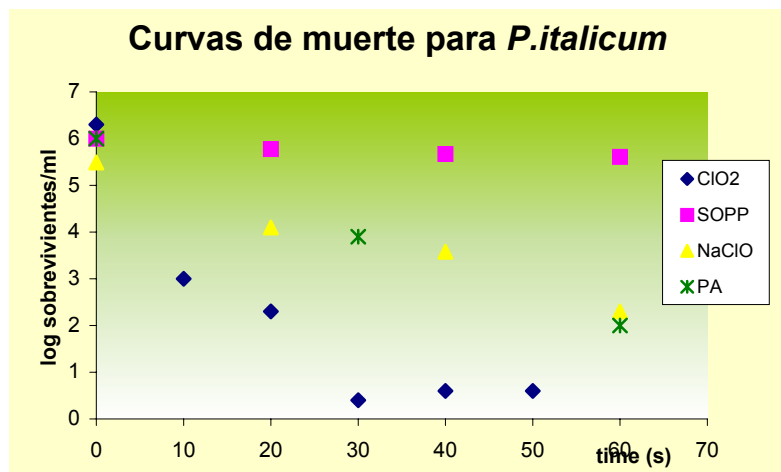


Figura 3

Se determinó además, la acción de cada desinfectante a diferentes concentraciones y a dos temperaturas diferentes. Los datos obtenidos se ven en las figuras 4, 5 y 6. De acuerdo a los resultados se puede determinar que el efecto fungicida del hipoclorito de sodio 100 ppm es comparable al efecto del ácido peracético 100 ppm y al del dióxido de cloro 2 ppm. Es importante destacar el efecto de la temperatura sobre la actividad de los tres desinfectantes.

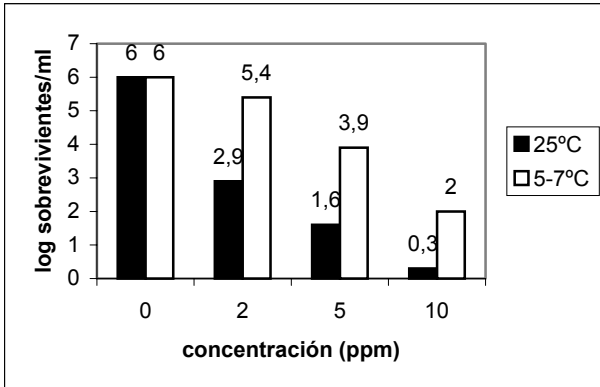


Figura 4 Acción del dióxido de cloro sobre esporas de *P.italicum* a distintas concentraciones y temperaturas

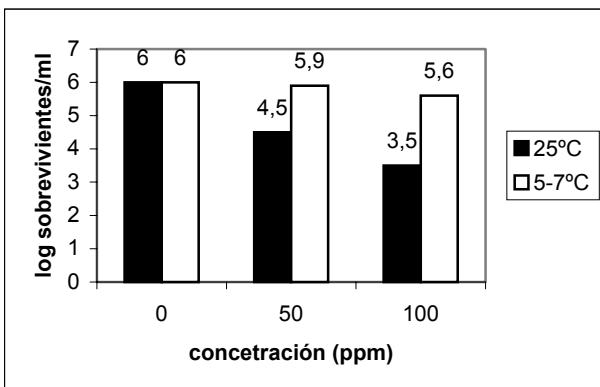


Figura 5 Acción del ácido peracético sobre esporas de *P.italicum* a distintas concentraciones y temperaturas

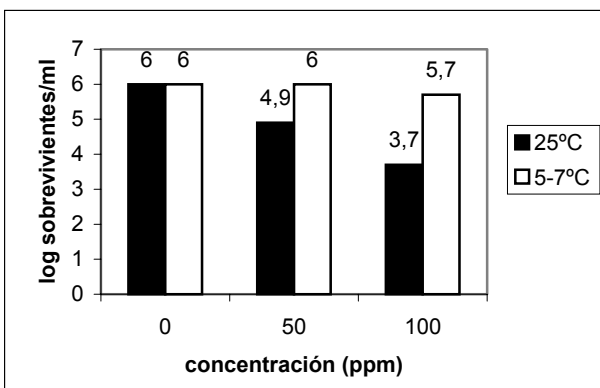


Figura 6 Acción del hipoclorito de sodio sobre esporas de *P.italicum* a distintas concentraciones y temperaturas

