

PROYECTO RITECA II

**Alternativas a los fungicidas sintéticos:
biocontrol de enfermedades postcosecha en
frutas de hueso**

Dr. Jonathan Delgado Adámez



Índice

- * Introducción
- * Material y métodos
- * Resultado y discusión
- * Conclusiones





Introducción

Las pérdidas postcosecha se estiman entre **5 al 10%** cuando se usan fungicidas postcosecha y del **50%** o incluso más, cuando no son tratadas con fungicidas.





Introducción

La aplicación de fungicidas sintéticos es cada vez más reducida debido a factores tales como:

- El desarrollo de resistencia por parte de los patógenos a los fungicidas.
- La falta de fungicidas de reemplazo.
- La percepción pública negativa respecto a la seguridad de los plaguicidas.
- Las consiguientes restricciones en el uso de estos.





Introducción

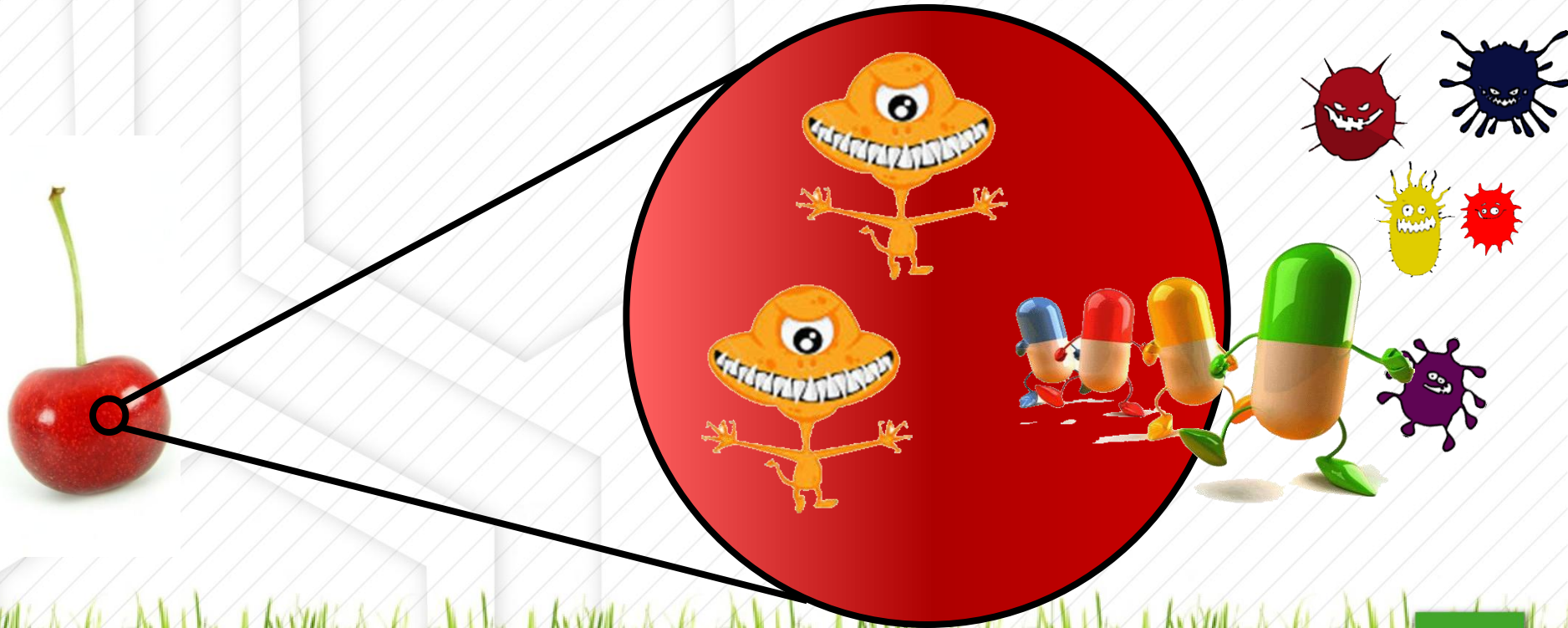
Los **microorganismos antagonistas** son Bacterias, Levaduras y hongos que tienen la capacidad de ejercer un efecto de control biológico sobre diferentes patógenos postcosecha y se emplean para controlar diversas enfermedades en frutas y vegetales.





Introducción

Mecanismos de Acción: **ANTIBIOSIS**



COOPERACIÓN TRANSFRONTERIZA
ESPAÑA - PORTUGAL
COOPERAÇÃO TRANSFRONTEIRICA



Unión Europea
FEDER
Invertimos en su futuro



RITECA
Red de Investigación Transfronteriza
Extremadura - Centro - Alentejo
Rede de Investigação Transfronteiriça

GOBIERNO DE EXTREMADURA
Consejería de Empleo, Empresa e Innovación

Página

6



Introducción

Mecanismos de Acción: **ANTIBIOSIS**

Bacillus subtilis → **iturina** → que inhibe el crecimiento radial y germinación del hongo *Monilinia fructicola* (Guledner et al. 1988, Pusey y Wilson 1984).

Pseudomona cepacia LT-4-12 → **pirrolnitrina** → controla a *Penicillium expansum* y *Botrytis cinerea* (Smilanick y Denis-Arrue, 1992; Janisciewicz y Roitman, 2000)

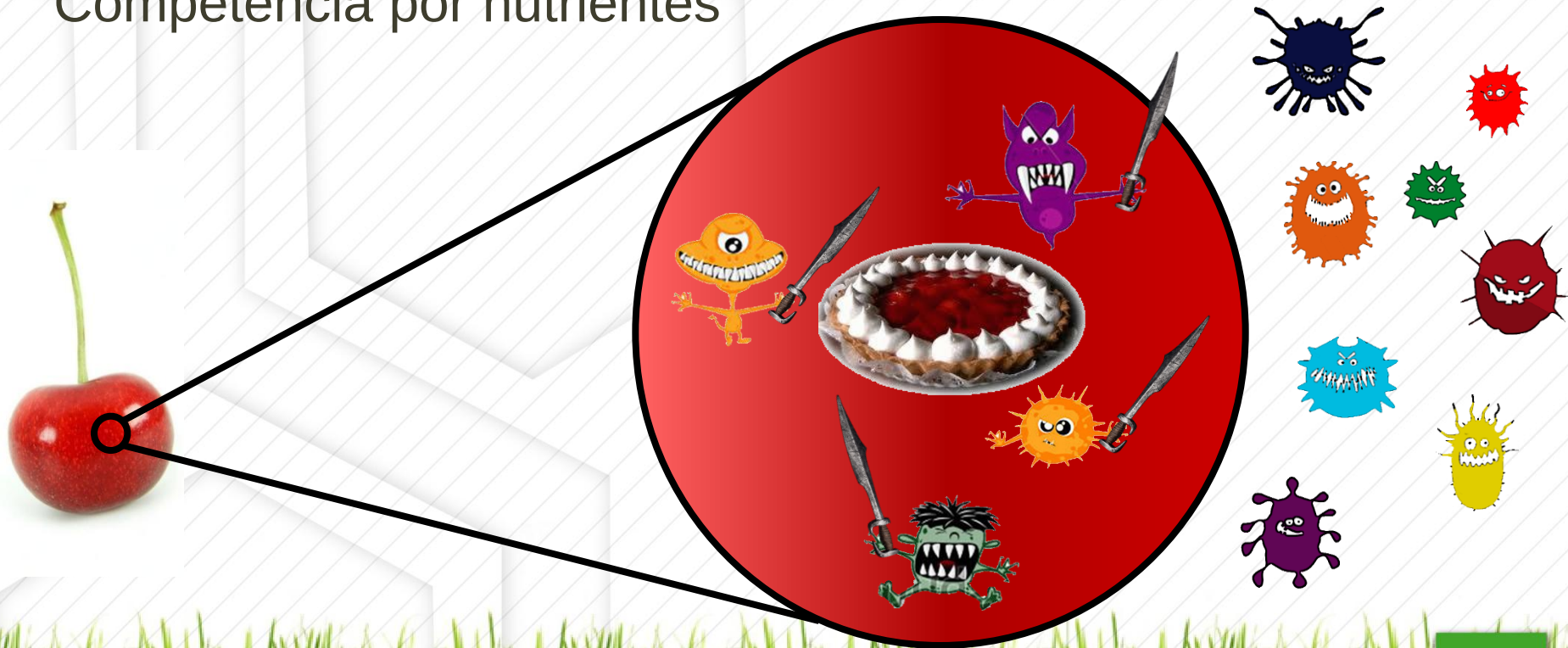
Pseudomona syringae → **siringomicina** → inhibe la germinación de *Penicillium digitatum* (Bull et al., 1998).





