

Control de enfermedades de poscosecha

Catarina P. Pássaro Carvalho*

Carla Nunes**

Lluís Palou***

Resumen

Las enfermedades de poscosecha pueden representar hasta pérdidas económicas del 80% en el sector cítrico. Estas pérdidas son muy variables y dependen de múltiples factores: zona de producción, especie y cultivar, edad y condición de los árboles, condiciones climatológicas durante toda la campaña, época y forma de recolección, manejo de los frutos en poscosecha, condiciones de almacenamiento y mercado de destino.

Los tratamientos más comunes para el control de estas enfermedades son los fungicidas sintéticos. Sin embargo, la aplicación masiva y continuada durante años de materias activas similares (tiabendazol, imazalil, entre otros.) ha generado graves preocupaciones a los consumidores y a las entidades gubernamentales debidas, entre otros motivos, a la contaminación generada por un exceso de residuos químicos y a la proliferación de cepas patogénicas resistentes. Además, hay un marcado cambio de tendencia en la comercialización de productos hortofrutícolas hacia los mercados de productos ecológicos u orgánicos y, al mismo tiempo, los mercados 'tradicionales' están exigiendo el cumplimiento de criterios propios más restrictivos que los límites máximos de residuos (LMR) establecidos por la legislación. Todo ello ha conducido a la búsqueda de alternativas a los agroquímicos para el control de las enfermedades de poscosecha.

* Ing. Agrónoma. Ph.D. en Ing. de Alimentos. C.I. La Selva, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (COROPOICA), km 7 vía Las Palmas, Vereda Llanogrande, Rionegro, Antioquia, Colombia.

** Ing. Hortofrutícola. Ph.D. en Agronomía. Universidade do Algarve. Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas (ICAM). FCT, Ed. 8, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal.

*** Ph.D. en Ing. Agrónoma Centro de Tecnología Poscosecha, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Apartado Oficial, 46113 Moncada, Valencia, España.

Correspondencia:
Catarina Pedro Pássaro
Carvalho
cpassaro@gmail.com

En este capítulo se aborda el control mediante estrategias de CINCEP (control integrado no contaminante de enfermedades de poscosecha), que se basan en el conocimiento profundo de la epidemiología de los patógenos y de los factores que determinan su incidencia en precosecha, cosecha y poscosecha para incidir de forma global sobre el problema actuando sobre cada uno de estos factores en el momento adecuado para minimizar las pérdidas económicas. En general, es importante cosechar con el índice de madurez adecuado, siempre con tiempo seco y de forma extremadamente cuidadosa para minimizar heridas en la piel y otros daños físicos. En poscosecha se requieren tratamientos o combinaciones de tratamientos alternativos que, según su naturaleza, pueden ser físicos, químicos de baja toxicidad y biológicos.

Entre los tratamientos físicos se destacan el calor (curado, agua caliente), las irradiaciones (luz UV-C) o los choques gaseosos. Los principales tratamientos químicos alternativos se basan en la aplicación de sustancias naturales (extractos de plantas, aceites esenciales), aditivos alimentarios o recubrimientos comestibles antifúngicos. El control biológico consiste en la aplicación controlada de microorganismos antagónicos a los patógenos.

Palabras clave: cítricos, enfermedades, agentes patógenos, tratamiento.

Postharvest diseases control

Abstract

Postharvest diseases can represent up to 80% of the economic losses in the citrus' sector. These losses can vary a lot, and depend on several factors: The zone of the production, the species and the cultivar, age and condition of the trees, weather conditions during the whole campaign, time and way of the recollection, handling of the products during the postharvest, storage conditions and final market.

The most common treatments for the control of those diseases are the synthetic fungicides, but their massive and continuous application of similar active matters (thiabendazole, imazalil, among others) has generated grave concerns to consumers and to the government authorities due to, among other reasons, contamination generated by an excess of chemical waste and the proliferation of resistant pathogenic strains. Besides, there is a strong shift in the trends for the commercialization of horticultural and fruit products to the ecologic or organic markets and, at the same time, "traditional" markets are demanding the fulfillment of more restrictive criteria which go beyond the maximum waste limits established by law. All of these facts have contributed to the

search for alternatives to replace agro chemical products for the control of postharvest diseases.

In this chapter, CINCEP's (Spanish acronym for not-contaminant postharvest diseases integrated control) control strategies is approached. Those strategies are based on the profound knowledge of the pathogen's epidemiology and on the factors that determine their incidence before, during and after the harvest, in order to globally impact the problem, acting on each one of the factors mentioned at the appropriate moment to minimize economic losses. In general, it is important to harvest with the adequate maturity index, always under a dry weather and with a strict care to minimize skin wounds and other physical damages. During postharvest, treatments or mixtures of alternative treatments of a physical, chemical -with a low toxicity level- and biological order, are required.

Among the physical treatments, some can be remarked: Heat (curing, hot water), irradiations (UV-C light) or gas shocks. The main alternative chemical treatments are based on the application of natural substances (extracts of plants, essential oils) alimentary additives or edible anti-fungal covers. The biological control consists on the controlled application of micro organisms that have an antagonistic role against pathogens.

Key words: citrus, diseases, agents pathogens, treatment.

Introducción

Las enfermedades de poscosecha, es decir, aquellas que afectan a los frutos desde que son recolectados hasta que llegan al consumidor, provocan pérdidas económicas importantes a nuestro sector cítrico. La tendencia actual es restringir el nombre de enfermedades a las que son de origen parasitario, producidas por un organismo vivo, y designar como alteraciones o desórdenes a los problemas de origen abiótico o fisiológico. En poscosecha de cítricos, la gran mayoría de los agentes patógenos causantes de enfermedades son hongos filamentosos y la sintomatología que producen en los frutos son las podredumbres, término que se utiliza para nombrar las propias enfermedades.

