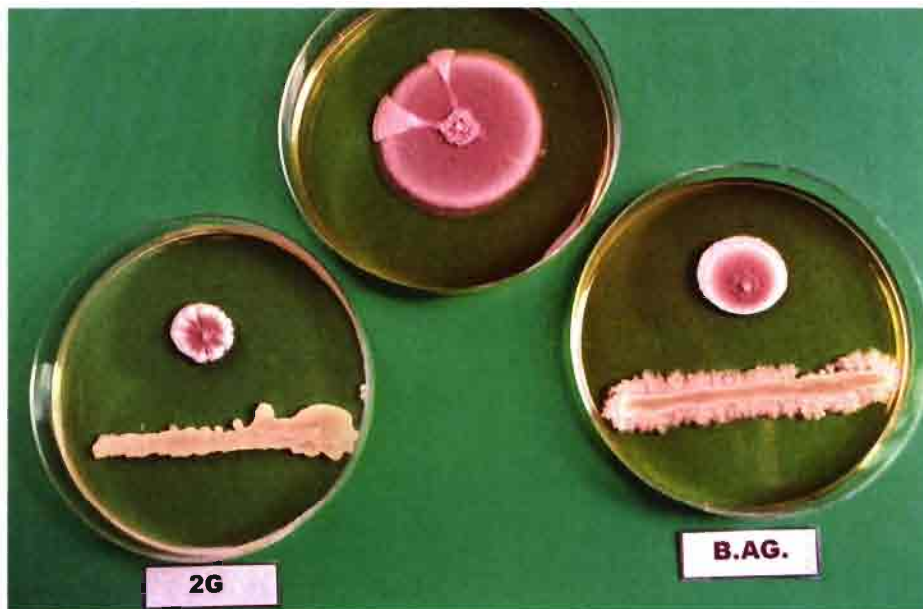


Medidas para conservar fruta y hortalizas

Control biológico postcosecha

Una de las herramientas más promisorias del control biológico postcosecha es el uso de microorganismos antagonistas, que compiten con los patógenos por espacio y nutrientes. Desde Uruguay nos llega la presente contribución



Silvana Vero Méndez

Facultad de Química, Montevideo, Uruguay
svero@bilbo.edu.uy

Pedro Mondino

Unidad de Ecología y Protección Vegetal, Facultad de Agronomía.
pmond@fagro.edu.uy

Bacterias creciendo en medio de cultivo provocan inhibición de crecimiento de *Penicillium expansum* (placas inferiores).

evalúa en un solo punto de la cadena que recorren los alimentos. Generalmente las mediciones se realizan en el momento de salida de cámaras, pero existen pérdidas posteriores en los comercios, restaurantes y en los hogares en donde se preparan finalmente los alimentos con esos productos (Wilson et al 1994).

Las causas de las pérdidas postcosecha son de orden fisiológico y patológico. Para controlar las enfermedades se recurre en general a cuidadosas prácticas de manejo de la fruta durante la cosecha y el almacenamiento. Por un lado se trata de minimizar las heridas en los frutos, ya que éstas constituyen la vía de entrada para la mayoría de los patógenos. Por otra parte, mediante la desinfección de las plantas de empaque y envases se pretende reducir al mínimo los niveles de inóculo. Sin embar-

go, todas estas medidas no son suficientes para controlar el desarrollo de patógenos, por lo que se recurre entonces a la aplicación de fungicidas sintéticos, mediante baños o por aspersión.

Existe un número reducido de principios activos disponibles para su uso como fungicidas en postcosecha, lo que limita las posibilidades de realizar un manejo de los mismos que evite la selección de genotipos resistentes. Numerosos informes refieren la aparición de cepas de los patógenos resistentes a los principios activos utilizados en la postcosecha (Jones & Aldwinckle 1990, de los Santos et al 1990, Rosenberger & Meyer 1981, Latorre 1989). Por otro lado, la aplicación de fungicidas postcosecha está siendo objeto de numerosas restricciones en varios países. Existe una fuerte presión por parte de los consumidores exigiendo la limitación del uso de estos productos por razones toxicológicas y ambientales (Wilson et al 1994).

Ya en el año 1987 un estudio realizado por la National Academy of Sciences (NAS) reportaba que 9 compuestos oncogénicos abarcaban el 90 % de todas las ventas de fungicidas. El mismo informe indicaba también que a los fungicidas se les puede atribuir el 60% del riesgo de contraer cáncer entre todos los pesticidas usados en los alimentos (Wilson & Wisniewski 1989).

