

Enfermedades de poscosecha de la granada en la zona de Elche

Lluís Palou

palou_llu@gva.es

Laboratori de Patologia, Centre de Tecnologia Postcollita, Institut Valencià d'Investigacions Agràries (IVIA), Apartat Oficial, 46113 Montcada, València

1. Resumen

España es el primer productor y exportador de granadas de la Unión Europea. Más del 90% de las plantaciones comerciales de este frutal están situadas en la zona de Elche (Alicante). La industria de la granada está actualmente interesada en prolongar el período de almacenamiento de los frutos para alcanzar el mercado más allá del período actual de comercialización. Las pérdidas de peso, los daños por frío y las enfermedades de poscosecha son los principales problemas que limitan la frigoconservación de la granada. En este trabajo se determinaron la etiología y la incidencia de estas enfermedades en nuestras condiciones ambientales. Se utilizaron granadas cv. 'Mollar de Elche' de dos parcelas distintas para determinar la incidencia tanto de patógenos de herida (infecciones en poscosecha) como de patógenos latentes (infecciones en campo). Para ello, frutos sanos se hirieron en la piel o se desinfectaron con hipoclorito sódico y se colocaron en cámaras húmedas a 20°C durante 2 meses. Se determinaron también las enfermedades en granadas conservadas a 5°C durante 6 meses. Los hongos causantes de enfermedad se incubaron en medio patata dextrosa agar (PDA) a 25°C para su aislamiento y posterior identificación. Los principales agentes causales de infecciones de herida y latentes fueron respectivamente *Penicillium* spp. (podredumbre azul) y *Botrytis cinerea* (podredumbre gris). *P. expansum*, *P. sclerotiorum* y *P. glabrum* fueron especies patogénicas de *Penicillium* identificadas. Las podredumbres azul y gris fueron también las más frecuentes en granadas conservadas en frío. Otros patógenos relativamente frecuentes en frutos almacenados a 20 y 5°C fueron respectivamente *Aspergillus niger* y *Pilidiella granati*.

Palabras clave: granada, poscosecha, 'Mollar de Elche', *Penicillium*, *Botrytis*

2. Abstract

Spain is the first European Union producer and exporter of pomegranates (*Punica granatum* L.). More than 90% of the Spanish commercial acreage is located in the Southeast area of the country (Alicante province, Elche area). Currently, there is a clear interest in prolonging the whole fruit storage period to reach off-season markets. Weight loss, chilling injury, and decay are the most important problems limiting storability of pomegranate. The etiology and incidence of postharvest diseases in our local environmental conditions were determined. Commercially grown pomegranates cv. 'Mollar de Elche' from two different orchards were used to assess both wound pathogens (postharvest infections) and latent pathogens (field infections). Healthy pomegranates were either artificially wounded in the rind or surface-disinfected with sodium hypochlorite and placed in humid chambers at 20°C for up to 2 months. Additionally, decay was periodically assessed on intact pomegranates stored at 5°C for up to 6 months. Isolates of pathogens causing fruit decay were plated in potato dextrose agar (PDA) Petri dishes and incubated at 25°C for further macroscopic and/or microscopic identification. The main causal agents of wound and latent infections were *Penicillium* spp. (blue mold), and *Botrytis cinerea* (gray mold), respectively. Pathogenic *Penicillium* species were identified as *P. expansum*, *P. sclerotiorum*, and *P. glabrum*. Blue and gray molds were also the most frequent diseases observed on cold-stored fruit. Other relatively frequent pathogens on fruit stored at 20 and 5°C were *Aspergillus niger* and *Pilidiella granati*, respectively.

Key words: pomegranate, postharvest, 'Mollar de Elche', *Penicillium*, *Botrytis*

3. Introducción

España es el primer productor y exportador de granadas de la Unión Europea. Más del 90% de las plantaciones comerciales de este frutal están situadas en el Sudeste del país, principalmente en la zona de Elche, provincia de Alicante. La importancia de este cultivo a nivel mundial está aumentando debido a la creciente demanda por parte del consumidor de alimentos de alto nivel nutricional y terapéutico.