Las pérdidas provocadas por las enfermedades son muy variables y dependen del área productora, la especie y el cultivar, la edad y condición de los árboles, las condiciones climatológicas durante toda la campaña, la época y forma de recolec-

ción, el manejo de los frutos en poscosecha, las condiciones de almacenamiento y el mercado de destino. En el ámbito mundial destacan las pérdidas producidas por patógenos de herida estrictos como *Penicillium digitatum* Sacc. o *Penicillium italicum* Wehmer, causantes, respectivamente, de las podredumbres verde y azul (**figura 1**). La incidencia de estas podredumbres es general y elevada (normalmente más del 80% del total de pérdidas por podridos) y, por tanto, constituyen el eje básico de cualquier estrategia de control de enfermedades de poscosecha de cítricos. La infección del fruto tiene lugar a través de heridas o microheridas producidas en la corteza antes, durante o después de la recolección. Otra podredumbre de herida que ocasionalmente puede ser importante es la ácida, causada por *Geotrichum citri-aurantii* E. E. Butler. Otras podredumbres de poscosecha son las causadas por patógenos que infectan el fruto en precosecha pero que, por causas diversas, permanecen latentes o inactivos, hasta después de la recolección. Este es el caso de la podredumbre negra (causada por *Alternaria* spp.), la gris (*Botrytis cinerea* Pers.:Fr.), la marrón (*Phytophthora citrophthora* Leonian), las pedunculares (*Diplodia natalensis* P. Evans y *Phomopsis citri* Fawcett), la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Sacc.) u otras, cuya incidencia es menor y únicamente pueden resultar importantes en campañas, zonas o condiciones concretas.

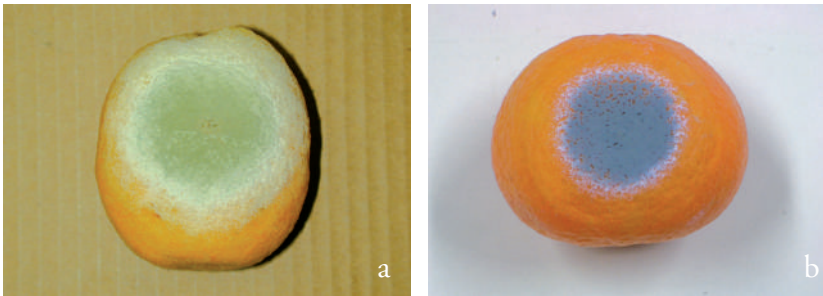


Figura 1. Podredumbre verde causada por *Penicillium digitatum* en naranja (a) y podredumbre azul causada por *Penicillium italicum* en mandarina (b).

Tratamientos fungicidas

El control de enfermedades de poscosecha se hace mayoritariamente mediante tratamientos en las centrales citrícolas con fungicidas químicos de síntesis. Son tratamientos relativamente económicos, fáciles de aplicar, persistentes, típicamente con acción curativa frente a infecciones fúngicas establecidas, y preventiva frente a posibles infecciones posteriores a la aplicación. Además, muchos presentan también actividad antiesporulante.

Son muchos los fungicidas usados comercialmente en distintas zonas cítricas del mundo, aunque el uso en poscosecha de algunos de ellos como el benomilo o el difenilo ha sido cancelado. Por el contrario, nuevos productos están siendo evaluados y registrados. Entre los fungicidas más utilizados en poscosecha de cítricos se encuentran el imazalil (IMZ), el tiabendazol (TBZ), el ortofenilfenato sódico (SOPP), todos ellos con una eficacia media o alta contra *Penicillium* spp., la guazatina, eficaz contra *G. citri-aurantii*, y el fosetil-Al, eficaz contra *P. citrophthora*. Entre los productos registrados recientemente en algunas áreas productoras para el uso en poscosecha de cítricos destacan el pirimetanil, el miclobutanil, el metil-tiofanato, el fludioxonil, el azoxistrobin y el trifloxistrobin².

Estos agroquímicos pueden ser aplicados de varias formas en distintas fases del manejo poscosecha de los frutos: en solución acuosa en dréncher o en la línea de confección (balsa o espray), en el lavado con detergente o mezclados con ceras en la línea de confección (**figura 2**), o también en forma gaseosa como fumígenos en las cámaras frigoríficas o de desverdización. En general, son más efectivos en agua que en ceras, por lo que para lograr los mismos resultados su concentración debe ser más alta en las ceras³. Para el control de patógenos de herida, como *Penicillium* spp., es importante una aplicación rápida del fungicida (máximo 24 horas después de la cosecha) de forma que pueda actuar antes del establecimiento del patógeno⁴. Para obtener un mayor espectro de acción en algunos casos se recomienda la combinación de varias materias activas, tanto en solución acuosa como en cera. Existen ya formulaciones comerciales de mezclas disponibles.

Existen protocolos distintos para el tratamiento fungicida en cada zona productora de cítricos en función de los principales patógenos causantes de daño y de condiciones particulares tanto en precosecha como en poscosecha. Así, por ejemplo, en Florida se ha alcanzado un control satisfactorio con la aplicación de TBZ o IMZ con posterioridad a la de SOPP¹. En California, la aplicación de una mezcla de TBZ, carbonato de sodio y cloro a alta temperatura, en dréncher antes de la desverdización de los frutos controló satisfactoriamente el podrido después de la desverdización⁵. En España y Australia⁶ es común el tratamiento conjunto con guazatina y con IMZ para el control simultáneo de las podredumbres ácida, verde y azul. La guazatina, no obstante, no podrá utilizarse en Europa a partir del año 2012. En Australia, además, estos fungicidas se aplican en la línea de manipulación, seguidos de un encerado que contiene 2,4-D (500 ppm), un tratamiento tampoco permitido en Europa.



Figura 2. Aplicación de fungicida mezclado con cera en una línea de confección de cítricos.

Respecto a los tratamientos desinfectantes, Martínez-Jávega y Cuquerella⁷ recomiendan en España utilizar un 0,3% de SOPP en maquinaria, un 0,1% de amonio cuaternario en pisos y paredes, y un 0,5% de sosa en envases. Para la desinfección de cámaras o de la totalidad de la central hortofrutícola puede utilizarse formaldehído (35%) a dosis de 10 cc/m³. En Colombia, no se han realizado evaluaciones a este respecto. Algunas empresas usan cera con IMZ al 0,2% (p/p).