Se determinó luego, la actividad de los desinfectantes sobre fruta inoculada superficialmente con *P. italicum* (Figura 7). Para realizar este ensayo, la fruta se contaminó superficialmente con una cantidad determinada de esporas de *Penicillium italicum*. Después de seca, la fruta se sometió a los distintos tratamientos mediante baños con los distintos desinfectantes, incluyendo un tratamiento control en el cual la fruta fue sumergida en agua estéril. Los baños se realizaron en agitador a 70 rpm simulando el movimiento en la línea de packing. Se cuantificó la cantidad de esporas remanente en cada uno de los baños, y se determinó la flora superficial remanente en cada fruta, luego de los tratamientos

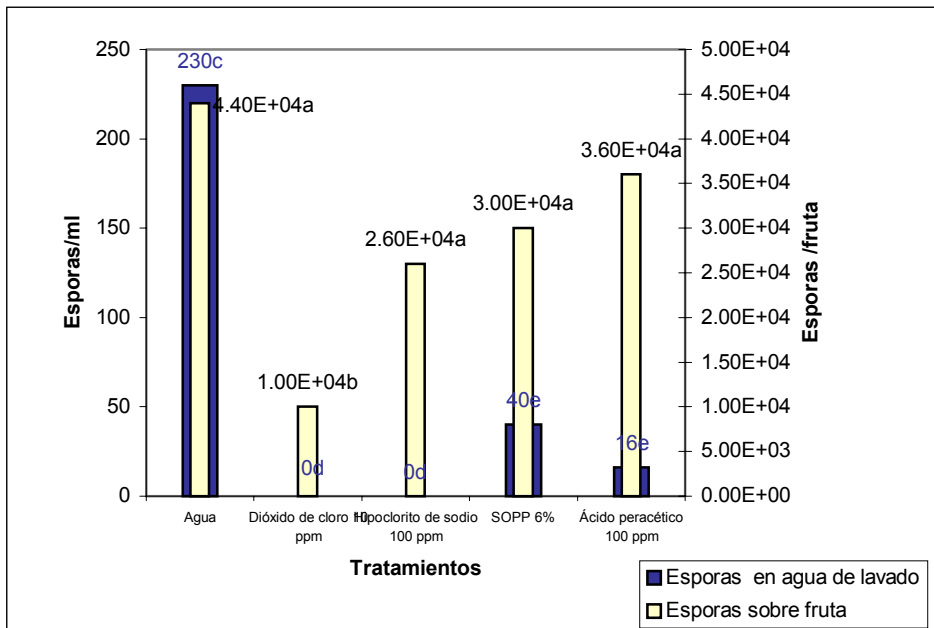


Figura 7 Concentración de esporas en agua de lavado y sobre fruta luego de tratamiento con desinfectantes. Letras diferentes indican tratamientos significativamente diferente con una probabilidad de 95%

La Figura 7 muestra que las esporas removidas mecánicamente de la fruta por acción de la agitación (barras azules), mueren en contacto con los distintos desinfectantes. Se puede apreciar que hay una disminución significativa de las esporas vivas en los baños de los diferentes tratamientos comparados con el tratamiento control (Agua). Sin embargo, un alto porcentaje de esporas continúan vivas y adheridas a la superficie de la fruta (barras amarillas), luego de los baños con diferentes desinfectantes. Solamente se detectó una pequeña, pero significativa reducción de las esporas adheridas a la superficie cuando la fruta fue tratada con dióxido de cloro. Como resultado de este ensayo puede destacarse que todos los desinfectantes presentan actividad fungicida sobre esporas mecánicamente removidas de la superficie de la fruta a la solución de lavado, pero la actividad es baja o nula en lo que respecta a la flora adherida a la fruta. De acuerdo a esto, el primer lavado tendría como resultado una remoción limitada de la flora superficial de la fruta, pero impediría la contaminación cruzada, ya que los microorganismos removidos son eliminados por acción de los desinfectantes.

Mediante estos ensayos se constató que el efecto desinfectante del hipoclorito de sodio es similar al alcanzado por otros desinfectantes tales como el ácido peracético y el dióxido de cloro.

Alternativas al uso de fungicidas de síntesis química.

Biopesticidas

La EPA ha definido como biopesticidas a plaguicidas de origen natural, que incluyen sustancias de origen microbiano, animal, vegetal o mineral. A fines de 2001, había registrados como biopesticidas aproximadamente 195 ingredientes activos y 780 productos. (URL: <http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides>).