Introducción

Mecanismos de Acción: **COMPETENCIA**
Competencia por nutrientes



COOPERACIÓN TRANSFRONTERIZA
ESPAÑA - PORTUGAL
COOPERAÇÃO TRANSFRONTEIRICA



Unión Europea
FEDER
Invertimos en su futuro



RITECA
Red de Investigación Transfronteriza
Extremadura - Centro - Alentejo
Rede de Investigação Transfronteiriça

GOBIERNO DE EXTREMADURA
Consejería de Empleo, Empresa e Innovación

Página

8

Introducción

Mecanismos de Acción: **COMPETENCIA**
Competencia por nutrientes

Glucosa exógena

Pichia guilliermondii



Penicillium italicum

(Arras et al., 1998)



Introducción

Mecanismos de Acción: **COMPETENCIA**
Competencia por nutrientes



Contenido en azúcares

Efectividad de los antagonistas



COOPERACIÓN TRANSFRONTERIZA
ESPAÑA - PORTUGAL
COOPERAÇÃO TRANSFRONTEIRICA



Unión Europea
FEDER
Invertimos en su futuro



RITECA
Red de Investigación Transfronteriza
Extremadura - Centro - Alentejo
Rede de Investigação Transfronteiriça

GOBIERNO DE EXTREMADURA
Consejería de Empleo, Empresa e Innovación

Página

10



Introducción

Mecanismos de Acción: **COMPETENCIA**
Competencia por nutrientes



***Pseudomona cepacia* → *Penicillium digitatum*.** (El Ghaouth et al., 2002).

Candida saitoana* → *Penicillium (El Ghaouth et al., 2000).



COOPERACIÓN TRANSFRONTERIZA
ESPAÑA - PORTUGAL
COOPERAÇÃO TRANSFRONTEIRICA



Unión Europea
FEDER
Invertimos en su futuro



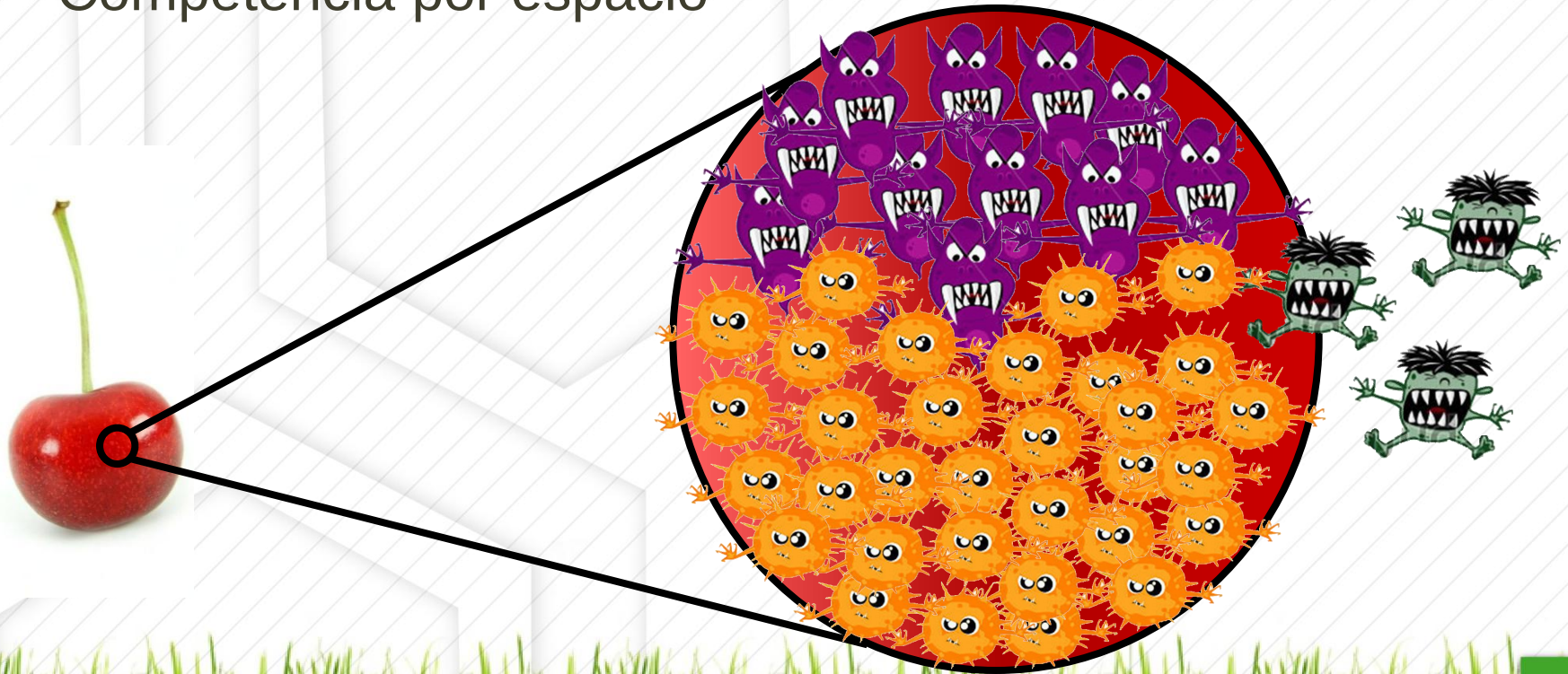
RITECA
Red de Investigación Transfronteriza
Extremadura - Centro - Alentejo
Rede de Investigação Transfronteiriça

GOBIERNO DE EXTREMADURA
Consejería de Empleo, Empresa e Innovación



Introducción

Mecanismos de Acción: **COMPETENCIA**
Competencia por espacio



COOPERACIÓN TRANSFRONTERIZA
ESPAÑA - PORTUGAL
COOPERAÇÃO TRANSFRONTEIRICA



Unión Europea
FEDER
Invertimos en su futuro



RITECA
Red de Investigación Transfronteriza
Extremadura - Centro - Alentejo
Rede de Investigação Transfronteiriça

GOBIERNO DE EXTREMADURA
Consejería de Empleo, Empresa e Innovación

Página

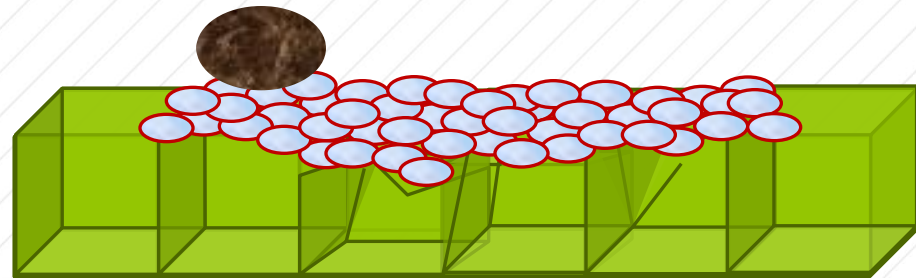
12

Introducción

Mecanismos de Acción: **COMPETENCIA**

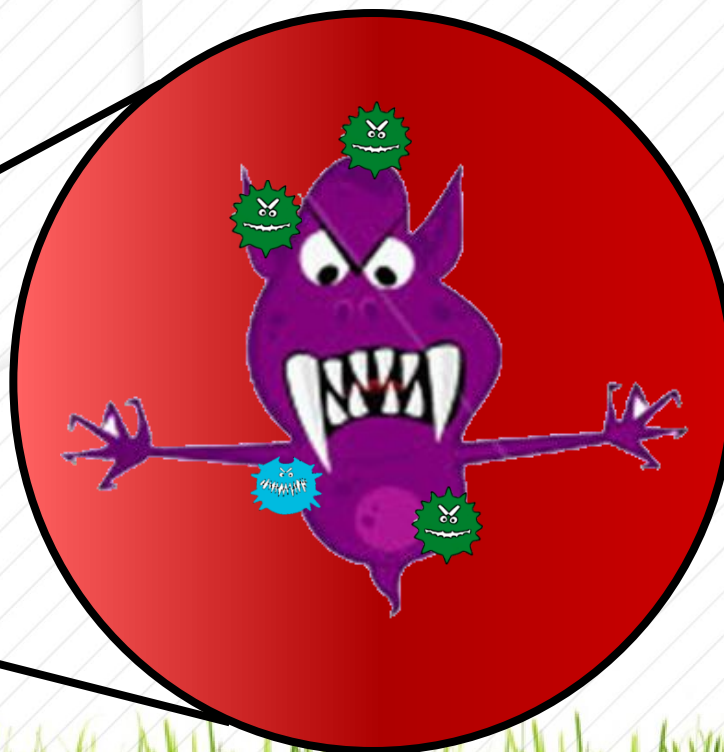
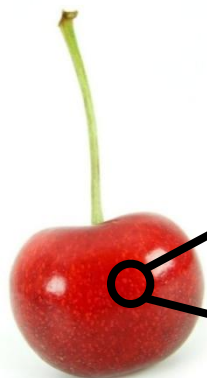
Competencia por espacio

Pichia guilliermondii, *Debaromyces hanseii*, *Cryptococcus laurentii*, y *Candida spp* se produce la formación de una red de células que cubren las células dañadas del hospedero, funcionando como una capa protectora (Droby et al., 1989 y 1993; El Ghaouth et al., 1998; Roberts, 1990).