La aplicación masiva y continuada durante años de materias activas como TBZ, IMZ, SOPP o distintas mezclas ha generado preocupación en la opinión pública por la generación de un exceso de residuos químicos y también problemas a la industria como el tratamiento de caldos residuales o la proliferación de cepas patogénicas resistentes, especialmente del género *Penicillium*, que reduce o anula la eficacia de los tratamientos^{8,9}.

Se observa, además, un marcado cambio de tendencia en la comercialización de cítricos y de productos hortofrutícolas en general con dos consecuen-

cias importantes: por un lado, aumenta considerablemente el volumen de los mercados de producto ecológico, orgánico o ‘verde’, en los que se exige no solo la ausencia total de residuos químicos en el producto final sino también la prohibición de su uso durante todo el ciclo de producción; por otro lado, y lo que es muy grave para el sector productor, importantes mercados ‘tradicionales’, especialmente supermercados o cadenas alimentarias, están exigiendo el cumplimiento de criterios propios más restrictivos que los límites máximos de residuos (LMR) establecidos por la legislación. Se trata de limitaciones no reguladas que suponen una privatización de las políticas de seguridad alimentaria, que causa gran confusión e inconveniente a los productores.

Otro cuestionamiento importante que enfrentan actualmente los fungicidas convencionales o de síntesis es la duración y el coste del proceso de desarrollo y, en su caso, registro de nuevas materias activas. Todo ello ha conducido a la búsqueda de alternativas a los agroquímicos para el control de las enfermedades de poscosecha.

Tratamientos alternativos. CINCEP

En los últimos años, se han dedicado importantes esfuerzos a la evaluación de tratamientos antifúngicos de poscosecha no contaminantes alternativos a los fungicidas químicos. Según su naturaleza, estos tratamientos pueden ser físicos, químicos o biológicos¹⁰. Siendo no contaminantes, son también poco tóxicos por lo cual su efectividad y persistencia son en general variables y limitadas, cosa que dificulta su implementación comercial.

Debido a estas limitaciones, se ha estudiado también la combinación de distintos tratamientos alternativos, pero en general tampoco se igualan los resultados obtenidos con los fungicidas químicos convencionales. Por tanto, para un control adecuado de las enfermedades, la aplicación de tratamientos antifúngicos alternativos debe encuadrarse en una estrategia más amplia de control que puede denominarse ‘Control integrado no contaminante de enfermedades de poscosecha’ (CINCEP), que se basa en un conocimiento profundo de la epidemiología de los patógenos y de los factores que determinan su incidencia en precosecha, cosecha y poscosecha para incidir de forma global sobre el problema actuando sobre cada uno de estos factores en el momento adecuado para minimizar las pérdidas económicas².

Este concepto implica prestar toda la atención, además de los tratamientos de poscosecha, a los factores de precosecha (cultivar, condiciones climatológi-

cas y de parcela, manejo en campo, ...), cosecha (momento y modo) y poscosecha (higienización de centrales, diseño de instalaciones, manejo en las líneas de confección, condiciones de conservación y comercialización, mercado de destino, ...) determinantes en cada caso particular de la cantidad, calidad y diseminación del inóculo fúngico, de las vías de infección, de la resistencia de los frutos a la infección y de las condiciones de desarrollo de la podredumbre. En general, es importante cosechar con el índice de madurez adecuado, siempre con tiempo seco y de forma extremadamente cuidadosa para minimizar heridas en la piel y otros daños físicos. Para ello y también para un manejo adecuado en poscosecha se necesita contar con un equipo humano concienciado y bien entrenado.

Otras actuaciones en el marco del CINCEP requieren dedicar esfuerzos a múltiples frentes de investigación. Por ejemplo, una ventaja indiscutible para la aplicación del CINCEP sería la posibilidad de discriminar en las centrales cítricas las partidas de fruta que llegan en función de su probabilidad de pudrirse, de forma que el manejo en poscosecha y/o el destino de la producción puedan decidirse y planificarse en cada caso de la forma más conveniente. En este sentido sería de interés el desarrollo de modelos predictivos que establecieran la influencia de factores climáticos, de parcela o de manejo en las poblaciones ambientales y epifitas de patógenos importantes presentes en campos de cítricos. También sería muy interesante el desarrollo de sistemas automáticos y rápidos para la detección precoz y eliminación de frutos infectados por hongos en las líneas de confección de cítricos. No obstante, la principal línea de investigación se centra en la búsqueda y evaluación de nuevos métodos no contaminantes para el tratamiento antifúngico de poscosecha.

Métodos físicos

Los tratamientos físicos son deseables porque no generan ningún tipo de residuo en los productos tratados ni en el ambiente. La conservación a temperaturas bajas (3-5°C para naranjas y mandarinas y 10-14°C para limas, limones y pomelos, siempre con un 90-98% HR) es un sistema físico complementario a otros tratamientos antifúngicos. El almacenamiento en estas condiciones no ejerce por sí mismo una actividad fungicida pero sí una acción fungistática de inhibición o retraso del crecimiento de los patógenos. Por otro lado, ralentiza la actividad metabólica del fruto y retrasa su entrada en senescencia, ayudando así a mantener la resistencia natural del fruto a la infección. Otros tratamientos físicos complementarios que se han ensayado, pero que raramente se han implementado comercialmente, son la conservación frigo-

rífica en atmósferas controladas convencionales (5-10% O₂ + 0-10% CO₂), hipobáricas (75 a 175 mm Hg) o de monóxido de carbono (5-10% CO)¹¹.

Los principales tratamientos físicos antifúngicos se basan en la aplicación de calor, ya sea mediante aire o agua calientes¹². Los tratamientos más convencionales de curado en cítricos consisten en la exposición de los frutos a temperaturas superiores a 30°C y HR superiores al 90% durante 1-3 días. Nunes et al.¹³ verificaron que el curado a 40°C durante 18 horas permitió reducción total de la podredumbre verde y azul en naranjas 'Valencia' de diferentes orígenes y conservadas a 5°C durante 5 días seguidas de 20°C durante 7 días. En otro estudio observaron que este curado no afectaba negativamente la calidad de las naranjas¹⁴.