La granada es un fruto no climatérico que no madura fuera del árbol ni siquiera mediante tratamientos con etileno y se debería recolectar cuando está totalmente maduro para asegurar un sabor óptimo. Actualmente, la industria de la granada en España está claramente interesada en prolongar el período de almacenamiento de los frutos para alcanzar el mercado más allá del período actual de comercialización. Algunos estudios indican que la variedad 'Mollar de Elche', el cultivar de granada más extendido en España, debería almacenarse a temperaturas de 5°C y humedades relativas (HR) del 90% o mayores para evitar pérdidas de peso y el desarrollo de daños por frío (escaldado o decoloración marrón de la piel y/o picado superficial), que son los principales problemas que limitan la frigoconservación de la granada (Artés et al., 2000). Sin embargo, el almacenamiento en estas condiciones puede favorecer el desarrollo de enfermedades de poscosecha si se compara con una conservación a temperaturas más bajas (0-1°C).

Según el tipo y el momento de la infección, existen dos tipos de enfermedades de poscosecha, las causadas por patógenos de herida, que infectan el fruto en el campo o en posco-

secha exclusivamente a través de microheridas o heridas visibles en la piel del fruto, y las causadas por patógenos latentes, que infectan las flores, los frutos jóvenes o los frutos maduros en el campo pero que permanecen inactivos o latentes hasta que, debido a cambios físicos o fisiológicos en el fruto huésped o a cambios en las condiciones ambientales, se desarrollan en la fase de poscosecha. El patógeno de este tipo más importante es el hongo *Botrytis cinerea* Pers.: Fr., que causa la enfermedad conocida como podredumbre gris. Además de *B. cinerea*, se han citado otros hongos causantes de podredumbres en poscosecha de granada en distintas zonas productoras, entre ellos *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Alternaria* spp., *Nematospora* spp., *Coniella* spp., *Colletotrichum gloeosporioides* o *Pestalotiopsis versicolor*. La incidencia de enfermedades de poscosecha depende tanto de factores de precosecha (cultivar, clima, condiciones de crecimiento, etc.), como de la propia cosecha y de factores posteriores a la recolección (manejo, condiciones de almacenamiento, etc.). Por tanto, esta incidencia potencial debería determinarse específicamente para cada zona de cultivo pues muchos de estos factores presentan un marcado carácter local.

4. Materiales y métodos

Frutos

Granadas (*Punica granatum* L.) cv. 'Mollar de Elche' (sinónimo: 'Mollar') producidas comercialmente en dos parcelas diferentes de la zona de Elche (Alicante) se recolectaron en su madurez comercial y se transportaron a una cooperativa frutícola local. Posteriormente, la fruta se llevó al IVIA donde se seleccionaron frutos sanos de un calibre medio y uniforme, se redistribuyeron aleatoriamente, y se utilizaron en los experimentos ese mismo día.

Determinación de patógenos de herida

Granadas intactas de las cajas de campo se hirieron mediante un punzón en cuatro puntos equidistantes de la zona ecuatorial. Cada fruto se colocó sobre una placa petri numerada y los frutos se introdujeron en cámaras húmedas. Estas cámaras consistían en cajas de plástico de 5 L con tapa que habían sido previamente desinfectadas superficialmente pulverizándolas con etanol al 98%. Para permitir el intercambio de aire, las cajas se perforaron en dos paredes opuestas dejando unos orificios de 0,5 cm de diámetro. Antes de colocar los frutos, en el fondo de las cajas se habían colocado papeles absorbentes impregnados de agua. Las cámaras húmedas se taparon y se incubaron a 20°C. Con la fruta de cada campo se utilizaron ocho cámaras húmedas (repeticiones) conteniendo cada una cuatro frutos (16 heridas) (total de 32 frutos y 128 heridas por parcela).

El número de heridas infectadas en cada cámara se controló semanalmente durante 7 semanas. Los patógenos causantes de infecciones se reconocieron bien mediante inspección visual directa o después de ser sembrados en placas petri con medio patata dextrosa agar (PDA) e incubados a 25°C para su aislamiento y posterior identificación por sus caracteres macro y/o microscópicos. Salvo algunas excepciones, los hongos patógenos se identificaron a nivel de género.



Foto 1. Granadas infectadas por *Penicillium expansum* (A), *P. sclerotiorum* (B) y *P. glabrum* (C).