Introducción

Mecanismos de Acción: **PARASITISMO**



COOPERACIÓN TRANSFRONTERIZA
ESPAÑA - PORTUGAL
COOPERAÇÃO TRANSFRONTEIRICA



Unión Europea
FEDER
Invertimos en su futuro



RITECA
Red de Investigación Transfronteriza
Extremadura - Centro - Alentejo
Rede de Investigação Transfronteiriça

GOBIERNO DE EXTREMADURA
Consejería de Empleo, Empresa e Innovación



Introducción

Mecanismos de Acción: **PARASITISMO**

Candida saitoana y el patógeno ***Botrytis cinerea*** (Ghaouth et al. 1998)



COOPERACIÓN TRANSFRONTERIZA
ESPAÑA – PORTUGAL
COOPERAÇÃO TRANSFRONTEIRICA



Unión Europea
FEDER
Invertimos en su futuro

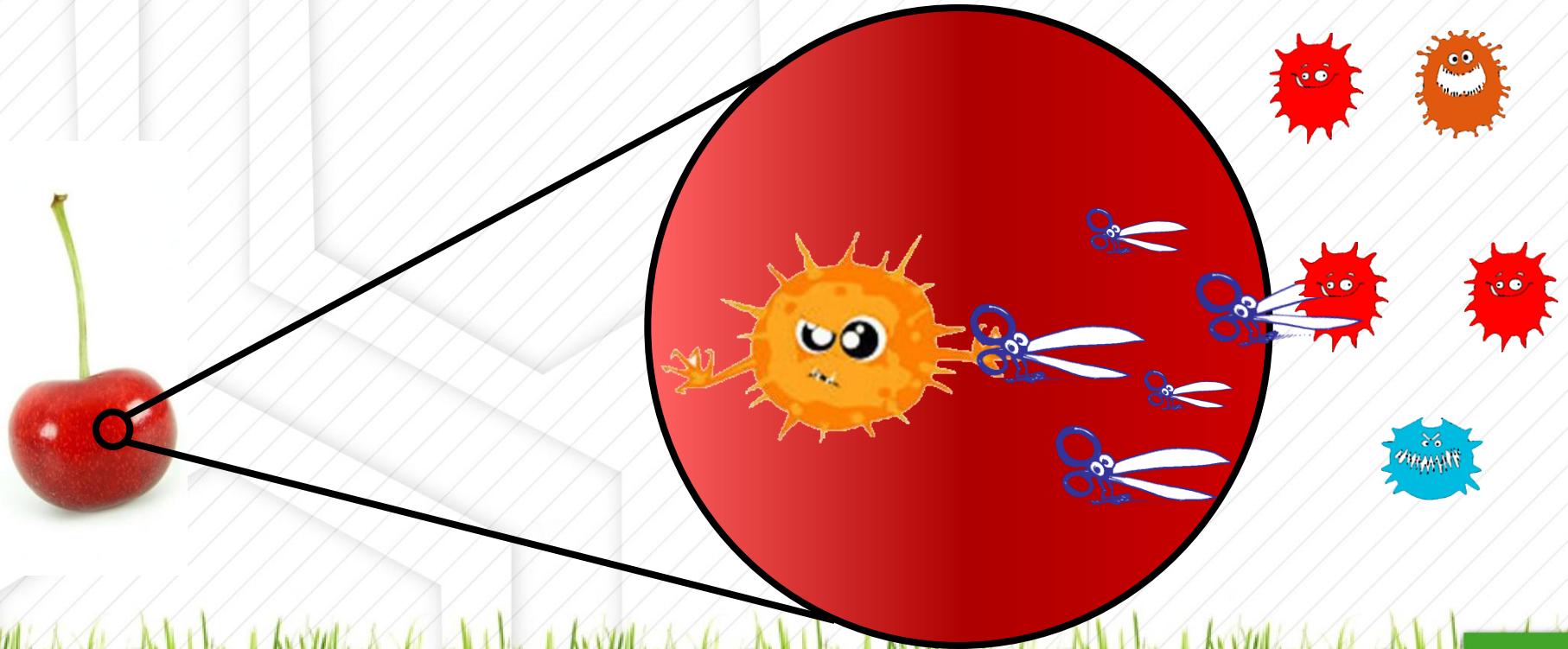


RITECA
Red de Investigación Transfronteriza
Extremadura - Centro - Alentejo
Rede de Investigação Transfronteiriça

GOBIERNO DE EXTREMADURA
Consejería de Empleo, Empresa e Innovación

Introducción

Mecanismos de Acción: **PRODUCCIÓN DE ENZIMAS LÍTICAS E INDUCCIÓN DE RESISTENCIA**





Introducción

Mecanismos de Acción: **PRODUCCIÓN DE ENZIMAS LÍTICAS E INDUCCIÓN DE RESISTENCIA**

Pichia guilliermondii produce la enzima **hidrolasa β , 1-3 glucanasa** durante el proceso de adhesión a la hifa de *B. cinerea* (Wisniewski et al., 1991).

La producción de las **fitoalexinas escorpacona y escopoletina** se incrementó en naranjas tratadas con la levadura *C. famata*, reduciéndose a la vez los niveles de infección causados por *Penicillium digitatum* (Arras, 1996).





Introducción

Un buen antagonista debe reunir las siguientes características:

- Capacidad para colonizar rápidamente la superficie de los frutos y persistir en ella de manera efectiva.
- Mayor habilidad que el patógeno para adquirir los nutrientes.
- Capacidad para sobrevivir bajo diferentes condiciones ambientales



Introducción

Interacción del control biológico con otros métodos de control.

- * Bicarbonato sódico
- * Cloruro de calcio.
- * Quitosato y sus derivados
- * Tratamientos por calor o por frío





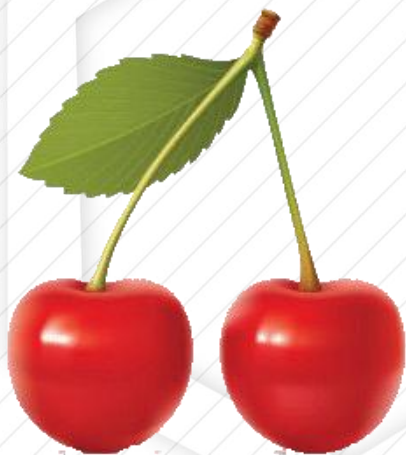
Introducción

Productos comerciales a base de microorganismos antagónicos y su uso en postcosecha.

- **BioSave 110** (EcoScience, Worcester, MA, EUA).
- **Aspire** (Ecogen, Langhorne PA, EUA).
- **Avorgreen** (Stimuplant, White River, Sudáfrica).
- **YieldPlus** (Anchor Yeast, CapeTown, Sudáfrica).



Material y Métodos



Prunus avivum L. cv. 'Sweet heart'



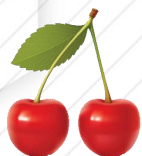
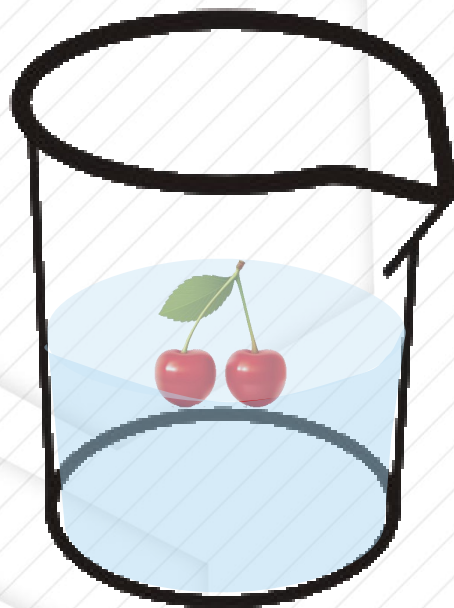
Prunus salicina Lindl. cv. 'Angeleno'

