

CONTROL BIOLÓGICO DE ENFERMEDADES POSCOSECHA DE FRUTAS

Gerardina Umaña Rojas

Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica.

Aún en los últimos años de este milenio, en el que se han realizado grandes adelantos en el desarrollo de la tecnología, se continúan dando grandes pérdidas en poscosecha en todo el mundo, siendo difícil su cuantificación pero calculándose que pueden alcanzar, dependiendo del país, hasta un 50% de la producción, jugando un papel muy importante los daños causados por microorganismos (Laughlin *et al.*, 1992, Wilson y Pusey, 1985, Wilson y Wisniewski, 1989).

Entre los métodos tradicionales de combate de las pudriciones en poscosecha está el uso de la refrigeración y productos químicos y más recientemente el manejo integrado. Con respecto a los fungicidas, el número que se puede emplear en poscosecha es muy reducido y con pocas perspectivas de nuevos ingredientes activos en el mercado, por otro lado, se han presentado situaciones en las que se han seleccionado cepas de hongos resistentes a algunos de ellos (Betrand y Carter, 1978; Spotts y Cervantes, 1986), o casos en que los productos aplicados no son efectivos para controlar algunos otros hongos (Sams, 1994). A la vez, desde hace algunos años se da una presión de diferentes grupos, incluyendo tanto a científicos como a consumidores, que solicitan que se empleen medidas de combate que representen los menores riesgos a la salud humana, y al medio (Wilson y Wisniewski, 1989, Carman, 1977).

Lo anterior en conjunto con la posibilidad de poder controlar y mantener, hasta cierto punto, las condiciones ambientales durante el almacenamiento (Wilson y Laurence, 1985; Wisniewski y Wilson, 1992), el gran auge de la biotecnología en la última década (Janiesiewicz, 1988; Wilson y Pusey, 1985) y las observaciones que demuestran un equilibrio entre los organismos que se desarrollan en la superficie de los frutos (Droby *et al.*, 1992), ha hecho que el control biológico sea una de las alternativas más estudiadas para el control de enfermedades en poscosecha.

Considerando un criterio más amplio del concepto de control biológico, Wilson y Wisniewski (1989), incluyen dentro de este: a-inducción de la resistencia a enfermedades, b- empleo de productos naturales de plantas, c- microorganismos antagonistas a patógenos.

1. Inducción de la resistencia

En los programas de mejoramiento genético, pocas veces se ha considerado la resistencia de los productos al manejo poscosecha, siendo muy reciente la inclusión de esta variable en los procesos de selección. También es necesario investigar más sobre los tratamientos en precosecha que confieran a las frutas y hortalizas más resistencia a las pudriciones en poscosecha.

La manifestación de la resistencia genética de una planta o fruto se ha logrado estimular o inducir con agentes físicos o biológicos, con lo que se ha obtenido una respuesta de defensa de la planta o los frutos a la invasión de los patógenos (Dixon, 1986; Scibilia y Shain, 1989; Reuveni *et al.*, 1994; Wilson *et al.*, 1994). Entre estos agentes estimulantes están el calor, heridas, radiaciones gamma, luz ultravioleta, antagonistas, razas atenuadas de patógenos y compuestos naturales.

La comprensión de los mecanismos de resistencia a enfermedades y de la inducción de resistencia son fundamentales para poder aplicarlos. Por otro lado, la respuesta que se ha logrado, se ha observado que depende de la condición fisiológica del fruto.

Los mecanismos de resistencia del mango y el aguacate a las pudriciones en almacenamiento fueron estudiados por Droby *et al.*, 1986, Prusky *et al.*, 1982 quienes propusieron una posible regulación del sistema de defensa de estos frutos (Prusky, 1988; Prusky y Keen, 1993). En el mango identificaron una mezcla de dos compuestos que funcionan como agentes antifúngicos, el 5-(12-cis heptadenecyl) y el 5- pentadecyl resorcinol, presentes en mayores concentraciones en el fruto verde que en el maduro, lo que se ha relacionado con el desarrollo de lesiones de *A. alternata* durante la maduración (Droby *et al.*, 1986). Estos autores lograron inducir estos resorcinoles al quitar la corteza del fruto (Droby *et al.*, 1987).