Esto lleva a un proceso de eliminación progresiva de los fungicidas autorizados para su uso en la postcosecha. Se suma a esto la falta de nuevos principios activos que reemplacen a los anteriormente eliminados. La situación descrita obliga a la investigación y desarrollo de métodos de control alternativos y/o complementarios al control químico (Wilson et al 1994). Una alternativa es el control biológico.

Control biológico

En un sentido amplio y según la definición de Cook y Baker, el control biológico involucraría todas aquellas prácticas tendientes a disminuir la incidencia de enfermedades excluyendo el control químico. En este artículo nos referiremos al control biológico en un sentido más restringido como el uso de microorganismos antagonistas que interfieren en la supervivencia de patógenos o en el desarrollo de actividades determinantes de enfermedad.

Pérdidas postcosecha en frutas. Métodos de control

Las enfermedades de postcosecha de frutas y hortalizas son una de las mayores causas de pérdidas en la producción de alimentos. Según estimaciones realizadas en EEUU estas pérdidas se sitúan en aproximadamente el 24% de las frutas y hortalizas cosechadas, mientras que en países subdesarrollados alcanzan valores muy superiores (Wilson et al 1994). En Chile se han estimado pérdidas postcosecha de incluso el 45-50% de la producción (Morales 1989). Estos valores están subestimados, ya que generalmente se

En la naturaleza existe una interacción continua entre los potenciales patógenos y sus antagonistas, de forma tal que estos últimos contribuyen a que no haya enfermedad en la mayoría de los casos; es decir, el control biológico funciona naturalmente. (Cook & Baker 1983).

En condiciones naturales los microorganismos están en un equilibrio dinámico en la superficie de las plantas. La disminución de la flora de competencia por prácticas agrícolas como lavado de frutos, aplicación de fungicidas, y desinfección de suelos entre otras, favorecen el desarrollo de los patógenos (Rollán et al 1998).

La existencia de flora saprofítica en la superficie de las frutas capaz de controlar patógenos de postcosecha fue demostrada por Chalutz y Wilson, luego de observar que frutos de citrus que habían sido cuidadosamente lavados con agua antes de ser almacenados presentaban mayor incidencia de podredumbre que aquellos almacenados sin lavar (Chalutz & Wilson 1989).

ción es una característica a seleccionar en un antagonista. Esto se debe a que los riesgos de seleccionar al patógeno por resistencia al antagonista se reducen al actuar éste último por varios mecanismos. El riesgo de resistencia se reduce también mediante el uso de combinaciones de antagonistas de diferente modo de acción.

Se han descrito varios mecanismos de acción de los antagonistas para controlar el desarrollo de patógenos sobre fruta. Ellos son: antibiosis, competencia por espacio o por nutrientes, interacciones directas con el patógeno (micoparasitismo, lisis enzimática), e inducción de resistencia (Cook and Baker 1983).

Antibiosis

Se refiere a la producción por parte de un microorganismo de sustancias tóxicas para otros microorganismos, las cuales actúan en bajas concentraciones (menores a 10 ppm.). La antibiosis es el mecanismo de antagonismo entre microorganismos más estudiado.

sante de la agalla de corona de las plantas) resistentes al Agrosin 84, un antibiótico producido por una cepa de *Agrobacterium radiobacter* (Campbell 1989). La antibiosis a su vez genera rechazo por parte de consumidores quienes exigen se estudie la posible toxicidad u otro tipo de daño a la salud que estos compuestos pudiesen provocar. Se ha asimilado la antibiosis como mecanismo de control biológico al uso de agroquímicos, sin embargo sus defensores alegan que no se puede comparar la liberación de una sustancia a escala microbiana con el uso masivo de agroquímicos.

Competencia

Otro de los posibles mecanismos de acción antagónica es la competencia. Se puede definir competencia como el desigual comportamiento de dos o más organismos ante un mismo requerimiento, siempre y cuando la utilización del mismo por uno de los organismos reduzca la cantidad disponi-



Protección de heridas en frutos por cepas de levaduras. Las heridas sin tratamiento (izquierda) desarrollaron la podredumbre característica de *Penicillium expansum*.