Determinación de patógenos latentes

Granadas intactas procedentes de cajas de campo se desinfectaron superficialmente mediante inmersión en lejía diluida (0.5% hipoclorito sódico) durante 1 min, se aclararon intensamente con agua y se secaron con papel. Para evitar que el baño afectase a posibles patógenos latentes establecidos dentro de la corona del fruto, ésta se cubrió con cinta adhesiva antes de la desinfección de la fruta. Los frutos desinfectados se colocaron en placas petri estériles y se dispusieron dentro de cámaras húmedas tal y como se ha descrito anteriormente. Las cámaras húmedas se taparon y se incubaron a 20°C. Con la fruta de cada campo se utilizaron ocho cámaras húmedas (repeticiones) conteniendo cada una cuatro frutos (total de 32 frutos por parcela). Se anotó semanalmente el número de frutos infectados en cada cámara durante 7 semanas. Los patógenos causantes de las podredumbres se identificaron como se ha descrito anteriormente.



Foto 2. Granada infectada por *Botrytis cinerea*.



Foto 3. Granada infectada por *Aspergillus niger*.

Determinación de podredumbres durante el almacenamiento en frío

Granadas que habían sido procesadas comercialmente en la central frutícola se llevaron al IVIA y se almacenaron a 5°C y 90% HR durante 7 meses. La manipulación en la central frutícola consistió en la selección manual de la fruta y el envasado en cajas de cartón de 50x30x10 cm con alveolos plásticos que impidieron el contacto entre frutos. No se aplicó ningún tratamiento de poscosecha de ningún tipo. Para cada campo se utilizaron 4 cajas comerciales (repeticiones), cada una con 12 granadas (total de 48 frutos por campo). Cada dos semanas se controló el número de frutos infectados en cada caja, identificándose los patógenos causantes de podrido tal y como ya se ha descrito.

5. Resultados

Después de 7 semanas de incubación a 20°C, la incidencia total de infecciones de herida (podridos causados por cualquier patógeno) fue de un 30 y 60% en granadas ‘Mollar de Elche’ de las parcelas 1 y 2, respectivamente. Diferentes especies del género *Penicillium* fueron los agentes causantes de infecciones de herida más importantes, siendo su frecuencia relativa del 70-75% en frutos de ambos campos (**Fig. 1A**). Especies de este género aisladas en estos ensayos se han identificado como *P. expansum*, *P. sclerotiorum*, *P. glabrum* y *P. minioluteum*. Ensayos de patogenicidad con estos hongos han indicado que mientras las especies *P. expansum*, *P. sclerotiorum* y *P. glabrum* son efectivamente patógenos de la granada (**Foto 1**), la especie *P. minioluteum* no causa enfermedad. *B. cinerea* (**Foto 2**) y *Aspergillus niger* van Tiegh (**Foto 3**) fueron otros patógenos causantes de podredumbre identificados.



Foto 4. Granada infectada por *Pilidiella granati*.

La incidencia total de infecciones latentes (podridos causados por cualquier patógeno) se incrementó continuamente durante las 7 semanas de incubación a 20°C y alcanzó un 65-75% de las granadas de los dos campos al final del período de incubación. Esta pauta fue básicamente debida a la seguida por las infecciones causadas por *B. cinerea*, que en general fue el principal patógeno causante de podredumbres. También se observó un número creciente de infecciones de *Penicillium* spp. Además, en los frutos de la parcela 1 la incidencia de podridos por *A. niger* también fue alta. En los frutos de este campo, la frecuencia relativa de este hongo al final del período de incubación fue tan alta como la de *B. cinerea* (**Fig. 1B**).

La incidencia total de podridos en las granadas almacenadas en frío fue del 10% o menor durante las primeras 17 semanas de almacenamiento a 5°C (4 meses aproximadamente), pero aumentó a un 60-75% tras 27 semanas. De nuevo, *B. cinerea* y *Penicillium* spp. fueron los patógenos más frecuentes durante todo el período de almacenamiento, pero en este caso la frecuencia relativa de otros patógenos fue más alta que en la fruta incubada a 20°C (**Fig. 1C**). Entre ellos destacó *Pilidiella granati* (sinónimo: *Coniella granati*; **Foto 4**).

Otros patógenos causantes de podredumbre, aunque con una incidencia sensiblemente menor, fueron *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp. o *Alternaria* sp. Se observaron infecciones de *Penicillium* spp. en los estambres de muchos frutos, especialmente de aquellos incubados a 20°C.