Material y Métodos

Hipoclorito sódico 200ppm

pH = 6.5

3 minutos



Material y Métodos



COOPERACIÓN TRANSFRONTERIZA
ESPAÑA – PORTUGAL
COOPERAÇÃO TRANSFRONTEIRICA



Unión Europea
FEDER
Invertimos en su futuro

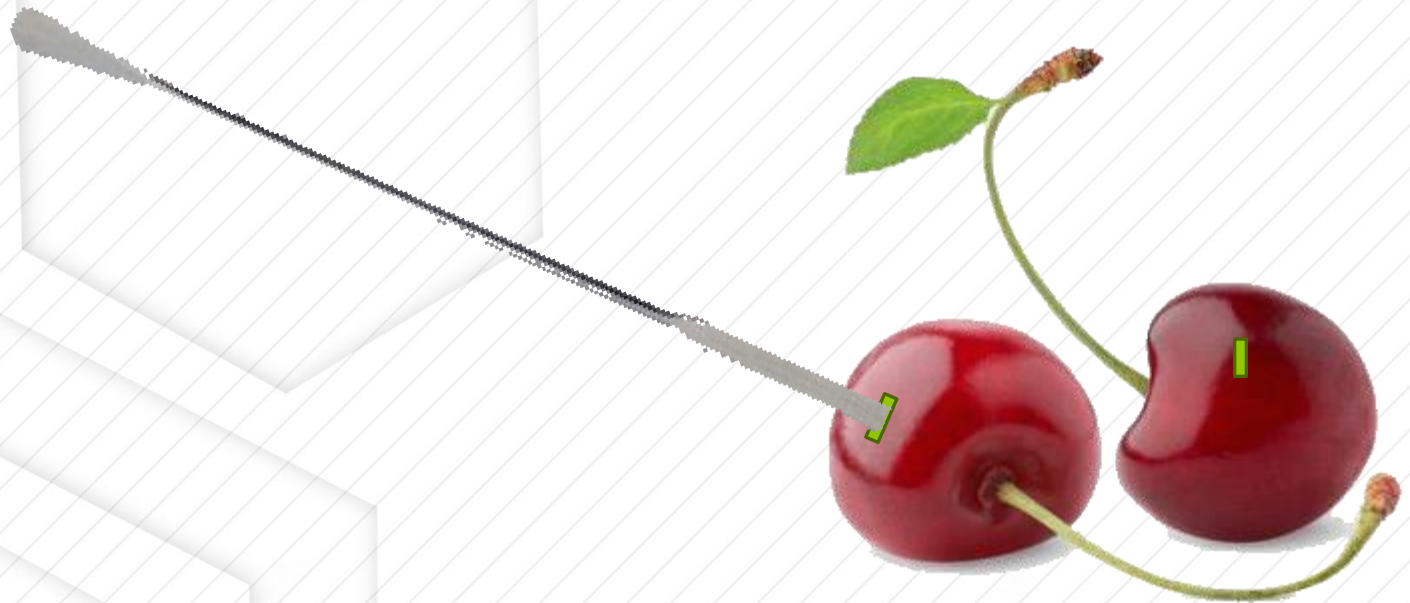


RITECA
Red de Investigación Transfronteriza
Extremadura - Centro - Alentejo
Rede de Investigação Transfronteiriça

GOBIERNO DE EXTREMADURA
Consejería de Empleo, Empresa e Innovación



Material y Métodos



COOPERACIÓN TRANSFRONTERIZA
ESPAÑA – PORTUGAL
COOPERAÇÃO TRANSFRONTEIRICA



Unión Europea
FEDER
Invertimos en su futuro



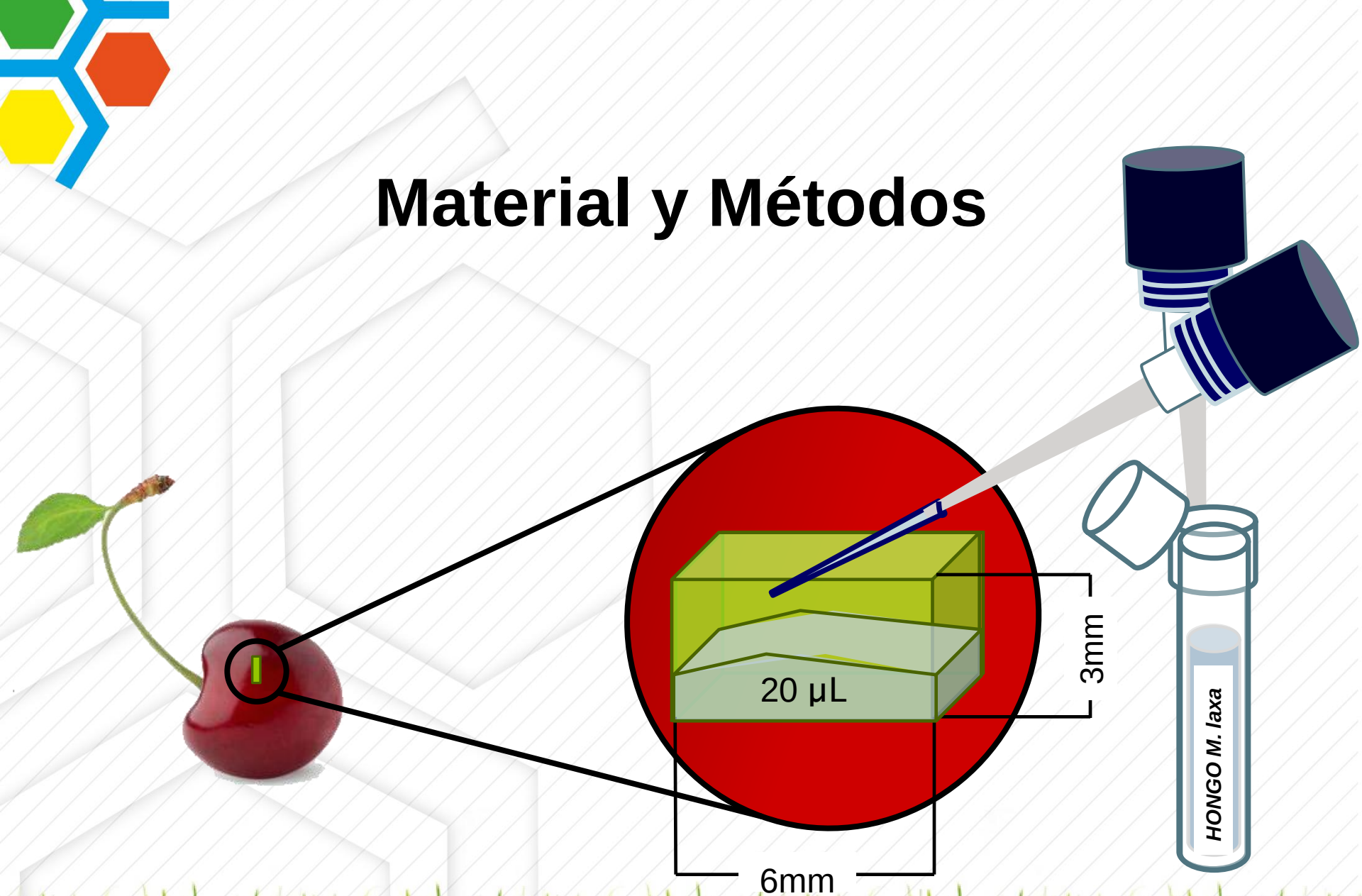
RITECA
Red de Investigación Transfronteriza
Extremadura - Centro - Alentejo
Rede de Investigação Transfronteiriça