Dentro de los ingredientes activos aceptados por la EPA se encuentran por ejemplo, el bicarbonato de sodio (origen mineral), el quitosano (origen animal), aceites esenciales (origen vegetal) y microorganismos biocontroladores como *Pseudomonas syringae* cepa ESC-10.

Las sustancias de origen natural pueden actuar como fungicidas, fungistáticos o como inductores de la resistencia del huésped. Su acción puede por lo tanto ser preventiva o curativa. Los microorganismos biocontroladores, en cambio, han sido útiles solamente en estrategias preventivas.

Sustancias naturales

Dentro de las sustancias naturales utilizadas con éxito en el control de patógenos postcosecha de citrus se pueden mencionar el carbonato y bicarbonato de sodio. Existen varios trabajos que demuestran su utilidad. Palou et al. (2001) demostraron que la inmersión por 150 segundos, en solución de carbonato de sodio al 3% a 50°C, inhibía completamente la aparición de síntomas en heridas de mandarina Clementina inoculadas con *P. digitatum* y *P. italicum*, luego de 7 días a 20°C.

En nuestro laboratorio se han realizado ensayos utilizando soluciones al 3% de bicarbonato de sodio para prevenir la aparición de síntomas en herida inoculadas de naranjas Washington Navel. La inmersión de los frutos durante 3 minutos en dicha solución a temperatura ambiente, demostró un efecto curativo en el 80% de las heridas inoculadas con *P. digitatum* y en el 94 % en el caso de *P. italicum*. Los baños realizados en las mismas condiciones pero 45°C no aumentaron la efectividad del tratamiento.

También se ha logrado un efecto curativo mediante baños con ácido acético al 4%. En este caso se logró una inhibición completa de la aparición de síntomas, sin embargo se observó la aparición de un área marrón en la fruta, alrededor de la heridas, por lo que es necesario realizar nuevos ensayos utilizando menor concentración de ácido acético. La figura 8 muestra el aspecto de fruta inoculada con *Penicillium italicum* y tratada por inmersión con ambos productos, en comparación a un control (fruta inoculada y sumergido en agua) luego del mes de almacenamiento a 5°C. Los resultados fueron muy alentadores e indicaron que ambas sustancias naturales pueden tener efecto curativo sobre heridas cuya contaminación haya sido previa al almacenamiento.

Figura 8



El Gaouth et al. (2002) plantean que la acción inhibidora de ácido acético y otros ácidos orgánicos como por ejemplo el ácido sórbico y benzoico, se deben a la alteración de la permeabilidad de la membrana celular. Con respecto al bicarbonato, Prusky et al. (2004) señalan que su acción se debe a la inhibición de la expresión y secreción de las poligalacturonasas que provocan la maceración de los tejidos del fruto. Los investigadores plantean que la expresión de estas enzimas se ve favorecida a pHs bajos. Demuestran además que *P. digitatum*, *P. italicum* y *P. expansum* producen ácido cítrico y glucónico en el lugar de infección y que la inoculación de heridas con ácido cítrico provoca un aumento de la virulencia de los patógenos por incremento en la secreción dichas enzimas hidrolíticas. Explican además, que los baños con bicarbonato provocarían un aumento de pH en las heridas infectadas, disminuyendo de esa forma la producción de poligalacturonasas.

Otro tipo de sustancias de origen natural actúan en forma preventiva, por inducción de resistencia en el huésped. Un ejemplo de este tipo de sustancias es el quitosano, que es un polímero de β - 1,4- glucosamina. Se encuentra formando parte de la pared de hongos en especial Zygomycetes, y se puede producir por desacetilación de la quitina presente en el exoesqueleto de artrópodos. El quitosano tiene actividad antifúngica y a la vez se ha demostrado que induce la aparición de respuesta de resistencia en fruta cosechada (El Gaouth, 1997). Además forma films de permeabilidad baja al oxígeno por lo cual retarda la maduración de ciertos frutos. Su acción controladora ha sido descrita en varios frutos tales como manzana (Hu y Zou, 1998), papaya (Bautista Baños 2003) y duraznos (Li y Yu, 2000). El Gaouth et al. (2000) mencionan que el uso de quitosano junto con una levadura biocontroladora (*Candida saitoana*) ha sido efectivo en la protección de citrus contra *P. digitatum* y *P. italicum*.