El curado es un tratamiento muy efectivo contra *Penicillium*, pero a escala comercial resulta poco práctico, caro y puede tener efectos adversos en la calidad. La inmersión en agua caliente es un método mucho más sencillo y práctico que puede dar buenos resultados, especialmente en combinación con otros tratamientos de distinta naturaleza. Por ejemplo, el calentamiento de soluciones acuosas de productos químicos antifúngicos aumenta significativamente su efectividad y permite disminuir sensiblemente las dosis de aplicación. Con agua sola normalmente se utilizan baños de 1-3 min a temperaturas de 45-50°C, pero hay que tener en cuenta que el margen existente entre las temperaturas efectivas y fitotóxicas es muy estrecho (**figura 3**). En general, temperaturas superiores a 53°C resultan ser fitotóxicas. Otro sistema de aplicación de calor son los equipos de cepillado con agua caliente ('hot water brushing', HWB) en los que la fruta pasa durante 10-30 s sobre cepillos en rotación y recibe una ducha de agua calentada a 55-65°C¹⁵.



Figura 3. Fitotoxicidad en mandarina cv. Clemenules por exceso de calor. Daños severos en la corteza producidos por una inmersión de 150 s en agua a 65°C.

Las irradiaciones son tratamientos físicos consistentes en tratar los frutos cítricos con radiación de energía superior (longitud de onda inferior) a la de la luz visible. La luz ultravioleta lejana (UV-C, longitud de onda de 100 a 280 nm) aplicada a dosis bajas (0,5 a 8,0 kJ/m²) puede reducir la incidencia de podredumbres, aunque la efectividad es limitada y existe el riesgo de que se produzcan fitotoxicidades en función de la dosis, el tipo de fruto y su estado de madurez¹⁶. Es una tecnología que puede integrarse en la línea de confección. Mucho más cara y compleja es la aplicación de radiaciones ionizantes (longitud de onda inferior a 100 nm) ya sea a partir de fuentes radioactivas (rayos gamma) o físicas (rayos X, rayos beta o electrones acelerados). En general, el uso de estas tecnologías no se ha generalizado como método de control de enfermedades porque en las dosis no fitotóxicas (inferiores a 1 kGy) su poder de penetración en el fruto y su efectividad son limitadas y los beneficios no compensan el coste de las instalaciones especiales que se requieren¹⁷. Por contra, sí resultan adecuadas para la desinfección superficial y la desinsectación de cítricos y otros frutos sometidos a exigencias cuarentenarias, por lo que la legislación de EE. UU. ha autorizado su uso y existen plantas en funcionamiento en zonas como Hawai.

Los efectos tanto del calor como de las irradiaciones sobre las enfermedades de poscosecha pueden ser directos o indirectos. Los primeros se refieren al efecto del tratamiento sobre el propio patógeno (esporas o micelio en crecimiento) y los segundos a la inducción en el fruto huésped de mecanismos de resistencia a la infección¹⁷. Los tratamientos pueden aumentar los niveles de compuestos antifúngicos preformados presentes en la piel de los cítricos, como el citral, algunas flavanonas y polimetoxiflavonas, o proteínas antifúngicas como la quitinasa o la b-1,3-glucanasa. Estas sustancias están presentes de forma natural en frutos inmaduros que se muestran resistentes a enfermedades, pero sus niveles disminuyen considerablemente después de la cosecha y durante el almacenamiento. Los tratamientos físicos también pueden inducir la biosíntesis en el flavedo de fitoalexinas, compuestos antifúngicos no constituyentes entre los que destacan la escoparona y la escopoletina^{18, 19}. Por otro lado, el calor puede catalizar la biosíntesis en heridas de la piel de ligninas y materiales análogos que actúan como una barrera física a la penetración de las hifas del hongo. Además, el curado, pero especialmente el agua caliente, puede llegar a fundir las ceras epicuticulares del flavedo y taponar así microheridas y vías de entrada de los patógenos¹².

La conservación frigorífica de frutos cítricos en atmósferas ozonizadas ha suscitado un gran interés comercial en los últimos años. Tras exhaustivas in-

investigaciones realizadas en California y España^{20, 21} puede concluirse que la aplicación de ozono gaseoso, aunque retrasa el desarrollo de las podredumbres, no reduce su incidencia, por lo que en ningún caso puede considerarse un sustituto de los fungicidas aplicados en dréncher o en la línea de confección. No obstante, la ozonización continua o intermitente del ambiente de las cámaras a concentraciones bajas no resulta fitotóxica e inhibe de forma importante el crecimiento aéreo de micelio y la esporulación de *Penicillium* spp., en frutos conservados en frío (**figura 4**); así se puede reducir la carga de inóculo fúngico presente en los almacenes y evitar la proliferación de cepas patogénicas resistentes a los fungicidas. Sin embargo, este efecto es solamente transitorio y los patógenos reanudan su crecimiento aéreo y esporulan cuando el ozono deja de estar presente en el ambiente. Además, el gas no puede traspasar ni plásticos ni cartones por lo que este efecto únicamente se consigue cuando los frutos están almacenados en envases de gran superficie abierta. Debido a su elevado poder oxidante, el ozono puede resultar dañino para el ser humano, fitotóxico para los frutos y corrosivo para muchos materiales. Por ello es muy importante que, en el caso de que se instale un sistema de generación de ozono en una central citrícola, se controle en todo momento la concentración de gas generado y se adopten medidas de seguridad como alarmas y sistemas de paro y ventilación automatizados para garantizar la seguridad de los operarios y del producto.



Figura 4. Esporulación de *Penicillium digitatum* en naranjas conservadas a 5°C durante 1 mes en una atmósfera de aire (derecha) o en una atmósfera ozonizada con 0,3 ppm de ozono (izquierda).