GOBIERNO DE EXTREMADURA
Consejería de Empleo, Empresa e Innovación

Página

24

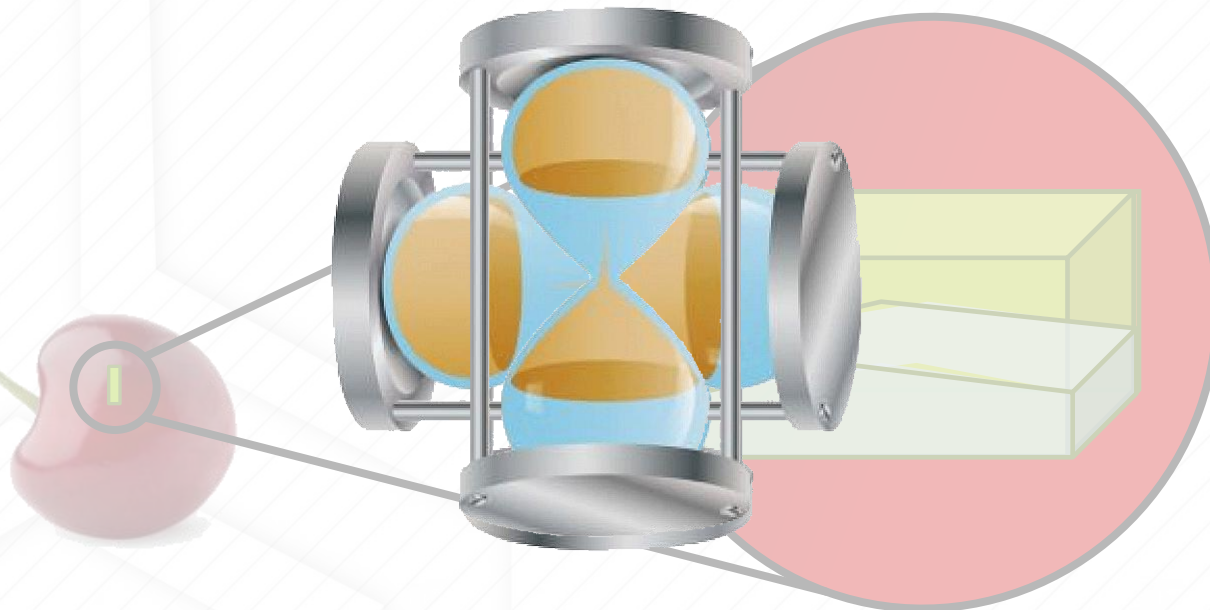
Material y Métodos



Material y Métodos

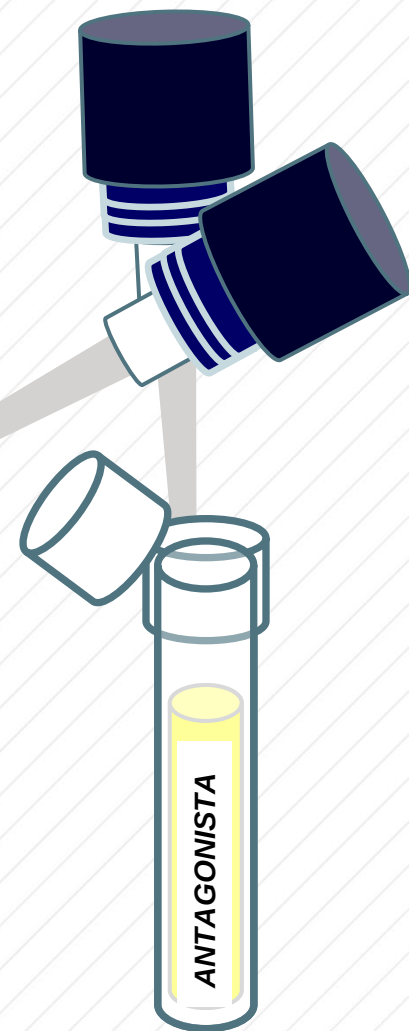
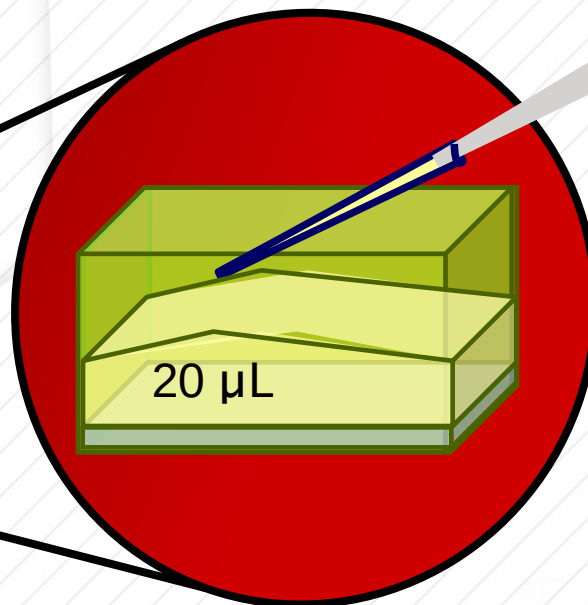
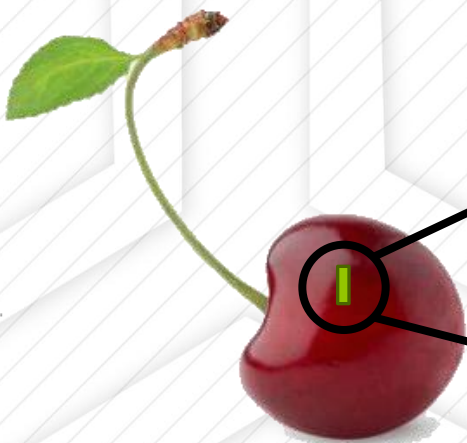
1 Hora

25° C



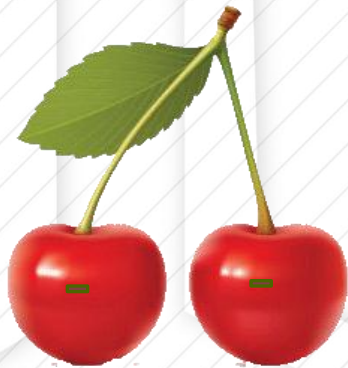
Material y Métodos

2% de bicarbonato sódico





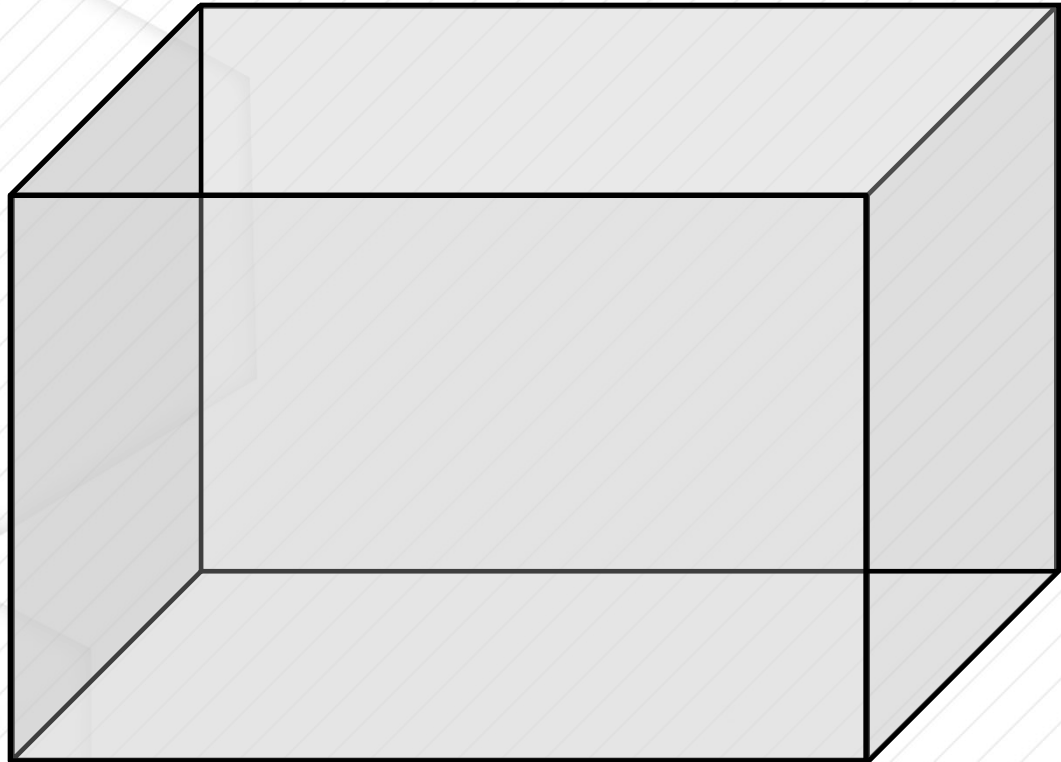
Material y Métodos



25° C

90 -100% humedad

5 -7 Días



COOPERACIÓN TRANSFRONTERIZA
ESPAÑA - PORTUGAL
COOPERAÇÃO TRANSFRONTEIRICA



Unión Europea
FEDER
Invertimos en su futuro



RITECA
Red de Investigación Transfronteriza
Extremadura - Centro - Alentejo
Rede de Investigação Transfronteiriça

GOBIERNO DE EXTREMADURA
Consejería de Empleo, Empresa e Innovación

Página

28

Material y Métodos





Material y Métodos

Monilia laxa,

Penicillium expansum

Fusarium oxysporium

Aspergillus niger

Botrytis cinerea

Rhizopus stolonifer

Cryptococcus laurentii

Trichosporon pullulans

Hanseniaspora uvarum

Pichia guilliermondii

Bacillus subtilis

Pseudomonas syringae

2% de bicarbonato sódico



COOPERACIÓN TRANSFRONTERIZA
ESPAÑA - PORTUGAL
COOPERAÇÃO TRANSFRONTEIRIZA



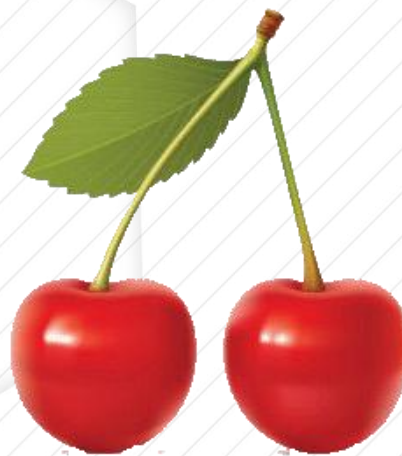
Unión Europea
FEDER
Iniciativa de su futuro