En la corteza y pulpa de frutos no maduros de aguacate, el compuesto antifúngico que encontraron fue el 1-acetoxi-2-hidroxi-4-oxohenicosa-12,15-diene, cuya concentración baja cuando el fruto madura, lo que

favorece la colonización de la corteza por parte de *Colletotrichum gloeosporioides* y el desarrollo de síntomas de la antracnosis.

Prusky y Keen (1993) hicieron aplicaciones de CO para inducir el diene, compuesto cuya concentración está regulada en el fruto por la presencia de un antioxidante natural, un fenol que inhibe la actividad de la lipoxigenasa, que es una enzima que degrada al diene.

En este tratamiento con CO fueron críticos la concentración (cuando se emplearon concentraciones menores al 30% el tratamiento no fue tan efectivo), también el tiempo de exposición (24 horas mínimo). La aplicación se debe hacer tan pronto se cosecha el producto y entre más maduro se encuentre éste, la respuesta lograda es menor.

En otro ensayo Prusky *et al.* (1994) encontraron que la aplicación de esporas de una raza mutante de *Colletotrichum magna*, aislada de cucurbitáceas y que produce síntomas insignificantes en la corteza de aguacate, logra elevar los niveles de epicatequina y diene, reduciendo la incidencia de *C. gloeosporioides*. En otro ensayo, la aplicación de un antioxidante en conjunto con prochloraz fue el mejor tratamiento para el combate de la antracnosis.

En la Universidad de Costa Rica, C. Muñoz, (1996), como parte de su tesis de maestría, está evaluando la patogenicidad en frutos de mango de aislamientos de *Colletotrichum* provenientes de diferentes cultivos, con el objetivo de seleccionar los no patógenos y estudiar su efecto en la estimulación de sustancias antifúngicas que protejan al fruto del desarrollo de la antracnosis.

Las infecciones que causan pudriciones en poscosecha se pueden producir, 1- durante y después de la cosecha, 2- o durante estados tempranos de desarrollo del fruto, donde se inician las denominadas infecciones latentes, destacándose las causadas por hongos como *Colletotrichum gloeosporioides* en frutas tropicales como mango, papaya y que se manifiestan cuando el fruto madura. Este tipo de lesión es de difícil acceso para el combate con fungicidas o con microorganismos competitivos, por estar ubicadas en los tejidos subcuticulares, por lo que las investigaciones en resistencia inducida tienen mucho interés, pues si permiten conocer los mecanismos para estimular el sistema de defensa del fruto y la producción o mantenimiento de sustancias en los tejidos internos, sería más viable el combate de ese tipo de pudriciones que tienen su origen en el campo (Eckert, 1979, Prusky *et al.*, 1994).

La resistencia inducida recién se empieza a estudiar. El conocimiento de los mecanismos que la

gobiernan podría hacer posible su empleo como alternativa para el combate de las enfermedades en el campo y en poscosecha.

2. Productos naturales

En los tejidos de los frutos y hortalizas, existen una gran cantidad de compuestos cuyas propiedades antimicrobianas han sido poco estudiadas y que pueden ofrecer otra alternativa disminuir la incidencia de las pudriciones.

Se ha encontrado que los aceites esenciales de las hojas de *Citrus medica*, *Melanleuca leucadendron* y *Ocimum canum*, protegen de las pudriciones causadas por *Aspergillus flavus* y *A. versicolor* en almacenamiento (Dubey y Kishore (1988) citados por Wilson y Wisniewski, 1989) y los extractos acuosos de *O. sanctum* inhiben la germinación de esporas de hongos causantes de pudriciones en poscosecha, a la vez, inmersiones de frutos de mango en estos extractos reduce la incidencia de las pudriciones (Patil *et al.*, 1992).