Mecanismos de acción de los antagonistas

No es fácil determinar con precisión los mecanismos que intervienen en las interacciones entre los antagonistas y los patógenos sobre la planta o en las heridas. En general los antagonistas no tienen un único modo de acción y la multiplicidad de modos de ac-

ción es deseable que la antibiosis no sea el principal mecanismo de acción de un antagonista. Esto se debe a que, al igual que cuando se usan fungicidas sintéticos, existe el riesgo de aparición de cepas del patógeno resistentes al antibiótico. El antecedente más notorio ha sido el caso de la aparición de cepas de *Agrobacterium tumefaciens* (cau-

Generalmente un mismo antagonista presenta distintos modos de acción, de modo que puede superar los mecanismos de defensa que desarrollan los patógenos

ble para los demás. Un factor esencial para que exista competencia es que haya «escasez» de un elemento; si hay exceso no hay competencia. La competencia más común es por nutrientes, oxígeno o espacio. *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum* son dos hongos de postcosecha típicamente dependientes de los nutrientes. Son hongos necrotróficos y sus esporas requieren de nutrientes exógenos para poder germinar y comenzar el crecimiento de las hifas antes de penetrar al sustrato. Esos nutrientes los encuentran en las heridas de las frutas y es allí donde la competencia microbiana actúa inhibiendo el desarrollo de estos hongos. Droby y colaboradores estudiaron el mecanismo de antagonismo de una cepa de *Pichia guilliermondii* cuando se

NO ESPERAR EL FRÍO...

CONFÍA EN LOS ESPECIALISTAS DEL CALOR

STIAL

HELIOS

Generadores de aire caliente móviles
(con ruedas) a gas o gasóleo



ARGOS

Generadores de aire caliente
portátiles a gas propano



AIRFARM
TODO EN ACERO
INOXIDABLE

MIRAGE

Generadores de
aire caliente con
ruedas a gasóleo



KID

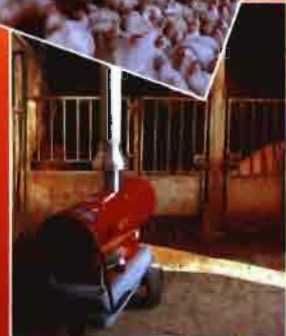
Generadores
de aire caliente
portátiles
a gas propano



GENERADORES DE AIRE CALIENTE A GAS Y A GASÓIL



TODO EN ACERO
INOXIDABLE



DOMINO

Generadores de aire caliente
en versión colgante
a gas y a gasóleo



SINCERT

UNI EN ISO 9002 (ISO 9002)



DNV

Sistema Qualità Certificato

En los dos últimos años, no sólo hemos trabajado para una mejora en nuestros productos, sino que también en el compromiso de conseguir un nuevo objetivo importante: la certificación de **la calidad de nuestro sistema productivo** conforme a la normativa **Uni En Iso 9002**.



BEL IMPORT 2000, S.L.

aplica sobre heridas de pomelos para controlar el ataque por *Penicillium digitatum*, en dicho trabajo concluyen que la competencia por nutrientes es uno de los mecanismos mediante los cuales se logra un efectivo control del patógeno en las heridas (Droby et al. 1987).

La competencia por espacio también ha sido reportada; Wilson y colaboradores mencionan que las levaduras son efectivas colonizadoras de la superficie de plantas y destacan la producción de materiales extracelulares (en especial polisacáridos) que restringen el espacio para la colonización por otros microorganismos (Wilson et al. 1996).

Interacción directa con el patógeno

Existen dos tipos de interacciones directas entre los antagonistas y los patógenos. Ellas son el parasitismo y la predación.

Parasitismo

El término parasitismo se refiere al hecho de que un microorganismo parasite a otro. Puede ser definido como una simbiosis antagónica entre organismos. El parasitismo consiste en la utilización del patógeno como alimento por su antagonista. Generalmente se ven implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas, celulasas, (β -1-3-glucanasas y proteasas que lisan las paredes de las hifas, conidios o esclerotos. (Malgarejo 1989, Ulhoa 1996).

Los ejemplos más conocidos de hongos hiperparásitos son *Trichoderma* y *Gliocladium*. Ambos ejercen su acción mediante varios mecanismos entre los que juega un rol importante el parasitismo. Hongos del género *Trichoderma* han sido muy estudiados como antagonistas de patógenos de suelos como *Rizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Sclerotium cepivorum* y existen varias formulaciones comerciales desarrolladas a partir de ellos (Fravel 1998).