RITECA
Red de Investigación Transfronteriza
Extremadura - Centro - Alentejo
Rede de Investigação Transfronteiriça

GOBIERNO DE EXTREMADURA
Consejería de Empleo, Empresa e Innovación

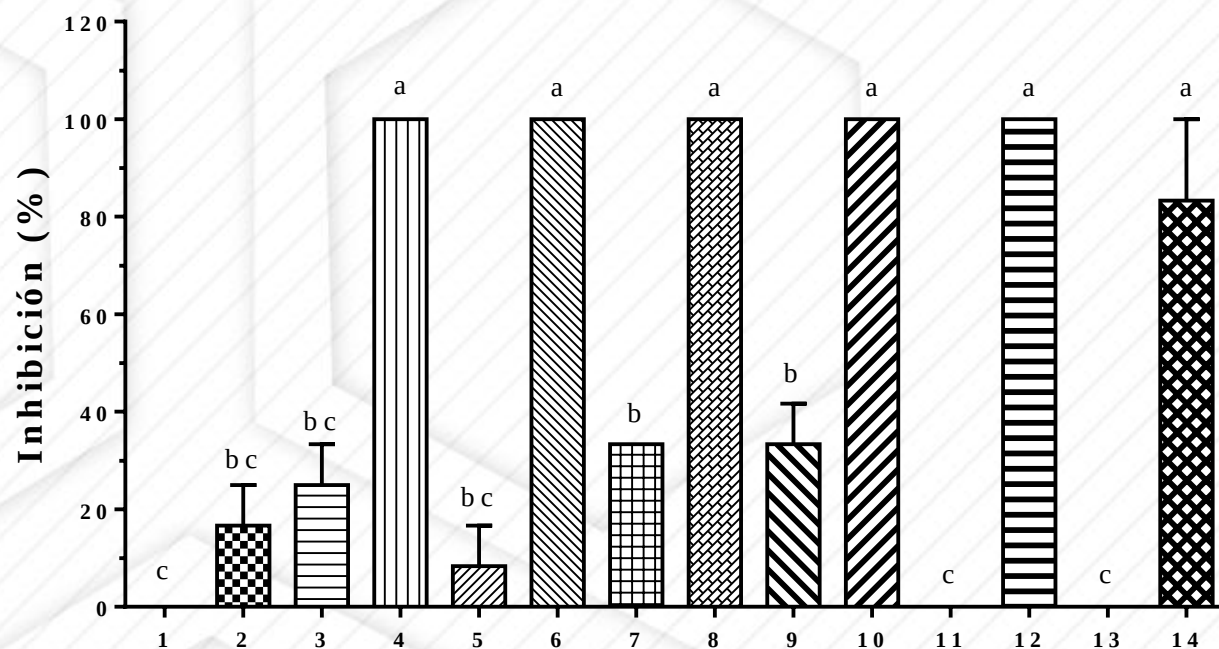
Resultados y discusión



Prunus avivum L. cv. 'Sweet heart'

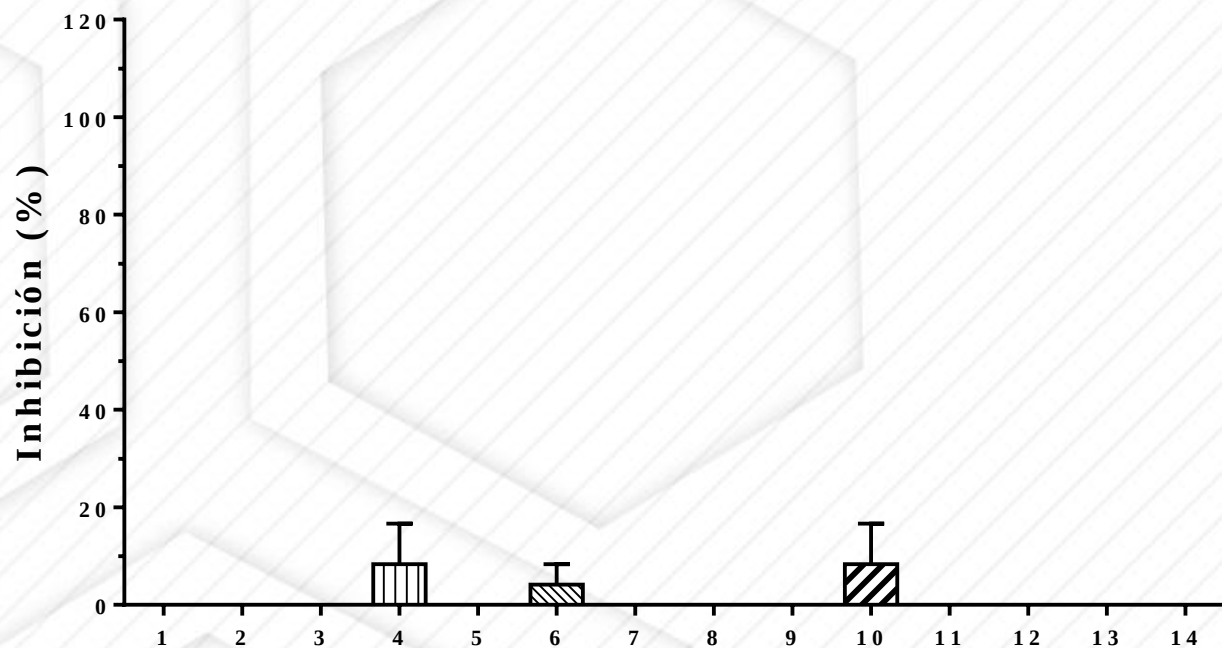


Monilia laxa



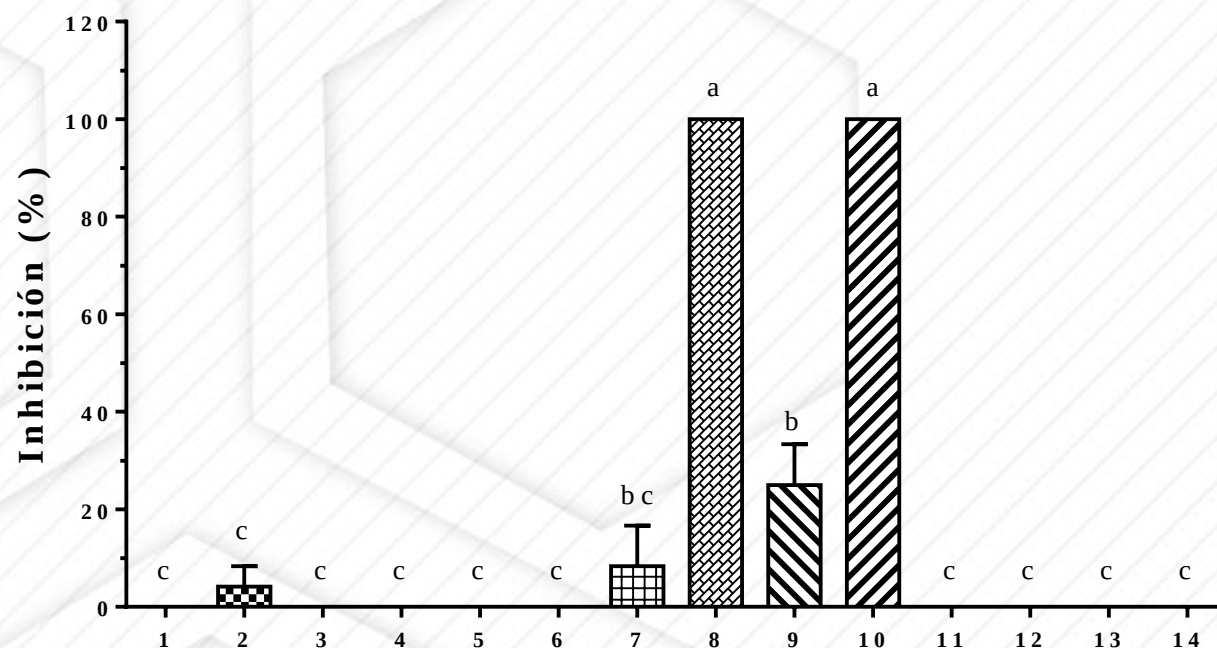
- 1 Control
- 2 Control+NaHCO₃
- 3 *Cryptococcus laurentii*
- 4 *Cryptococcus laurentii*+NaHCO₃
- 5 *Trichosporon pullulans*
- 6 *Trichosporon pullulans*+NaHCO₃
- 7 *Hanseniaspora uvarum*
- 8 *Hanseniaspora uvarum*+NaHCO₃
- 9 *Pichia guilliermondii*
- 10 *Pichia guilliermondii*+NaHCO₃
- 11 *Bacillus subtilis*
- 12 *Bacillus subtilis*+NaHCO₃
- 13 *Pseudomonas syringae*
- 14 *Pseudomonas syringae*+NaHCO₃