Los compuestos volátiles presentes en los frutos se han relacionado con los mecanismos de resistencia a las enfermedades, así Prasad y Stadelbacher (1973) citados por Wilson y Wisniewski (1989), lograron reducir las pudriciones causadas por *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* en frambuesa al usar vapores de acetaldehído. La resistencia a las pudriciones en atmósferas con altas concentraciones de CO se asocia con los altos niveles de compuestos² como el acetaldehído y el acetato de etilo que producen los frutos como respuesta a esa condición de almacenamiento.

Otro compuesto, el quitosán, que se obtiene de la desacetilización de la quitina, tiene la propiedad de formar una cubierta, característica que se ha aprovechado para aplicarlo a frutos y hortalizas, regulando el intercambio de humedad y gases, retrasando la maduración, reduciendo la incidencia de pudriciones y estimulando, en ocasiones, algunas respuestas de defensa.

La merma en incidencia de pudriciones al aplicar el quitosán, se asocia a sus propiedades observadas en el laboratorio, de reducir el crecimiento radial de micelio de la mayoría de hongos patógenos en poscosecha. Al aplicarse en frutos de Chile, limitó el avance de *Botrytis cinerea*, reduciendo a la vez, la degradación de los componentes de la pared celular del huésped y los daños causados por el hongo (El Ghaouth *et al.*, 1992; Wilson *et al.*, 1994).

Este campo del control biológico es muy extenso en posibilidades, sin embargo, con la gran biodiversidad encontrada en nuestro país, se amplifica enormemente y se presenta como una alternativa de mucho interés en la etapa poscosecha.

3. Microorganismos antagonistas a patógenos

El control biológico con microorganismos antagonistas empezó a ser investigado de forma más constante a partir de los años 80 (Wilson y Pusey, 1985).

Son varias las razones por las que se considera que el control biológico en poscosecha puede ser más exitoso que en el campo, entre estas están, las mayores posibilidades de controlar las condiciones ambientales en almacenamiento. Luego, al realizarse la aplicación del controlador biológico en un área más restringida, se facilita el manejo y una mayor eficiencia en la cobertura. Por el alto valor que tienen los productos cosechados la relación beneficio-costos del tratamiento es alta, y además, por asemejarse más las condiciones de laboratorio a las de almacenamiento, se puede generar más investigación que puede ser aplicable.

Entre los productos en la fase poscosecha en los que se ha realizado investigaciones en control biológico con organismos antagonistas están el aguacate (Korsten *et al.*, 1995), cítricos (Huang *et al.*, 1995; Huang *et al.*, 1993; Potjewijd *et al.*, 1995; Smilanick y Denis, 1992; Umaña, 1994), fresa (Peng y Sutton, 1991), frutales de hueso (Pusey *et al.*, 1988; Smilanick, *et al.*, 1993), mango (Fernández y Arauz, 1992), manzana (McLaughlin *et al.*, 1990; Janisiewicz *et al.*, 1994), pera (Chand-Goyal, y Spotts, 1996; Sugar *et al.*, 1994) y papa (Pratella y Mari, 1993).

De los primeros antagonistas investigados han sido los hongos como *Trichoderma*, luego las bacterias y últimamente se le ha estado dando énfasis a las levaduras.

Los organismos antagonistas a patógenos pueden actuar ya sea produciendo antibióticos, compitiendo por nutrientes y/o por espacio, induciendo resistencia o por parasitismo directo (Wisniewski y Wilson, 1992). El conocimiento del mecanismo de acción es la base que permite seleccionar el antagonista de mayor interés y el método más adecuado de aplicación.

Se han empleado dos formas básicas en el control biológico con antagonistas, una es usando y manejando la microflora beneficiosa que se desarrolla sobre el fruto, y la otra consiste en introducir un organismo de otro sitio.

Las experiencias en Costa Rica con este tipo de control son muy recientes. Fernández y Arauz (1992) aislaron un *Bacillus* de la superficie del mango, el cual al ser inoculado simultáneamente con *Colletotrichum gloeosporioides* sobre el medio PDA, inhibió el crecimiento del hongo. Cuando el antagonista fue inoculado 2 días después que el hongo, lo que se observó

fue una zona de inhibición de crecimiento del hongo. El comportamiento *in vitro* se reflejó al aplicar el tratamiento en frutos, donde el desarrollo de la antracnosis se disminuyó al aplicar la bacteria 6 horas antes de inocular el hongo, mientras que no se encontró ningún efecto cuando el antagonista se aplicó 6 horas después que *Colletotrichum*.