Predación

En el caso de la predación el antagonista se alimenta de materia orgánica entre la cual ocasionalmente se encuentra el patógeno. No ha sido un mecanismo de acción muy importante en el desarrollo de agentes de biocontrol. Los reportes más conocidos citan la

presencia de amebas en suelos supresores de enfermedades las cuales se alimentan de las hifas de hongos patógenos entre otras fuentes de alimento (Campbell 1989).

Inducción de resistencia

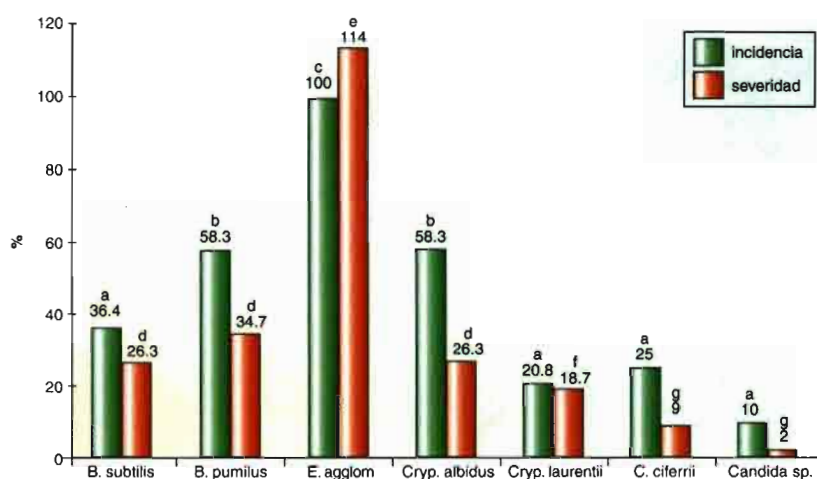
Las plantas, como otros seres vivos del planeta, han pasado por un proceso evolutivo desde su aparición sobre la tierra, lo que les llevó a desarrollar mecanismos de defensa muy poderosos contra sus invasores. De esta forma se acostumbra a postular que la resistencia es la regla mientras que la susceptibilidad es la excepción. Si elegimos

(producto de la deacetilación de la quitina), y también mediante el uso de microorganismos antagonistas. Se ha demostrado que levaduras utilizadas para el biocontrol de patógenos de postcosecha además de competir por espacio y nutrientes son capaces de inducir resistencia en la planta. Tal es el caso de *Pichia guilliermondii* (US-7), la cual se ha mostrado ser inductora de la producción de fitoalexinas en frutos cítricos (Wilson et al 1994).

Control biológico de enfermedades

La postcosecha presenta características propias favorables al desarrollo

Figura 1:
Incidencia de la podredumbre azul en heridas de manzana



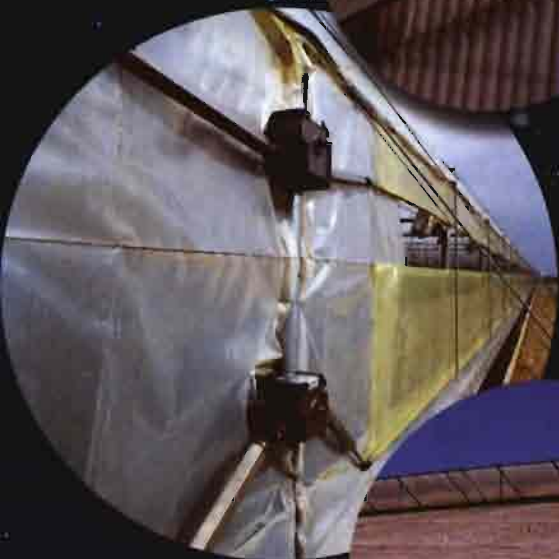
Incidencia y severidad de la podredumbre azul ocasionada por *P. expansum* en heridas de manzana inoculadas previamente con las diferentes cepas antagonistas (24°C). El valor de 100% corresponde a la incidencia y severidad en las heridas inoculadas solamente con el patógeno. Barras con la misma letra no son significativamente diferentes (LSD, (=0,05)

una planta cualquiera y comparamos el inmenso número de microorganismos que existe en su entorno sobre la tierra con el limitado número de microorganismos patógenos de ella debemos concluir que esto es así. Las plantas presentan entonces mecanismos bioquímicos y físicos o estructurales de resistencia. Todos ellos gobernados genéticamente.