Penicillium expansum



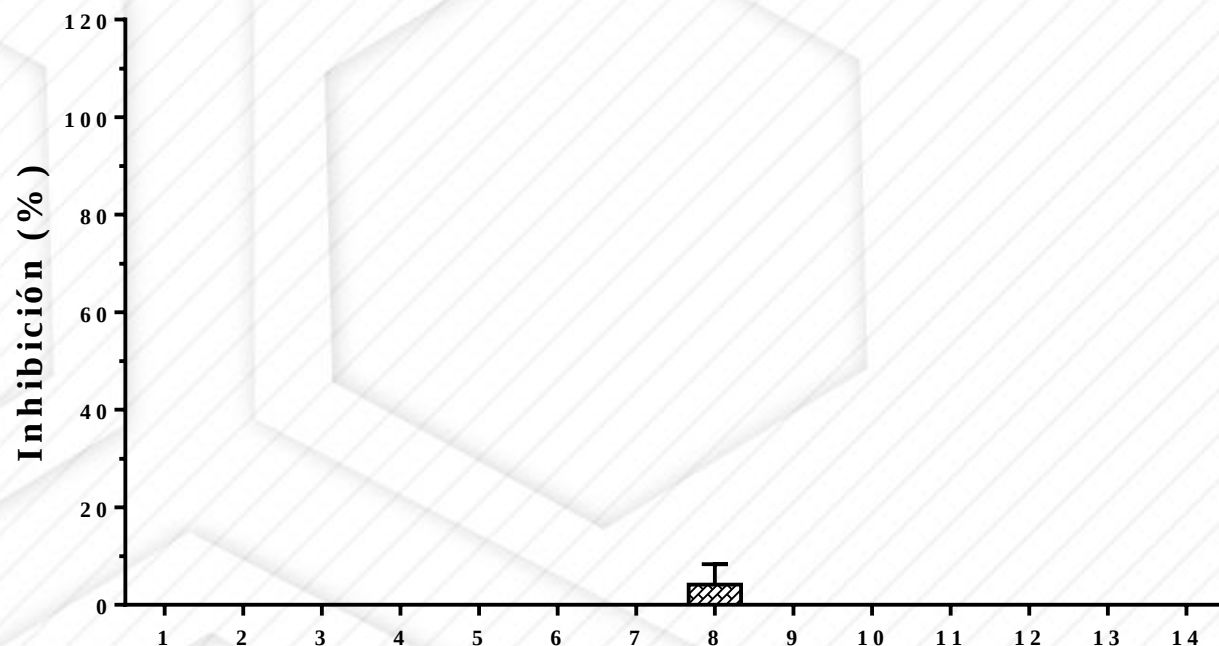
- 1 Control
- 2 Control+NaHCO₃
- 3 *Cryptococcus laurentii*
- 4 *Cryptococcus laurentii*+NaHCO₃
- 5 *Trichosporon pullulans*
- 6 *Trichosporon pullulans*+NaHCO₃
- 7 *Hanseniaspora uvarum*
- 8 *Hanseniaspora uvarum*+NaHCO₃
- 9 *Pichia guilliermondii*
- 10 *Pichia guilliermondii*+NaHCO₃
- 11 *Bacillus subtilis*
- 12 *Bacillus subtilis*+NaHCO₃
- 13 *Pseudomonas syringae*
- 14 *Pseudomonas syringae*+NaHCO₃

Aspergillus niger



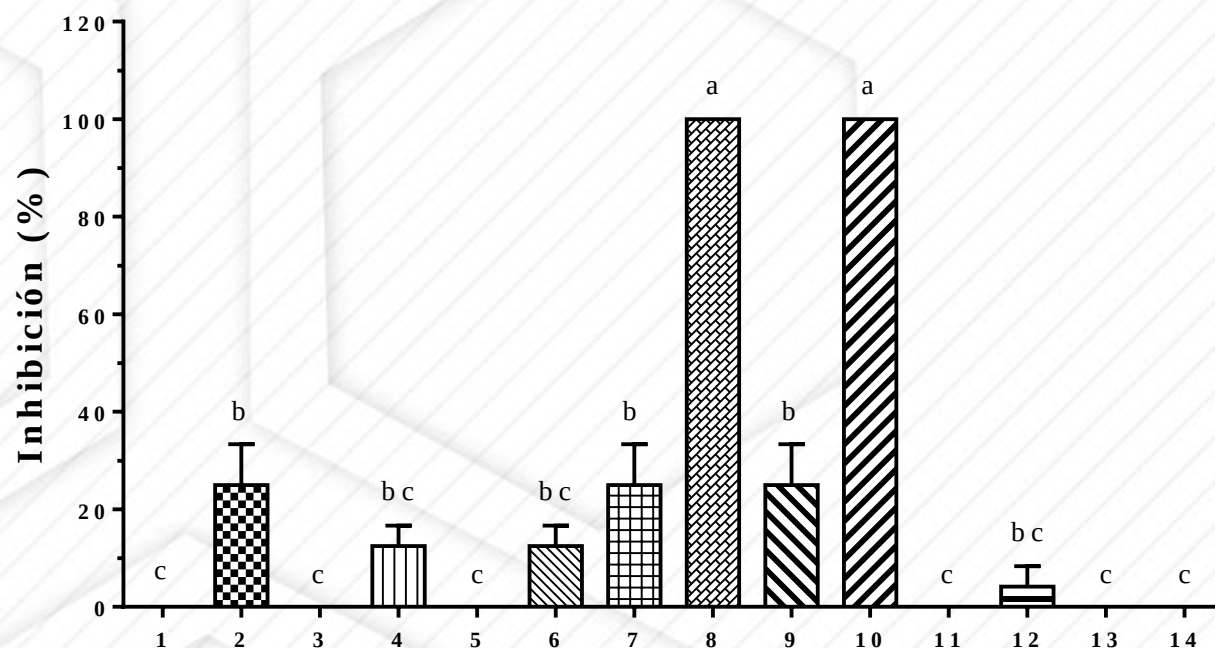
- 1 Control
- 2 Control+NaHCO₃
- 3 *Cryptococcus laurentii*
- 4 *Cryptococcus laurentii*+NaHCO₃
- 5 *Trichosporon pullulans*
- 6 *Trichosporon pullulans*+NaHCO₃
- 7 *Hanseniaspora uvarum*
- 8 *Hanseniaspora uvarum*+NaHCO₃
- 9 *Pichia guilliermondii*
- 10 *Pichia guilliermondii*+NaHCO₃
- 11 *Bacillus subtilis*
- 12 *Bacillus subtilis*+NaHCO₃
- 13 *Pseudomonas syringae*
- 14 *Pseudomonas syringae*+NaHCO₃

Fusarium oxysporum



- 1 Control
- 2 Control+NaHCO₃
- 3 *Cryptococcus laurentii*
- 4 *Cryptococcus laurentii*+NaHCO₃
- 5 *Trichosporon pullulans*
- 6 *Trichosporon pullulans*+NaHCO₃
- 7 *Hanseniaspora uvarum*
- 8 *Hanseniaspora uvarum*+NaHCO₃
- 9 *Pichia guilliermondii*
- 10 *Pichia guilliermondii*+NaHCO₃
- 11 *Bacillus subtilis*
- 12 *Bacillus subtilis*+NaHCO₃
- 13 *Pseudomonas syringae*
- 14 *Pseudomonas syringae*+NaHCO₃

Botrytis cinerea



- 1 Control
- 2 Control+NaHCO₃
- 3 *Cryptococcus laurentii*
- 4 *Cryptococcus laurentii*+NaHCO₃
- 5 *Trichosporon pullulans*
- 6 *Trichosporon pullulans*+NaHCO₃
- 7 *Hanseniaspora uvarum*
- 8 *Hanseniaspora uvarum*+NaHCO₃
- 9 *Pichia guilliermondii*
- 10 *Pichia guilliermondii*+NaHCO₃
- 11 *Bacillus subtilis*
- 12 *Bacillus subtilis*+NaHCO₃
- 13 *Pseudomonas syringae*
- 14 *Pseudomonas syringae*+NaHCO₃