Nuestro grupo ha trabajado con aplicaciones de quitosano en naranjas Washington Navel, estudiando la eficiencia del recubrimiento en el control del desarrollo de síntomas en heridas inoculadas con *P. digitatum* y *P. italicum*. El resultado no fue bueno, lográndose solamente la protección del 40% de heridas inoculadas con *P. digitatum* cuando el quitosano se usó como medida preventiva, o sea cuando se aplicó previo a la entrada del patógeno.

Otro tipo de sustancias naturales con efecto sobre la inducción de respuestas de resistencia es el ácido jasmónico o el metil jasmonato. Ambos son reguladores naturales del crecimiento vegetal, involucrados en varios aspectos en el desarrollo y resistencia de las plantas a stress biótico y abiótico (Tripathi y Dubey, 2004). Droby et al. (1999) demostraron que si frutos de pomelo inoculados artificialmente con *P. digitatum* eran sumergidos en solución de jasmonatos a concentraciones de 10 μ M, la aparición de heridas infectadas era significativamente menor que en los controles. Yao y Tian (2005) demostraron que la incubación (24 horas) en atmósfera con metiljasmonato (200 μ M) de duraznos cosechados producía una reducción en las lesiones producidas por *M. fruticola* en heridas inoculadas. Se demostró, además, un aumento en la producción de enzimas de defensa tales como quitinasas, glucanasas y la fenilalanina amonio liasa (PAL), en los frutos tratados.

Microorganismos antagonistas

La investigación en el uso de microorganismos antagonistas para el control de patógenos en postcosecha es creciente. Varios microorganismos han sido seleccionados, en ensayos de laboratorio, como efectivos agentes de biocontrol del moho verde y azul en citrus, causado por *P. digitatum* y *P. italicum* respectivamente. Es así que en la actualidad se cuenta con información sobre bacterias, levaduras y hongos filamentosos, capaces de controlar este tipo de pudriciones durante el almacenamiento de frutas cítricas a diferentes temperaturas. Dentro de los efectivos antagonistas bacterianos se pueden citar ejemplos de cepas pertenecientes a especies del género *Pseudomonas* (Smilanick et al., 1992; Huang et al., 1995; Bull et al. 1997) y una cepa de *Pantoea agglomerans* (CPA-2) que está siendo actualmente estudiada por varios países de la Comunidad europea como un efectivo agente biocontrolador de enfermedades postcosecha en citrus y manzana y cuyo uso como agente de control biológico ha sido patentado en España en 1999 (Costa et al., 2001).

Existe también mucha información sobre la acción biocontroladora de levaduras en postcosecha de frutas. Como ejemplos se pueden citar cepas de *Candida saitoana* (El-Gaouth et al., 2000); cepas de *Debaryomyces hansenii* (Chalutz y Wilson, 1990), de *Cryptococcus laurentii* y *Rhodotorula glutinis* (Lima et al., 1998).

En la actualidad existen por lo menos cuatro productos comerciales cuyo principio activo es un microorganismo antagonista para su uso como biocontrolador de enfermedades postcosecha de frutas. Ellos son Aspire (Ecogen Inc., Langhorn, USA), basado en una cepa de *Candida oleophila*, YieldPlus (Anchor Yeast, Cape Town, South Africa), basado en una cepa de *Cryptococcus albidus*, y Bio-Save 100 y Biosave-111 (EcoScience, Orlando, Florida, USA) basados en diferentes cepas bacterianas pertenecientes a la especie *Pseudomonas syringae* (El Gaouht et al., 2002)

Es importante destacar, que en todos los casos la protección de frutos se da solamente en estrategias preventivas y no curativas.

En nuestro laboratorio se han seleccionado cepas autóctonas de levaduras, capaces de controlar la aparición de síntomas en heridas de naranja inoculadas con cepas de *P. italicum* y *P. digitatum*, especialmente seleccionadas por su agresividad. La protección se ha confirmado temperatura ambiente y durante más de un mes de almacenamiento a 5°C. La Figura 9 muestra la incidencia de aparición de síntomas en heridas protegidas con las cepas antagonistas (PL1 y PL9) y en heridas control inoculadas con *P. italicum* y *P. digitatum*,

luego de un es de almacenamiento a 5°C. En la Figura 9 se puede apreciar una naranja utilizada en ese ensayo. La herida señalada con el número 1 es la herida control, inoculada solamente con el patógeno, La herida que está a su lado es una herida protegida por la acción del antagonista. Las cepas biocontroladoras fueron aisladas de la superficie de limones sanos que habían estado almacenados en frío por más de un mes. Fueron identificados fenotípica y genotípicamente como pertenecientes a las especies *Cystofilobasidium infirmominiatum* y *Leucosporidium scotii*. No se conocen cepas de estas especies descritas como patógenos humanos, pero además las cepas seleccionadas son incapaces de reproducirse a temperaturas mayores de 30°C por lo cual es improbable que puedan llegar a colonizar animales de sangre caliente.