Recientemente se ha ensayado la aplicación de choques gaseosos (24-48 horas) de CO₂ y O₂ a alta temperatura (33°C) como sistema para reducir la duración de los tratamientos de curado, efectivos contra las podredumbres verde y azul, pero poco prácticos a escala comercial²². Concentraciones de 15 kPa CO₂ o 30 kPa O₂ resultaron efectivas en naranjas y mandarinas inoculadas artificialmente con *P. digitatum* y *P. italicum* e incubadas a 20°C durante 7 días, pero los tratamientos no fueron persistentes.

Otro tratamiento gaseoso ensayado recientemente es la fumigación de cítricos con amoníaco²³. La aplicación de 3.000 ppm de amoníaco a 22°C durante 6 horas controló satisfactoriamente la podredumbre verde en naranjas y limones. Además, este sistema de control se mostró sinérgico con la aplicación de IMZ a dosis muy bajas.

Métodos químicos de baja toxicidad

Los productos químicos alternativos a los fungicidas de síntesis convencionales deben ser sustancias, naturales o de síntesis, con efectos residuales sobre el medioambiente y toxicológicos sobre personas y animales, conocidos y muy bajos. Por este motivo se evalúan principalmente sustancias presentes de forma natural en plantas, animales o microorganismos o, en el caso de productos sintetizados artificialmente, aditivos alimentarios permitidos sin restricciones por la legislación.

Entre las sustancias naturales, destacan por su elevada actividad antifúngica los extractos de plantas superiores y los aceites esenciales^{24, 25}. Así, los glucosinolatos, producidos por especies de la familia de las crucíferas, o los extractos de Aloe vera o de especies de los géneros *Allium* y *Capsicum* han mostrado actividad contra podredumbres de poscosecha de cítricos. Aceites esenciales e géneros como Citrus, Thymus, Origanum, Lavandula o Eucaliptus han sido evaluados por su capacidad fungitóxica y se han identificado algunos compuestos terpénicos responsables de esta capacidad. En algunos casos, estas sustancias han sido clasificadas como 'Generally Recognized as Safe' (GRAS) por la 'United States Federal Drug Administration' (US FDA) de EE. UU. debido a que su utilización no genera residuos indeseables. Carvalho et al.²⁶ han evaluado in vitro el efecto de 22 aceites esenciales de cítricos sobre el crecimiento de *P. digitatum* y *P. italicum*, y han observado que todos los compuestos de aceite evaluados inhibieron *P. digitatum* al 50-100% aplicados a una concentración media de 30-50 µg/mL. De los compuestos estudiados el carvacrol fue el que presentó mayor actividad fungistática contra ambos hongos, seguido del timol. Otros compuestos naturales que presentan actividad antifúngica son: compuestos aromáticos volátiles como el acetaldehído, el hexanal

o el benzaldehído; reguladores naturales del crecimiento, como el ácido jasmónico o el metil jasmonato; el quitosano, un polímero de la b-1,4-glucosamina que se obtiene por deacetilación de la quitina del exoesqueleto de los artrópodos, y su derivado el glicol-quitosano; péptidos antifúngicos como los identificados en el IATA (Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Valencia, España²⁷), o las proteínas antimicrobianas biosintetizadas por el fruto en respuesta a situaciones de estrés (quitinasas y b-1,3-glucanasa).

Los aditivos alimentarios y algunas sustancias sintéticas catalogadas como GRAS suelen ser ácidos y sales orgánicas o inorgánicas con una acción contra los microorganismos bastante específica. Los que se han mostrado más efectivos contra las podredumbres verde y azul de los cítricos son el sorbato potásico, el benzoato sódico, el carbonato sódico y el bicarbonato sódico^{10, 28}. Estas sustancias pueden utilizarse en baños de 1-3 min en soluciones acuosas calientes (40-50°C) a concentraciones del 2-3% (**figura 5**). Aunque su eficacia y persistencia no iguala a la de los fungicidas convencionales, presentan interés comercial por su efectividad, fácil disponibilidad y aplicación, bajo precio y facilidad de combinación con otros métodos alternativos de control.



Figura 5. Tratamiento de cítricos por inmersión en una solución caliente de carbonato sódico en una central de California.

Montesinos-Herrero y Palou²⁹ han revisado recientemente las investigaciones referentes a la combinación de estos compuestos con sistemas físicos de control como el calor o las irradiaciones o con otros sistemas químicos como los fungicidas convencionales a bajas dosis o los recubrimientos comestibles. En este sentido, en el Centro de Tecnología Poscosecha del IVIA (Valencia, España) se han desarrollado películas y recubrimientos comestibles antifúngicos efectivos en el control de las principales enfermedades de poscosecha de los frutos cítricos^{30, 31}. Estos recubrimientos se prepararon mediante la adición de aditivos alimentarios y sustancias GRAS con propiedades antifúngicas (sales de ácidos orgánicos, sales de parabenos, entre otros) a formulaciones de hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) y lípidos hasta obtener emulsiones estables. Tras pruebas de selección *in vitro* (**figura 6**) e *in vivo* en mandarinas y naranjas se encontró que los recubrimientos que contenían sorbato potásico, benzoato sódico, propionato sódico y alguna mezcla de estos aditivos eran los más efectivos. En trabajos similares, se han obtenido recubrimientos antifúngicos para cítricos mediante la adición de aceites esenciales a bases de carnauba o almidón de maíz³².

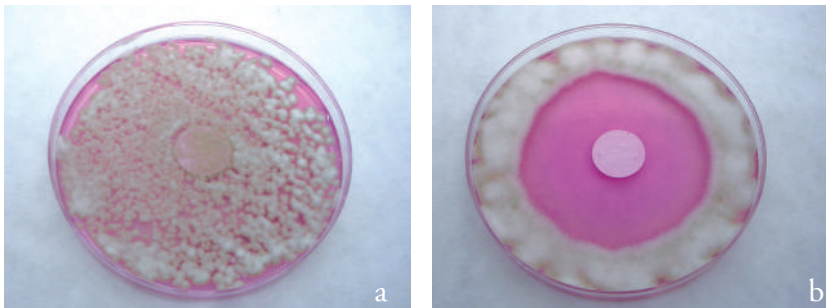


Figura 6. Inhibición *in vitro* de *Penicillium digitatum* por difusión de disco de película. Película formulada sin (a) o con la adición de aditivo alimentario antifúngico (b).