Se puede inducir resistencia en productos cosechados mediante el uso de diferentes inductores como bajas dosis de luz ultravioleta, compuestos naturales de las plantas como quitosano

y aplicación práctica de métodos de control biológico. Se trata de un ambiente reducido, donde los antagonistas pueden ser aplicados fácilmente sobre los frutos, utilizando las mismas instalaciones que se emplean para los tratamientos con fungicidas. Las condiciones controladas del ambiente de almacenamiento permiten superar el mayor inconveniente que ha tenido el desarrollo de productos biológicos, como lo es el traslado de los resultados de laboratorio a las condiciones de campo. En este caso las condiciones en que se realizan los ensayos de laboratorio se

AGROCOMPONENTES DEL INVERNADERO



<http://www.agrocomponentes.es>

**SISTEMAS DE VENTILACIÓN
AUTOMATISMOS
PANTALLAS TÉRMICAS Y MALLAS**




agrocomponentes

Ctra. Los Alcázares, Km. 2
30700 TORRE PACHECO (Murcia)
Tels.: 968 58 57 76 / 58 55 52 - Fax: 968 58 57 70
e-mail: info@agrocomponentes.es
e-mail: comercial@agrocomponentes.es
e-mail: admon@agrocomponentes.es

aproximan mucho a las existentes en las cámaras, disminuyendo así el número de fallos al pasar del laboratorio al campo. Según Wilson y Wisniewski, es fácil dominar a los patógenos con antagonistas en el ambiente de postcosecha debido a que la biomasa que debemos proteger se encuentra concentrada y en condiciones de ambiente controlado (Wilson & Wisniewski, año 1992).

Los productos cosechados tienen un alto valor agregado lo que determina la viabilidad de métodos de control más elaborados que no serían económicamente aplicables a campo (Wilson & Wisniewski 1992).

simples y de bajo costo para una económica producción en gran escala (Valdebenito-Sanhueza 1998).

En la actualidad existen en el mercado varias formulaciones comerciales para control biológico de patógenos postcosecha en frutas. Algunas de ellas pueden ser encontradas en la página web perteneciente al *Biocontrol Plant Diseases Laboratory* (Fravel 1998). En dicha página web se pueden encontrar hasta 35 formulaciones comerciales sobre la base de bacterias, levaduras u hongos filamentosos, destinados a controlar distintos patógenos de plantas y este número se actualiza permanentemente.

cepas de bacterias y levaduras capaces de controlar el moho azul sobre heridas en frutos de manzana. Se han estudiado los mecanismos mediante los cuales estos antagonistas ejercen su acción y se han determinado las concentraciones óptimas de aplicación.

Para la selección de microorganismos antagonistas se han realizado ensayos de biocontrol del moho azul en heridas de manzanas. La determinación de la capacidad antagonista de las cepas bacterianas y de levaduras aisladas de manzanas se realizó de la siguiente manera: Se practicaron 4 heridas equatoriales en diez manzanas sanitizadas superficialmente. Dos de las heridas se

Figura 2:
Incidencia del ataque del patógeno a heridas de manzana en presencia de diferentes antagonistas

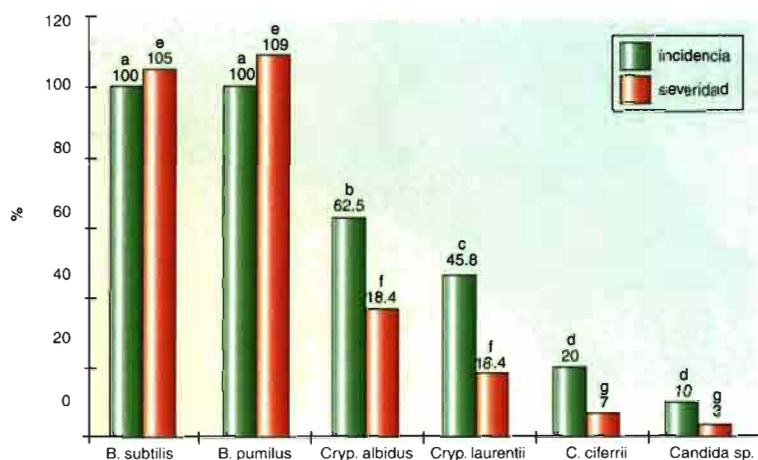


Gráfico II Incidencia y severidad del ataque del patógeno a heridas de manzana en presencia de los diferentes antagonistas (5°C). El valor de 100% corresponde a la incidencia y severidad en las heridas inoculadas solamente con el patógeno. Barras con la misma letra no son significativamente diferentes (LSD, (=0,05)