Con el objetivo de identificar un antagonista para el combate de la pudrición estilar en naranja causada por *Alternaria* spp., Umaña (1994) seleccionó levaduras provenientes de aislamientos o de lavados de la corteza de frutos de naranja. Estos organismos no presentaron ningún efecto *in vitro* sobre el crecimiento de *Alternaria*. Sin embargo, se observó que al hacer aplicaciones de levaduras 24 horas antes, o durante la inoculación del patógeno, el tamaño de la lesión disminuyó. Uno de los aislados, el D, fue el más eficiente y fue recuperado en todos los lavados que se hicieron durante el desarrollo del fruto. La aplicación de la levadura 24 horas después de que se inoculó el patógeno, no tuvo ningún efecto, lo que resulta poco prometedor para el uso de este organismo para el control biológico de *Alternaria* en poscosecha, pues la mayoría de las infecciones que este hongo produce, se inician en el campo y se manifiestan en poscosecha; una posibilidad de utilización de esta levadura podría ser la aplicación en el campo durante las etapas de mayor susceptibilidad a la infección como son la floración y fruto pequeño.

A pesar de los numerosos trabajos en control biológico con antagonistas, son muy pocos los que se están empleando a nivel comercial, debido a varias razones, la primera, más económica, está relacionada con los altos costos de inscripción de un producto, que en este caso, hasta ahora han resultado muy específicos en el control de patógenos, sin embargo, se aduce que en el caso de lograrse mezclas de organismos que amplíen el rango de acción contra un mayor número de patógenos, y de continuar con las pocas alternativas de fungicidas para ser usados en poscosecha, este inconveniente se podría superar. La otra causa, después de superada la primera, se podría presentar con los consumidores, los que tendrían que ser informados sobre esta nueva alternativa de control, que no se aleja mucho de procesos en los que participan microorganismos y con los que siempre ha estado familiarizada la humanidad, como son el uso de levaduras para hacer pan y la fermentación de bebidas como el vino.

El control biológico con antagonistas se vislumbra como una alternativa en el manejo integrado de enfermedades en poscosecha a mediano plazo.