Otros compuestos que se han evaluado para el control de podredumbres en poscosecha de cítricos incluyen el bórax (tetraborato sódico decahidratado), el ácido bórico, el poliboro (octaborato disódico), el etanol, el dióxido de azufre, el polisulfuro de calcio, el ácido peroxiacético y el peróxido de hidrógeno²⁵. Ninguno de estos tratamientos se está utilizando comercialmente debido o a su falta de efectividad o a problemas derivados de su aplicación. En cambio, algunos de ellos (bórax, ácido peroxiacético, compuestos de amo-

nio cuaternarios, entre otros) sí pueden utilizarse, además del hipoclorito de sodio y sus derivados, como desinfectantes en el lavado de los frutos y de las instalaciones de la central citrícola¹.

Métodos biológicos (microorganismos antagonicos)

La poscosecha presenta un desafío único para el control biológico, mediante el uso de microorganismos antagonistas, en el combate de enfermedades. El ambiente parcialmente controlado, de temperatura y humedad, puede ayudar a alterar el equilibrio en las interacciones entre el huésped, el patógeno y el antagonista a favor de este último. La restrictiva aplicación directa sobre los frutos cosechados y el elevado valor de los productos tratados podrá justificar un producto biológico relativamente más caro. En relación con los productos químicos, los agentes de control biológico presentan ventajas claras pues son más seguros, ya que no se acumulan en los alimentos; más persistentes a lo largo del tiempo, pues no alteran de forma sustancial los principales aspectos del patógeno; producen un efecto insignificante en el equilibrio ecológico, ya que no destruyen a los enemigos naturales, y son compatibles con otros sistemas de lucha.

Durante los últimos 25-30 años diversos programas se han desarrollado en todo el mundo y numerosos agentes de biocontrol han sido investigados frente a diversas enfermedades de poscosecha de frutos³³. Aunque en el plano experimental se han encontrado y patentado en laboratorios de todo el mundo numerosas levaduras, bacterias y también hongos filamentosos con capacidad antagonica contra podredumbres de poscosecha de los cítricos, los registros son complicados y el uso comercial es escaso. Normalmente los mejores resultados se obtienen en usos preventivos, ya que en general la actividad fungicida o curativa es limitada. Tienen un gran potencial como tratamientos complementarios a otros sistemas alternativos respetuosos con el medioambiente¹⁰.

Actualmente existen en el mercado muy pocos biofungicidas para control de enfermedades de poscosecha, incluidas las de frutos cítricos: Aspire™ a base *Candida oleophila*, producido por Ecogen y limitado a EE. UU. e Israel; BioSave™ formado por *Pseudomonas syringae*, producido inicialmente por EcoScience y actualmente por Jet Harvest Solutions y limitado a EE. UU.; Shemer™ a base de *Metschnikowia fructicola*, producido por Bayer Crop Science; Pantovital a base de *Pantoea agglomerans*, producido Biodurcal S.L., España; Serenade (*Bacillus subtilis*, AgraQuest, EE. UU.); Boniprotect (*Aureobasidium pullulans*, Bio-protect, Alemania); Yieldplus (*Cryptococcus al-*

bidus, Suráfrica) y Candifruit (*Candida sake*, España). Nuevos productos en proceso de registro son Citrigreen® a base de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis*, formulado en Suráfrica³⁴. Manso y Nunes³⁵ solicitaron la patente de la cepa NCYC3728 (PBC-2) de la levadura *Metschnikowia andauensis* (Patente N°105220) como agente de biocontrol contra enfermedades de poscosecha, incluyendo algunas de los frutos cítricos.

Esta falta de antagonistas comercializados se debe a que son pocos los países que, como EE. UU., disponen de normativas específicas y simplificadas para el registro de este tipo de productos biológicos. En otros países, como los de la Unión Europea, el registro se ve obstaculizado por la exigencia de estudios toxicológicos largos y costosos equiparables a los exigidos para cualquier pesticida de síntesis. No obstante, es probable que más productos entren al mercado en los próximos años como resultado de los programas de investigación en control biológico que se vienen realizando en todo el mundo.

El desarrollo de sistemas de control biológico requiere de varios pasos para aislar, evaluar y seleccionar un agente de biocontrol potencial. Es necesaria la realización de bioensayos a escala piloto y comercial. El mecanismo de antagonismo del microorganismo tiene que ser entendido. Para la aplicación comercial, el producto tiene que ser formulado y producido a escala industrial de forma económica manteniendo su actividad biológica³⁶.

Normalmente, los antagonistas se aplican sobre los frutos cítricos en baño o dréncher como suspensiones acuosas de distintas concentraciones, pero existen excepciones como los biofumigantes que pueden utilizarse como tratamientos gaseosos en cámaras de conservación o en combinación con los tratamientos de desverdización³⁷.

El término control biológico de enfermedades de poscosecha fue adoptado de la definición de control biológico empleada por los entomólogos, que se definía como el control de un organismo por otro. Sin embargo, la enfermedad de una planta no es una plaga, o sea no es un organismo sino un proceso, que puede ser influenciado a nivel del patógeno, del huésped o del microambiente³⁸. Esta definición generó lo que se llama agentes de control biológico de segunda generación y permitió la exploración de nuevos caminos, en el sentido de desarrollar sistemas de biocontrol capaces de superar las limitaciones existentes en los de primera generación, promoviendo una mayor y constante eficacia y posibilitando el control de infecciones ya previamente establecidas o latentes³⁶.

Con esta definición de control biológico ampliada, el manejo de la enfermedad podrá incluir el uso de un proceso biológico o de un producto de un proceso biológico. De este modo numerosos nuevos enfoques están disponibles para un exitoso desarrollo de productos y procesos de control biológico: mezclas de dos o más antagonistas, manipulación ambiental de los nutrientes para obtener cepas de antagonistas resistentes a ciertas condiciones adversas, aplicaciones en precosecha, manipulación genética de antagonistas, mejora de los procesos de producción y formulación, e integración del control biológico con otros métodos alternativos de control. Investigando en estos aspectos se espera solucionar los problemas de la primera generación comercial de agentes de biocontrol, tales como la excesiva especificidad (rango estrecho de actividad para frutos, enfermedades y/o condiciones ambientales particulares), la falta de una eficacia alta y constante, y la incapacidad de controlar infecciones latentes y previamente establecidas^{36, 39}.