Valdebenito-Sanhueza cita algunas de las características deseables de un agente de biocontrol de enfermedades postcosecha en frutos. Entre ellas destacan las siguientes:

- a - no producir metabolitos tóxicos para el hombre u otros organismos benéficos,
- b - no desarrollarse a la temperatura del cuerpo humano,
- c - mantener constante la eficiencia de control, y
- d - tener gran capacidad de multiplicación y utilización de sustratos

Control biológico en Uruguay

El control biológico de enfermedades de postcosecha es una alternativa posible. Así lo ha demostrado el primer proyecto desarrollado en Uruguay de Control Biológico de Enfermedades de Manzana financiado por International Foundation for Science (IFS). En el marco del mismo se han aislado microorganismos antagonistas de la superficie de frutos de manzana Red Delicious provenientes de montes de manejo orgánico y convencional. Se han seleccionado, identificado y caracterizado

En el primer proyecto desarrollado en Uruguay de control biológico de enfermedades de manzana se aislaron microorganismos antagonistas en la superficie de estos frutos

inocularon con una suspensión del antagonista en suero fisiológico del orden de 108 ufc/ml. Las otras dos heridas, tomadas como testigos, se inocularon solamente con suero fisiológico. Después de 24 horas a 24°C todas las heridas se inocularon con suspensión de conidias de patógeno. Los frutos así tratados fueron colocados en cajas de plástico con humedad a saturación e incubadas a 24°C o 5°C. Luego del período de incubación las heridas se examinaron y se registró presencia o ausencia de podredumbre y se midieron los diámetros de las zonas afectadas. Se registraron dos parámetros; porcentaje de incidencia y porcentaje de severidad definidos en la figura 3.

La incidencia de moho azul en las heridas control (sin antagonista) fue del 100%, mientras que en las tratadas con antagonistas se evitó la aparición de los síntomas.

Las gráficas que acompañan al texto muestran los resultados de los ensayos en fruto a 24°C y a 5°C. Las tres cepas bacterianas utilizadas (*B. subtilis*, *B. pumilus* y *E. agglomerans*) pro-

Ellas las prefieren Meto

Las etiquetas Meto son ideales para el etiquetado de fruta. Su adhesivo especial para uso alimentario se aplica muy fácilmente a cualquier tipo de superficie húmeda o rugosa. Así que la fruta siempre tiene un aspecto atractivo y esto aumenta las ventas. ¿Y para etiquetarlas?, nada mejor que la Aplicadora Semiautomática Dix, que se adapta a cada necesidad.

Ahora existe una alternativa al etiquetado de frutas tradicional. Meto ha diseñado este sistema de etiquetaje para que usted obtenga el máximo beneficio, con toda libertad. Compruébelo, llámenos y le explicaremos sin compromiso alguno por su parte cómo hacer que su fruta sea la que se acabe antes. Ellas las prefieren Meto ¿Y usted?



La aplicadora semiautomática Dix es la solución ideal para el etiquetaje de fruta. Ahora ya no está obligado a utilizar un sistema complejo, Meto le ofrece la solución definitiva para etiquetar sus frutas.