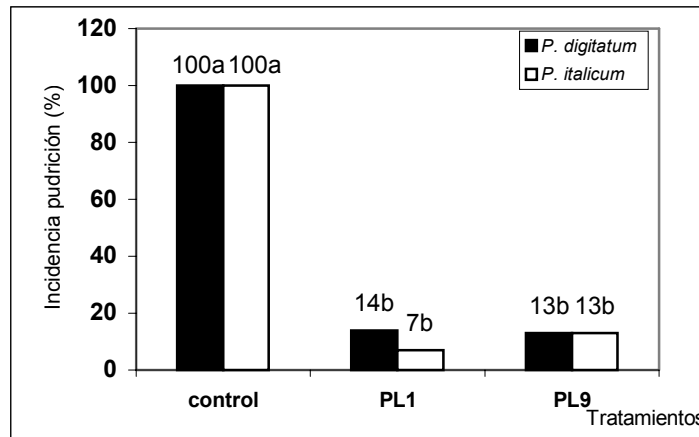


Figura 9 Incidencia de pudrición en presencia y ausencia (control) de levaduras de biocontrol. Letras diferentes indican tratamientos significativamente diferentes con una probabilidad mayor o igual al 95%

Mecanismos de acción

Los microorganismos antagonistas pueden ejercer su control sobre el patógeno por varios mecanismos de acción, interactuando con el huésped o directamente con el patógeno. En la mayoría de los casos la protección dada por un antagonista involucra más de un mecanismo. Por otra parte es deseable que así ocurra para disminuir los riesgos de aparición de cepas resistentes. Baker (1991) define varios mecanismos posibles de acción para los antagonistas de uso en postcosecha, entre los que se encuentran la producción de antibióticos, la competencia por nutrientes o espacio, el parasitismo y la inducción de resistencia del huésped. Siempre es preferible que la protección dada por los antagonistas en especial en la etapa de postcosecha no involucre la producción de sustancias antibióticas. En general se demuestra que los antagonistas colonizan efectivamente el sitio de infección siempre que se instalen previamente o en conjunto con el patógeno, compitiendo con el mismo por las fuentes de nutrientes limitantes (la fuente de nitrógeno en general) y el espacio. En algunos casos la presencia del patógeno en el sitio de infección, induce a la que el antagonista produzca enzimas capaces de degradar las paredes del patógeno, tales

como quitinasas o glucanasas. Otras veces la sola presencia del antagonistas provoca el desencadenamiento de reacciones de defensa de forma de preparar al fruto contra un ataque posterior del patógeno. Droby y Wilson (1991) demostraron que la inoculación de heridas de pomelo con levaduras antagonistas, inducía la producción de etileno, la activación de las enzimas fenilalanina amonio liasa y peroxidasa. A su vez, Fajardo *et al.* (1998) estudiaron la aplicación de Aspire, producto comercial de biocontrol, cuya base es una cepa de *Candida oleophila*, en el flavedo de naranjas. Demostraron que los niveles de fitoalexinas, quitinasas, glucanasas y peroxidasa aumentaban significativamente cuando se inoculaba el producto en el flavedo de los frutos.

En el caso de las levaduras antagonistas seleccionadas por nuestro grupo de trabajo, se ha demostrado que no son capaces de producir sustancias antibióticas, ni enzimas capaces de hidrolizar las paredes de los patógenos. Tampoco se logró demostrar la inducción de respuestas de defensa en la fruta por su aplicación. Sin embargo son capaces de colonizar efectivamente las heridas de naranja, compitiendo con los patógenos por espacio y nutrientes en el sitio de infección.

La eficiencia a nivel comercial de los microorganismos biocontroladores depende en gran medida de la formulación del producto. Se ha demostrado que estos microorganismos funcionan inhibiendo el desarrollo del patógeno cuando se inoculan artificialmente en las heridas. Sin embargo cuando se aplican mediante baños o aspersion la llegada de los biocontroladores a las heridas naturales no ocurre en el 100% de los casos, disminuyendo la eficiencia del tratamiento. Por lo tanto se debe recurrir en las formulaciones, al uso de coadyuvantes que faciliten la entrada de los microorganismos antagonistas en el sitio de acción.