4. LITERATURA CITADA

- Betrand, P.F. y L. Sulie-Carter. 1978. The occurrence of benomyl-tolerant strains of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* in the mid-Columbia region of Washington. *Plant Disease Rep.* 62:302-302.
- Carman, G.E. 1977. Pesticide regulations affecting citrus in international trade. *Proc. Int. Soc. Citri culture* 1: 1293-1296
- Chand-Goyal, T. y Spotts, R.A. 1996. Control of postharvest pear diseases using natural saprophytic yeast colonists and their combination with a low dosage of thiabendazole. *Postharvest Biology and Technology* 7:51-64
- Dixon, R.A. 1986. The phytoalexin response: elicitation, signalling and control of host gene expression. *Biol. Rev.* 61:239-291
- Droby, S.; Chalutz, E.; Wilson, C.L. y Wisniewski, M.E. 1992. Biological control of postharvest diseases: a promising alternative to the use of synthetic fungicides *Phytoparasitica* 20: Suppl. 149-153
- Droby, S.; Prusky, D.; Jacoby, B. y Goldman, A. 1986. Presence of an antifungal compounds and its relation in the latency of *Alternaria alternata* in unripe peel of mango fruits. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 25: 173-183
- Droby, S.; Prusky, D.; B. y Goldman, A. 1987. Induction of antifungal resorcinols in flesh of unripe mango fruits and its relation to latent infection by *Alternaria alternata*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 30: 285-292
- Eckert, J.W. 1979. Patología de la postrecolección. En: Fisiología de la postrecolección, manejo y utilización de frutas y hortalizas tropicales y subtropicales. Ed. E.R. Pantástico. Editorial Continental México
- El Ghaoth, A.; Arul, J.; Grenier, J. y Asselin, A. 1992. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. *Phytopathology* 82(4):398-402
- Fernández, A.V. y Arauz, L.F. 1992. Reduction of mango anthracnose by *Bacillus* sp. En: IV International Mango Symposium. Miami Beach, Florida, U.S.A. July 5-10. Poster.
- Gullino, M.L.; Migheli, Q. y Mezzalama, M. 1995. Risk analysis in the release of biological control agents. *Plant Disease* 79 (12): 1193-1199
- Huang, Y.; Deverall, B.J. y Morris, S.C. 1995. Postharvest control of green mould on oranges by a strain of *Pseudomonas glauhi* and enhancement of its biocontrol by heat treatment. *Postharvest Biology and Technology* 5:129-137
- Huang, Y.; Deverall, B.J.; Morris, S.C. 1995. Biocontrol of postharvest orange diseases by a strain of *Pseudomonas cepacia* under semi-commercial conditions. *Postharvest Biology and Technology* 3:293-304
- Janisiewicz, W. 1988. Biological control of diseases of fruits. En: *Biocontrol of plant diseases*. Eds. J.G. Mukerji y K.L. Garg. CRC Press. Florida. Vol. 2.
- Janisiewicz, W.; Peterson, D.L. y Bors, R. 1994. Control of storage decay with *Sporobolomyces roseus*. *Plant Dis.* 78 (5):466-470
- Korsten, L.; De Jager, E.S.; De Villiers, E.E.; Lourens, A.; Kotzé, J.M. y Wehner, F.C. 1995. Evaluation of bacterial epiphytes isolated from avocado leaf and fruit surfaces for biocontrol of avocado postharvest diseases. *Plant Dis.* 79:1149-1156
- Mc Laughlin, R. J.; Wilson, C.L.; Droby, S.; Ben-Arie, R. y Chalutz, E. 1992. Biological control of postharvest diseases of grape, peach, and apple with the yeasts *Kloeckera apiculata* and *Candida guilliermondii*. *Plant Disease* 76 (5): 470-473.
- McLaughlin, R.J., Wisniewski, M.E., Wilson, C.L. y Chalutz, E. 1990. Effect of inoculum concentration and salt solutions on biological control of postharvest diseases with *Candida* sp. *Phytopathology* 80 (5):456-461
- Metraux, J.P.; Singer, H.; Ryals, J.; Ward, E.; Wyss-Benz, M.; Gaudin, J.; Raschdorf, E.; Schmid, E.; Blum, W. y Verardi, B. 1990. Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science* 250: 1004-1006
- Patil, R.K.; Patel, K.D.; Sharma, A. y Pathak, V.N. 1992. Inhibitory effect of *Ocimum sanctum* extract on fruit rot fungi. 1992. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology* 22(2):199-200
- Peng, G. y Sutton, J.C. 1991. Evaluation of microorganisms for biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry. *Can. J. Plant Pathol.* 13:247-257
- Potjewijd, R.; Nisperos, M.O.; Burns, J.K.; Parish, M. y Baldwin, E.A. 1995. Cellulose-based coatings as carriers for *Candida guilliermondii* and *Debaryomyces* sp. in reducing decay of oranges. *HortScience* 30(7):1417-1421
- Pratella, G.C. y Mari, M. 1993. Effectiveness of *Trichoderma*, *Gliocladium* and *Paecilomyces* in postharvest fruit protection. *Postharvest. Biol. Technol.* 3:49-56
- Prusky, D., Arauz, F.; Freeman, S. 1994. Biological control of quiescent infected pathogens in avocado and mango fruits by non-pathogenic *Colletotrichum* strains. Propuesta de Investigación Costa Rica -Israel. CIPROC, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica
- Prusky, D. 1988. The use of antioxidants to delay the onset of anthracnose and stem end decay in avocado fruits after harvest. *Plant Disease* 72: 381-384
- Prusky D., Freeman, S., Rodríguez, R. y Keen, N. 1994. A nonpathogenic mutant strain of *Colletotrichum magna* induce resistance to *Colletotrichum gloeosporioides* in avocado fruits. *Molecular Plant-Microbe Interactions*: 7(3): 326-333
- Prusky, D. y Keen, N.T. 1993. Involvement of preformed antifungal compounds in the resistance of subtropical fruits to fungal decay. *Plant Disease* 77: 114-119
- Prusky, D.; Keen, N.T.; Sims, J.J. y Midland, S.L. 1982. Possible involvement of an antifungal diene in the latency of *Colletotrichum gloeosporioides* on unripe avocado fruits *Phytopathology* 72: 1578-1582
- Prusky, D.; Ohr, H.D.; Grech, N.; Campbell, S.; Kobiler, I.; Zauberman G. y Fucks, Y. 1995. Evaluation of antioxidant butylated hydroxyanisole and fungicide prochloraz for control of postharvest anthracnose of avocado fruit during storage. *Plant Dis.* 79(8):797-800
- Prusky, D., Plumbley, R.A. y Kobiler, T. 1991a. Modulation of natural resistance of avocado fruits to *Colletotrichum gloeosporioides* by CO₂ treatment. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 39:325-334