Algunos ejemplos de estos enfoques aplicados en frutos cítricos son el aumento significativo de la eficacia del agente de biocontrol *B. subtilis* cuando se combinó con bicarbonato sódico o agua caliente³⁴. Torres et al.⁴⁰ verificaron que con soluciones de bicarbonato sódico a 50°C seguidas de la aplicación del agente de biocontrol *P. agglomerans*, se obtenía un control de la enfermedad igual o superior a aquella alcanzada con el fungicida IMZ. En la integración con otros métodos, se observaron efectos positivos en el control de la podredumbre verde en limones mediante la combinación de *P. agglomerans* con un tratamiento posterior de curado a 33°C durante 6 horas⁴¹.

Conclusiones y recomendaciones

Las enfermedades de poscosecha son una de las principales causas de pérdidas económicas en el cultivo de frutos cítricos. Estas pérdidas pueden ser muy variables puesto que dependen de factores como la especie y el cultivar, la climatología y el manejo del cultivo tanto en precosecha como en poscosecha.

Gestionando adecuadamente los principales procesos metabólicos de los frutos, según la particular susceptibilidad de cada especie y variedad a dichos factores, así como otros que intervienen (estados de madurez y sanitario), es posible limitar las enfermedades de poscosecha y las alteraciones fisiológicas más comunes.

Los fungicidas químicos convencionales tienen su futuro comprometido, por lo que es necesaria la investigación en la búsqueda de alternativas para el control de enfermedades de poscosecha. En un contexto de control integrado no contaminante, debe primarse la combinación de diferentes métodos alter-

nativos físicos, biológicos y químicos de baja toxicidad. Colombia tiene todo un campo por explotar en esta área y debe buscar un valor añadido a su gran agrobiodiversidad. Además, es fundamental el conocimiento de los patógenos y de los factores que determinan su incidencia en precosecha, cosecha y poscosecha. Son necesarios esfuerzos e inversiones para la formación de programas de investigación articulados en redes de conocimiento que permitan ofertar al sector soluciones tecnológicas integrales.

Referencias bibliográficas

1. LADANIYA, M. *Citrus Fruit: Biology Technology and Evaluation*. USA: Elsevier, 2008. p. 336.
2. PALOU, L. Control integrado no contaminante de enfermedades de poscosecha (CINCEP): nuevo paradigma para el sector español de los cítricos. En: *Levante Agrícola*. 2011. Vol. 406, p. 173-183.
3. BROWN, G. E. Control of Florida citrus decay with Guazatine. En: *Proc. Fla. Sta. Hort. Soc.* 1983. Vol. 96, p. 335-337.
4. GUTTER, Y. Investigation on new postharvest fungicide in Israel. En: *Proc. Int. Soc. Citric, Japan*, 1981. Vol. 2, p. 810-811.
5. SMILANICK, J. L.; MANSOUR, M. F. y SORENSON, D. Pre- and postharvest treatments to control green mold of citrus fruit during ethylene degreening. En: *Plant Dis*. 2006. Vol. 90, p. 89-96.
6. TUGWELL, B. L. and CHVYL, W. L. Modified atmosphere packaging for citrus. Int. In: *Citrus Congress*, Sun City, South Africa. 1997. p. 1150-1152.
7. MARTÍNEZ-JÁVEGA, J. M. y CUQUERELLA, J. Manejo poscosecha de frutos cítricos de producción integrada. 2° Congreso Iberoamericano de tecnología Postcosecha y Agroexportaciones. 2° Simposio Tecnologías para Tratamientos Cuarentenarios en Frutas Tropicales y Subtropicales para la Exportación (CYTED-Proyecto XI.10), Bogotá, Colombia. 2000. p. 15-19.
8. HOLMES, G. J., ECKERT, J. W. Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to post harvest citrus fungicide in California. En: *Phytopathology*. 1999. Vol. 89, p. 716-721.
9. PALOU, L.; et al. Micoflora en centrales citrícolas de Tarragona. En: *Investigación Agraria: Producción y Protección Vegetales*. 2001. 16, 447-462.
10. PALOU, L.; SMILANICK, J. L. and DROBY, S. Alternatives to conventional fungicides for the control of citrus postharvest green and blue molds. En: *Stewart Postharvest Review*. 2008. Vol. 2, No. 2, p. 1-16.

11. PALOU, L. Métodos de control físicos ensayados en poscosecha contra las podredumbres verde y azul de los cítricos. *Levante Agrícola*. 2005. Vol. 377, p. 341-350.
12. PALOU, L. y PLAZA, P. Tratamientos con calor para el control de enfermedades de poscosecha de cítricos. En: *Todo Citrus*. 2005. Vol. 31, p. 21-36.
13. NUNES, C.; et al. Effect of high temperature treatments on growth of *Penicillium* spp. and their development on 'Valencia' oranges. En: *Food Science and Technology International*. 2007. Vol. 13, p. 63-68
14. NUNES, C.; et al. Effects of postharvest curing treatment on quality of citrus fruit. En: *Vegetable Crops Research Bulletin*. 2007. Vol. 66, 213-220
15. PORAT, R.; et al. Reduction of postharvest decay in organic citrus fruit by a short hot water brushing treatment. *Postharvest Biol. Technol.* 2000. Vol. 18, p. 151-157.
16. DROBY, S.; et al. Factors affecting UV-induced resistance in grapefruit against the green mould decay caused by *Penicillium digitatum*. En: *Plant Pathol.* 1993. Vol. 42, p. 418-424.
17. PALOU, L. Control of citrus postharvest diseases by physical means. En: *Tree and Forestry Science and Biotechnology*. 2009. Vol. 3, (Special Issue 2), p. 127-142.
18. BEN-YEHOSHUA, S.; et al. Preformed and induced antifungal materials of citrus fruits in relation to the enhancement of decay resistance by heat and ultraviolet treatments. En: *J. Agric. Food Chem.* 1992. Vol. 40, No. 1217-1221.
19. CAYUELA, J. A.; et al. Inducción de fitoalexinas en tratamientos de curado para el control de *Penicillium* spp. En: *Levante Agrícola, Revista Internacional de Cítricos*. 2010. Vol. 401, p. 216-222.
20. PALOU, L.; SMILANICK, J. L. y CRISOSTO, C. H. Conservación frigorífica de cítricos en atmósferas ozonizadas: efecto sobre las enfermedades de poscosecha. En: *Levante Agrícola*. 2004. Vol. 372, p. 321-328.
21. PALOU, L.; SMILANICK, J. L. y MARGOSAN, D. A. Ozone applications for sanitation and control of postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. In: González-León, A. (Ed.), *Recent Advances in Alternative Postharvest Technologies to Control Fungal Diseases in Fruits and Vegetables*. Trivandrum, Kerala, India: Transworld Research Network, 2007. p. 39-70.
22. PALOU, L.; et al. Novel approaches for postharvest preservation of fresh citrus fruits. In: Slaker, D.A. (Ed.), *Citrus Fruits: Properties, Consumption and Nutrition*. New York: Nova Science Publishers, Inc., 2011. p. 1-45.