6. Discusión

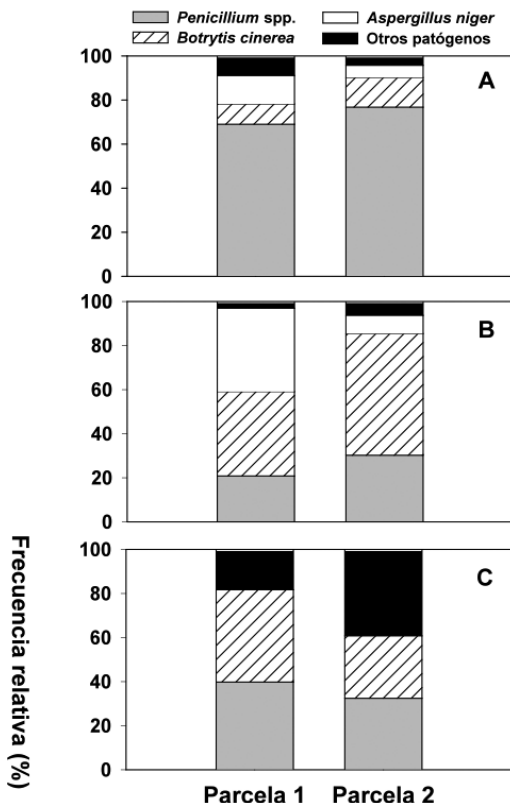
Aunque en algunos estudios se ha citado a especies de *Penicillium* no identificadas como la causa de podrido en granada (Kanwar and Thakur, 1972; Artés et al., 2000), en otros casos el patógeno fue identificado como *P. expansum* (Kanwar y Thakur, 1972), *P. digitatum* (Salunkhe y Desai, 1984) o *P. implicatum* (Labuda et al., 2004). Estos autores también encontraron cepas de *P. glabrum*, *P. minioluteum*, *P. implicatum* y *P. erythromellis* en estambres visiblemente llenos de moho en la corona de granadas obtenidas de un mercado en Eslovaquia y procedentes de España. Los autores argumentaron que los estambres podrían ser una fuente de infección que se extendería al resto del fruto en caso de haber vías de entrada como heridas, golpes o rozaduras. Teniendo en cuenta que *Penicillium* spp. son patógenos de herida estrictos, este tipo de infección podría explicar parcialmente la elevada incidencia de *Penicillium* que observamos en los ensayos de patógenos latentes. No obstante, creemos que la causa principal fue la contaminación por parte de *Penicillium* spp. de infecciones primarias causadas por otros hongos.

La patogenicidad del hongo *B. cinerea* en granadas, causando la enfermedad conocida como podredumbre gris, se ha descrito en muchas zonas productoras de todo el mundo. Como se muestra en este trabajo, la enfermedad puede originarse tanto por infecciones latentes como de herida. Las esporas y fragmentos de micelio que contaminan la superficie del fruto pueden infectarlo a través de grietas o heridas en la piel, pero los podridos originados por infecciones latentes establecidas en la fruta antes de su recolección son normalmente más frecuentes. En estos casos, el patógeno infecta las flores o la corona de frutos jóvenes, permanece latente y, una vez el fruto ha sido recolectado, se extiende desde la corona al resto del mismo. Se ha propuesto denominar a esta forma particular de podredumbre gris de poscosecha como podredumbre de corona por botrytis (Palou et al., 2007). Además, *B. cinerea* puede producir ‘nidios’ de podredumbre en granadas almacenadas por contacto miceliar entre frutos adyacentes. Estos ‘nidios’ pueden aparecer incluso en frutos almacenados en frío porque el patógeno es capaz de crecer, aunque lentamente, a temperaturas tan bajas como 0°C. En este estudio, la podredumbre de corona por botrytis fue la enfermedad más frecuente en granadas almacenadas a 5°C, aunque su incidencia durante los 4 primeros meses de almacenamiento en frío fue más baja que la encontrada en las granadas ‘Wonderful’ en California (Palou et al., 2007). Esto puede deberse a diferencias varietales en la susceptibilidad y/o a condiciones medioambientales distintas. Las infecciones primarias y secundarias de *Penicillium* llegaron a ser especialmente significativas hacia el final del período de almacenamiento en frío, cuando la mayor parte de los frutos estaban sobremaduros, deshidratados, y presentaban obvias y frecuentes grietas en la piel.