- Pusey, L.; Hotchkiss, M.V.; Dulmage, H.T.; Baumgardner, R.A.; Zehr, E.I.; Reilly, C.C. y Wilson, C.L. 1988. Pilot tests for commercial production and application of *Bacillus subtilis* (B-3) for postharvest control of peach brown rot. *Plant Disease* 72 (7):622-626
- Reuveni, R.; Agapov, V. y Reuveni, M. 1994. Foliar spray of phosphates induces growth increase and systemic resistance to *Puccinia sorghi* in maize. *Plant Pathology* 43:245-250
- Sams, C.E. 1994. Management of postharvest disease resistance in horticultural Crops: Introduction to the Colloquium. *Hort Science* 29(7): 746-747
- Scibilia, K.L. y Shain, L. 1989. Protection of American chesnut with hypovirulent conidia of *Cryphonectria* (*Endothia*) *parasitica*. *Plant Disease* 73(10):840-843
- Smilanick, J. 1992. Biological control postharvest studies. *Citrograph* 78(2): 16-19
- Smilanick, J. y Denis-Arrue, R. 1992. Control of green mold of lemon with *Pseudomonas* species. *Plant Dis.* 76(5):481-485
- Smilanick, J.; Denis-Arrue, R.; Bosch, J.R.; González, A.R.; Henson, D. y Janisiewicz, W.J. 1993. Control of postharvest brown rot of nectarines and peaches by *Pseudomonas* species. *Crop Protection* 12(7):513-520
- Spotts, R.A. y Cervantes, L.A. 1986. Populations, pathogenicity, and benomyl resistance of *Botrytis* *ssp.*, *Penicillium* *spp.*, and *Mucor piriformis* in packinghouses *Plant Dis.* 70: 106-108
- Sugar, D.; Roberts, R.G.; Hilton, R.J.; Righetti, T.L. y Sánchez, E.E. 1994. Integration of cultural methods with yeast treatment for control of postharvest fruit decay in pear. *Plant Dis.* 78 (8):791-795
- Umaña, G. 1994. Especies de *Alternaria* de los frutos cítricos, aspectos taxonómicos, evolutivos y de control químico y biológico. Tesis M.Sc. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España. 121 p.
- Wilson, Ch.; El Ghaouth, A.; Chalutz, E.; Droby, S.; Stevenens, C.; Lu, J.; Khan, V., Anul, J. 1994. Potential of induced resistance to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Plant Disease* 78: (9): 837-844
- Wilson, Ch. y Pusey, L. 1985. Potential for biological control of postharvest plant diseases. *Plant Disease* 69 (5): 375-378
- Wilson, Ch., Wisniewski, M.E. 1989. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: an emerging technology. *Annu. Rev. Phytopathol.* 27: 425-441
- Wisniewski, M.E. y Wilson Ch. 1992. Biological control of postharvest diseases of fruit and vegetables: recent advances. *Hort Science* 27 (2): 94-98