Estrategias integradas

La aplicación de microorganismos biocontroladores en postcosecha sólo ha tenido resultados preventivos, por lo cual el control de los patógenos postcosecha no puede basarse solamente en la aplicación de estos microorganismos. Se plantea entonces el uso de los mismos dentro de esquemas de manejo que integren su uso con prácticas apropiadas, tales como métodos de recolección y manejo de fruta que minimicen la contaminación y aparición de heridas, métodos de desinfección superficial que impidan la contaminación cruzada de la fruta en la línea de empaqueo y el uso de sustancias naturales que potencien la acción de los microorganismos antagonistas y tengan acción curativa sobre infecciones ya establecidas.

Un ejemplo de estrategias integradas en el control de *P. digitatum* en citrus es el trabajo de Obagwu y Korsen (2003). Estos investigadores lograron un 100% de protección en heridas inoculadas con *P. digitatum*, combinando el uso de baños con bicarbonato (1%) con una bacteria antagonista (*Bacillus subtilis* cepa F1), o realizando un tratamiento secuencial de inmersión en agua caliente (45°C por 2 minutos) seguido por baño con la suspensión del antagonista. Los tratamientos combinados fueron significativamente más efectivos que cada tratamiento por separado. A su vez, El Gaouth (2000) potenció la acción de la levadura biocontroladora *Candida saitoana* con el uso de glicolquitosano, logrando un control de *P. digitatum* en naranjas y limones similar al alcanzado con el fungicida imazalil.

De acuerdo a los resultados de nuestros trabajos podríamos plantear un esquema alternativo de manejo en la línea de empaqueo para frutas cítricas, que integra el uso de microorganismos antagonistas y sustancias de origen natural, con desinfectantes

alternativos al hipoclorito de sodio. El siguiente esquema ilustra un posible manejo alternativo.

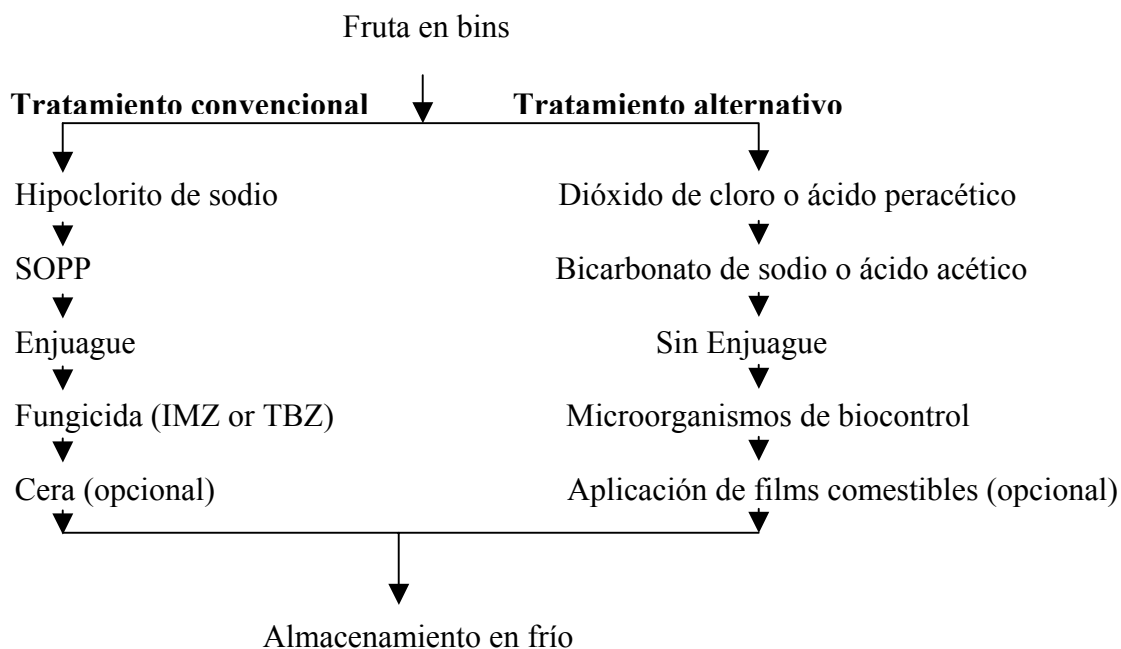


Figura 10 Tratamiento convencional y alternativo postcosecha de citrus

Este esquema no implica modificaciones en las líneas de empaque tradicionales y podría ser un punto de partida para encontrar soluciones a los problemas planteados al tratamiento convencional.