23. MONTESINOS-HERRERO, C.; *et al.* Control of citrus postharvest decay by ammonia gas fumigation and its influence on the efficacy of the fungicide imazalil. En: Postharvest Biol. Technol. 2011. 59, p. 85-93.
24. ZACCHINO, S. A.; *et al.* The Need for New Antifungal Drugs: Screening for Antifungal Compounds with a Selective Mode of Action with Emphasis on the Inhibitors of the Fungal Cell Wall, in Plant-derived Antimycotics (Eds. M. Rai and D. Mares). Binghampton: The Haworth Press, 2003. p. 1-47.
25. PALOU, L. Evaluación de alternativas para el tratamiento antifúngico en cosecha de cítricos de producción integrada. En: Horticultura. 2007. Vol. 200, p. 82-93.
26. CARVALHO, C. P.; *et al.* Evaluación in vitro de 22 compuestos de aceites esenciales de cítricos sobre el crecimiento de *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum*: Efecto dosis y comparativo. En: Memorias XI Congreso Colombiano de Fitoquímica. Medellín, Colombia. 2011. (In press).
27. MUÑOZ, A.; LÓPEZ-GARCÍA, B. y MARCOS, J. F. Comparative study of antimicrobial peptides to control citrus postharvest decay caused by *Penicillium digitatum*. En: J. Agric. Food Chem. 2007. Vol. 55, p. 8170-8176.
28. MONTESINOS-HERRERO, C. *et al.* Evaluation of brief potassium sorbate dips to control postharvest penicillium decay on major citrus species and cultivars. En: Postharvest Biol. Technol. 2009. Vol. 52, p. 117-125.
29. MONTESINOS-HERRERO, C. y PALOU, L. Combination of physical and low-toxicity chemical postharvest treatments for integrated disease management of citrus fruit: a review. En: Stewart Postharvest Review. 2010. Vol. 1, p. 1-11.
30. VALENCIA-CHAMORRO, S. A.; *et al.* Inhibición de las podredumbres verde y azul de las naranjas mediante películas y recubrimientos comestibles antifúngicos a base de hidroxipropil metilcelulosa-lípidos. En: Levante Agrícola. 2009. Vol. 396, p. 206-212.
31. VALENCIA-CHAMORRO, S. A.; *et al.* Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables: a review. En: Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2011. Vol. 51, p. 872-900.
32. DU PLOOY, W.; REGNIER, T. y COMBRINCK, S. Essential oil amended coatings as alternatives to synthetic fungicides in citrus postharvest management. En: Postharvest Biol. Technol. 2009. Vol. 53, p. 117-122.
33. NUNES, C. New developments in safety methods to control postharvest fruit decays. In: Environmentally Friendly and Safe Technologies for Quality of Fruits and Vegetables (Nunes C, ed.). Faro: Universidade do Algarve, 2010. p. 133-145

34. OBAGWU, J. y KORSTEN, L. Integrated control of citrus green and blue molds using *Bacillus subtilis* in combination with sodium bicarbonate or hot water. En: *Postharvest Biology and Technology*. 2003. Vol. 28, p. 187-194
35. MANSO, T. y NUNES, C. *Metschnikowia andauensis* as a new biocontrol agent of fruit postharvest diseases. En: *Postharvest Biol. Technol.* 2011. doi:10.1016/j.postharvbio.2011.02.004.
36. NUNES, C.; MANSO, T. y LIMA-COSTA, M. E. Postharvest biological control of citrus fruit. *Tree and Forestry Science and Biotechnology*. 2009. Vol. 3 (Special Issue 2), p.116-126.
37. MERCIER, J. y SMILANICK, J. L. Control green mold and sour rot of stored lemon by biofumigation with *Muscudor albus*. *Biological Control*. 2005. Vol. 32, p. 401-407.
38. WISNIEWSKI, M.; *et al.* Postharvest Biocontrol: new concepts and applications. *Biological Control: a Global Perspective*. C. Vincent, M. S. Goettel and G. Lazarovits. Oxfordshire, 2007. CABI: 262-273.
39. DROBY, S.; *et al.* Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm?. En: *Postharvest Biology and Technology*. 2009. Vol. 52, No. 2. p. 137-145.
40. TORRES, R.; *et al.* Application of *Pantoea agglomerans* CPA-2 in combination with heated sodium bicarbonate solutions to control the major postharvest diseases affecting citrus fruit at several Mediterranean locations. En: *European Journal of Plant Pathology*. 2007. Vol. 118, p. 73-83
41. PLAZA, P.; *et al.* Combining *Pantoea agglomerans* (CPA-2) and curing treatments to control established infections of *Penicillium digitatum* on lemons. En: *Journal of Food Protection*. 2004. Vol. 67, p. 781-786