METO

The Labelling Company

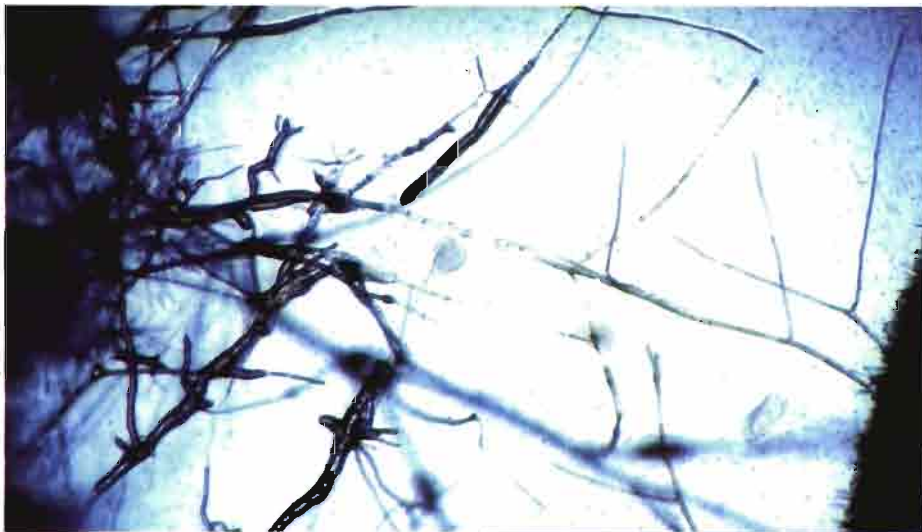
902 30 62 30 Línea directa

Orió, 1
08228 Terrassa
Barcelona

Internet:
<http://www.meto.es>
Email: info@meto.es



Meto es titular desde el año 1998 de los certificados ISO 9002 de calidad y 14001 de medio ambiente.



dujeron inhibición del crecimiento del patógeno en placas de cultivo dual, debido a la producción de sustancias antifúngicas. A pesar de ello no resultaron buenos antagonistas en fruto. En algunos casos la severidad de los síntomas fue mayor que en las heridas control. Lo cual destaca la importancia de realizar los ensayos de biocontrol en el verdadero sitio de acción.

La cepa (*Candida* sp) que dio mayor protección a ambas temperaturas de incubación no pudo ser identificada a nivel de especie y además su temperatura óptima de crecimiento fue de 37°C (temperatura del cuerpo humano). A pesar de su alta capacidad antagónica no será tomada en cuenta hasta su identificación precisa y descartar cualquier posibilidad de que se trate de una



Hifas de *Sclerotinia sclerotiorum* afectadas por la presencia de *Penicillium rugulosum*, un hongo antagonista. En contraste con las hifas normales las hifas afectadas se engrosan, ramifican y finalmente son destruidas por la acción de enzimas liberadas por el antagonista.

La incidencia de moho azul en las heridas sin antagonista fue del 100 %, mientras que en las heridas tratadas con antagonistas se evitó la aparición de los síntomas

especie patógena para el ser humano.

Los antagonistas seleccionados fueron las cepas de levadura *Cryptococcus laurentii* y *Candida ciferrii*. Se demostró que éstas no producen antibióticos y que compiten por los nutrientes en las heridas de los frutos im-

pidiendo la colonización de las mismas por parte del patógeno. En ensayos posteriores se determinó que el principal mecanismo de acción involucraba la competencia por la fuente de nitrógeno presente en las heridas. Cepas de *Cryptococcus laurentii* ya han sido descritas como agentes de biocontrol en postcosecha. La cepa aislada es incapaz de crecer a 37°C, lo cual aumenta su potencial bioseguridad.

En este momento se está realizando un ensayo en cámaras comerciales con los dos antagonistas seleccionados. Se registrará la incidencia de moho azul en frutos tratados con dichos antagonistas y se comparará con la incidencia en frutos sin tratar y tratados con fungicidas sintéticos. Trabajos anteriores muestran concordancia entre ensa-

Como medir el daño

$\% \text{ incidencia} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de heridas afectadas}}{\text{n}^\circ \text{ de heridas totales}} \times 100$

$\% \text{ de severidad} = \frac{\text{DLA}}{\text{DLC}} \times 100$

DLC = Diámetro promedio de las lesiones de las heridas control

DLA = Diámetro promedio de las lesiones de las heridas tratadas

Diámetro de la lesión = Diámetro de la zona afectada - diámetro de la herida

yos a nivel comercial y de laboratorio, por lo cual se espera lograr una reducción de la incidencia de moho azul en los frutos tratados. Este trabajo es sólo el inicio de una investigación para obtener una formulación de aplicación a gran escala, que permita lograr una disminución de la incidencia del moho azul en manzanas almacenadas en cámaras frigoríficas.



Para saber más...

- La bibliografía de este artículo está publicada en Internet en:

http://www.horticom.com/tem_aut/poscosec/control.html