Se han observado varias especies del género *Aspergillus* como causantes de podredumbre de poscosecha en granadas. Concretamente, *A. nidulans*, *A. clavatus* y *A. niger* han sido citados en trabajos realizados en la India como causantes de las enfermedades denominadas podredumbre por aspergillus, podredumbre interna y podredumbre negra, respectivamente (Kanwar and Thakur, 1972). *A. niger* se ha descrito como un patógeno de herida asociado al agrietado de la piel que también suele causar infecciones secundarias en fruta no almacenada en frío y además puede encontrarse infectando los estambres de la granada (Labuda et

Gráfico 1:

Frecuencia relativa de patógenos causantes de enfermedades de poscosecha en granadas ‘Mollar de Elche’ heridas artificialmente (A) o desinfectadas superficialmente (B) e incubadas a 20°C durante 7 semanas, o almacenadas a 5°C durante 27 semanas (C).



al., 2004). Dado que se sabe que la desinfección superficial con cloro no es efectiva contra patógenos situados dentro de heridas de la corteza, la inesperada alta incidencia de *A. niger* en granadas de la parcela 1 desinfectadas superficialmente podría deberse a la presencia de cantidades importantes de conidios del hongo en el ambiente de ese campo, que colonizaron microheridas de la piel de los frutos imposibles de ver a simple vista. Este trabajo constituye un primer paso para determinar las enfermedades de poscosecha de granada más importantes en España. Esta información puede resultar muy útil para nuestra industria de la granada porque si se logra prolongar el almacenamiento de los frutos y se alarga así el período de comercialización, presumiblemente aumentará de forma significativa la incidencia de podredumbres de poscosecha. En ese caso, se requerirá la adopción de métodos de control para mini-

mizar las pérdidas económicas potenciales. A diferencia de lo que ocurre en otras zonas productoras como California, actualmente no se permite en España el uso en poscosecha de granadas de fungicidas químicos de síntesis. Por tanto, debería enfatizarse la evaluación de tratamientos antifúngicos alternativos en el contexto de un control integrado de enfermedades.

7. Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente subvencionado por el Ministerio de Educación y Ciencia (MEC; proyecto AGL2004-05271/AGR) y la Unión Europea (Programa FEDER). Agradecemos la colaboración de la cooperativa Cambayas Coop. V. (Elche, Alicante).

8. Bibliografía

- Artés, F., Tudela, J.A., Villaescusa, R. 2000. Thermal postharvest treatments for improving pomegranate quality and shelf life. *Postharvest Biol. Technol.* 18: 245-251.
- Kanwar, Z.S., Thakur, D.P. 1972. Post-harvest fungal diseases of pomegranate in Hariana. *Indian J. Mycol. Plant Pathol.* 2: 189- 191.
- Labuda, R., Hudec, K., Piecková, E., Mezey, J., Bohovic, R., Mátéová, S., Lukác, S.S. 2004. *Penicillium implicatum* causes a destructive rot of pomegranate fruits. *Mycopathologia* 157: 217-223.
- Palou, L., Crisosto, C.H., Garner, D. 2007. Combination of postharvest antifungal chemical treatments and controlled atmosphere storage to control gray mold and improve storability of 'Wonderful' pomegranates. *Postharvest Biol. Technol.* 43: 133-142.
- Salunkhe, D.K., Desai, B.B. 1984. *Postharvest Biotechnology of Fruits*, Vol. 2. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

9. Sobre el autor

Lluís Palou

Patólogo de poscosecha

Ingeniero Técnico Agrícola (Universitat Politècnica de Catalunya, 1990), Ingeniero Agrónomo (Universitat de Lleida, 1995), Dr. Ingeniero Agrónomo (Universitat de Lleida, 2002)

1999-2002. Investigador visitante. Department of Pomology, University of California, Davis. Kearney Agricultural Center, Parlier, California, EE UU.

2002-2003. Postdoc. Unitat de Patologia, Àrea de Postcollita, Centre UdL-IRTA, Lleida.

2003-presente: Investigador. Centre de Tecnologia Postcollita, IVIA, Montcada, València

Intereses principales: Investigación aplicada y extensión sobre patología de poscosecha de fruta fresca de interés económico en el área productora de Valencia: cítricos, fruta de hueso, uva de mesa, frutos mediterráneos minoritarios (granada, caqui, níspero, dátil). Evaluación de métodos físicos, químicos y biológicos para el control integrado de enfermedades de poscosecha sin la utilización de fungicidas químicos sintéticos. Efecto de tratamientos seleccionados en la calidad y potencial de conservación de los frutos.