BIBLIOGRAFÍA

Baker, R., 1991. Diversity in biological control. *Crop Protection* **10**:85-94.

Bautista Baños, S.; Hernández, M.; Bosquez, E. ; Wilson, C. 2003. effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloesporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. *Crop Protection* **22**:1087-1092

Brent, K.J. 1998. Fungicide Resistance, the assessment of risk. Fungicide Resistance Action Comitee monography. <http://www.frac.info/publications.html>

Bull, C. T., Wadsworth, M.L., Sorensen, K.N., Takemoto, J.Y, Austun,R. K., and Smilanick, J. L. 1998 Syringoycin E produced by biological control agents controls green mold an lemons. *Biological Control* **12**: 89-95.

Chalutz and Wilson 1990. Postharvest Biological control of *Penicillium* rots of citrus with antagonistic yeasts and bacteria. *Sci. Hortic.* **40**:105-112.

Costa, E.; Teixidó, N.; Usall, J.; Atares, E.; Viñas, I. 2001. Production of the biocontrol agent *Pantoea agglomerans* strain CPA-2 using commercial products and by-products. *Applied Microbiology Biotechnology* **56**: 367-371

Droby, S. Chalutz, E. y Wilson, L. 1991. Antagonistic microorganisms as biological control agents of postharvest diseases of fruits and vegetables. *Postharvest News Information* **2**:169-173.

El Ghouh, A.; Smilanick, J.; Wilson, C. 2000. Enhancement of the performance of *Candida saitoana* by the addition of glycolchitosan for the control of postharvest decay on apple and citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology* **19**: 103-110

El Ghouh, A.; Wilson, C.; Wisniewski, M.; Droby, S.; Smilanick, J.; Korsten, L. 2002. Biological control of postharvest diseases of citrus fruit. In: *Biological Control of Crop diseases* Gnanamanickam, S. (Ed) Marcel Dekker, Inc. NY.

Fajardo, J.E., McCallum, T.G., McDonald, P.E. and Mayer, R.T. 1998. Differential induction of proteins in orange peel by biologically based elicitors and challenged by *Penicillium digitatum* sacc. *Biological Control* **13**: 143-151.

Hu, L. y Zou, D. 1998. Effect of chitosan on storage of apple. *Common Plant Physiology* **34**: 17-19

Li, H. y Yu, T. 2000. Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *Journal of Science Food Agriculture* **81**: 269-274

Lima, G.; De Curtis, F.; Castoria, R.; de Cicco, V. 1998. Activity of two yeast *Cryptococcus laurentii* and *Rhodotorula glutinis* against postharvest rots on different fruits. *Biocontrol Science Technology* **8**:257-267.

MGAP-DGSA. 2005. Productos fitosanitarios. <http://chasque.apc.org/dgsa/profit/profit.htm>

Obagwu, J. & Korsten, L. 2003. Integrated control of citrus green and blue mold using *Bacillus subtilis* in combination with sodium bicarbonate and hot water. *Postharvest Biology and Technology* **28**:187-194

Palou, L.; Usall, J.; Muñoz, J.; Smilanick, J.; Viñas, I. 2002. Hot water, sodium bicarbonate and sodium carbonate for the control of green and blue mold of clementine mandarins. *Postharvest Biology and Technology* **24**:93-96

Prusky, D.; McEvoy, J.; Saftner, R.; Conway, W.; Jones, R. 2004. Relationship between host acidification and virulence of *Penicillium* sp. on apple and citrus fruit. *Phytopathology* **94**:44-51

Smilanick, J.L. Denis-Arrue, R. 1992. Control of green mold of lemons with *Pseudomonas* species. *Plant Disease*. **76**:481-485.

Tripathi, P. y Dubey, N. 2004. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*. **32**: 235-245.

Yao, H.J. y Tian, S.P. 2005. Effects of a biocontrol agent and methyl jasmonate on postharvest diseases of peach fruit and the possible mechanisms involved. *Journal of Applied Microbiology*. **98**:941-950