Resultados y discusión



Prunus salicina Lindl. cv. 'Angeleno'



COOPERACIÓN TRANSFRONTERIZA
ESPAÑA – PORTUGAL
COOPERAÇÃO TRANSFRONTEIRICA



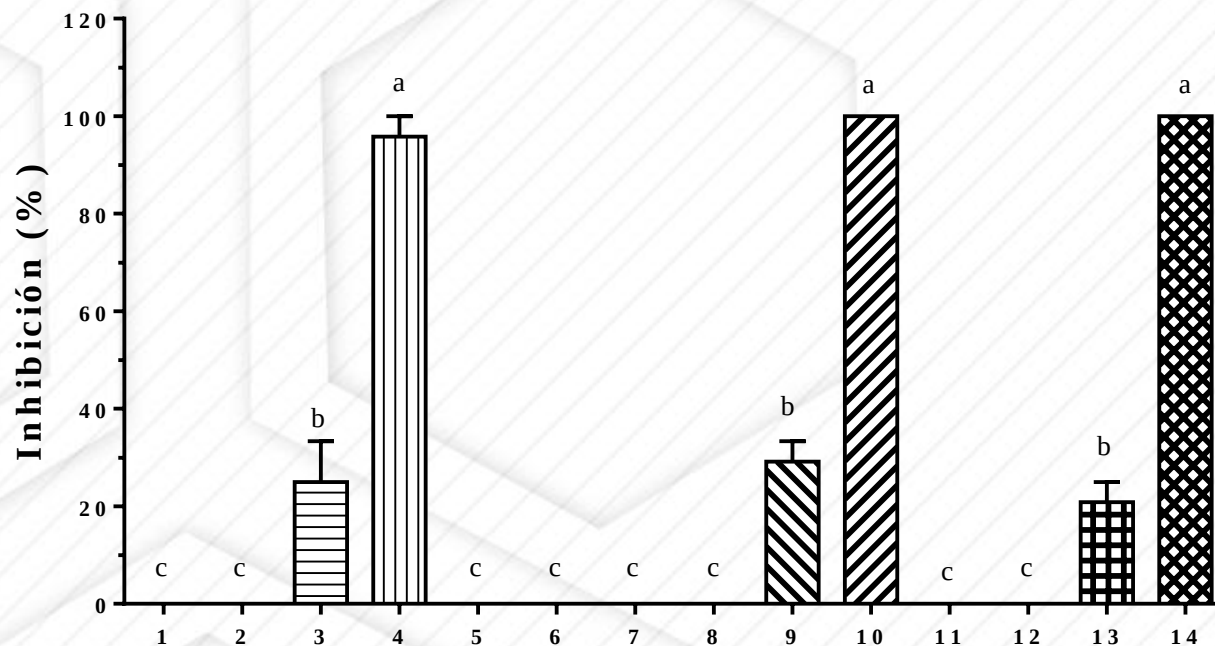
Unión Europea
FEDER
Invertimos en su futuro



RITECA
Red de Investigación Transfronteriza
Extremadura - Centro - Alentejo
Rede de Investigação Transfronteiriça

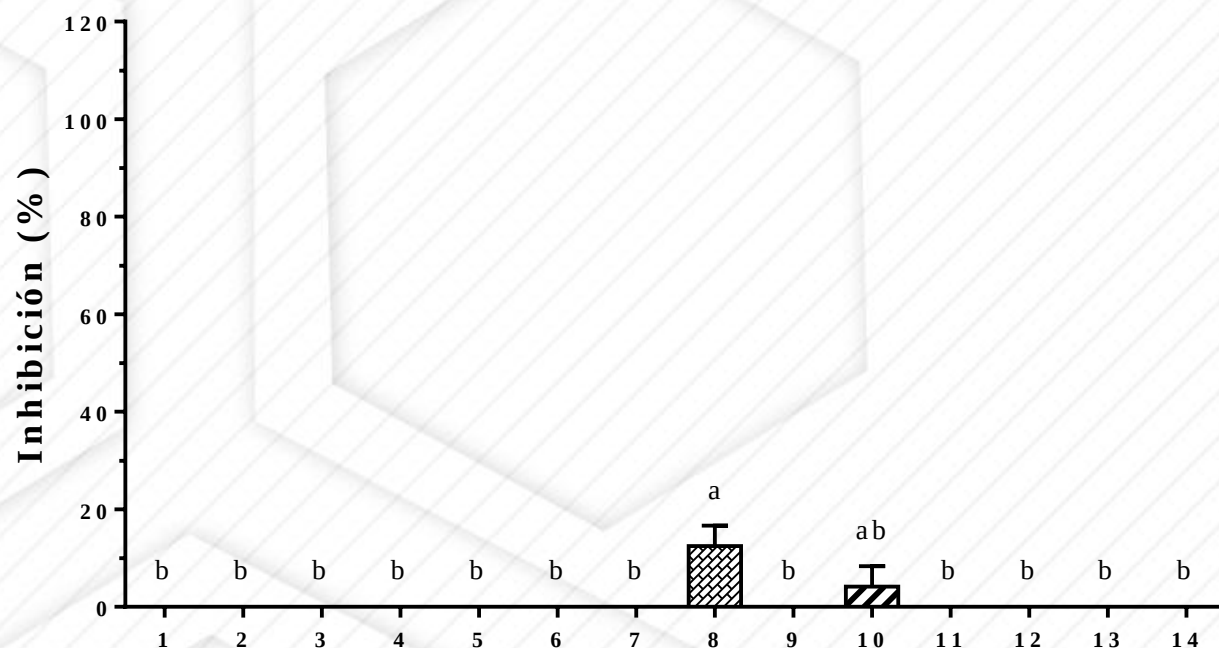
GOBIERNO DE EXTREMADURA
Consejería de Empleo, Empresa e Innovación

Monilia laxa



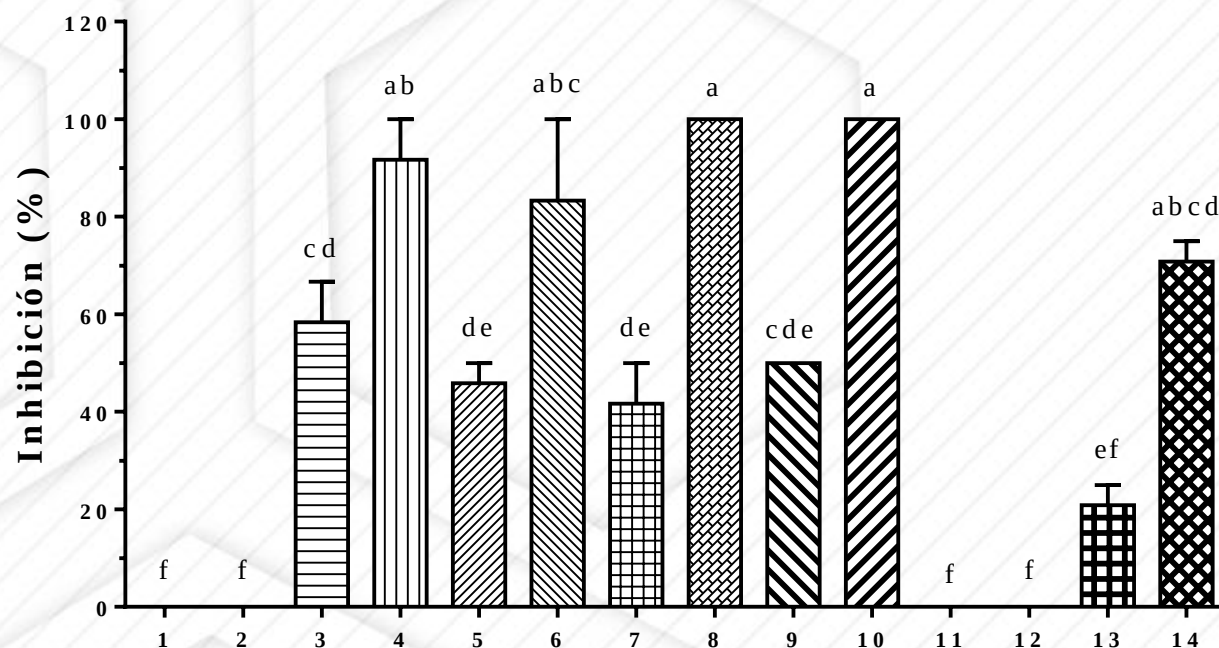
- 1 Control
- 2 Control+NaHCO₃
- 3 *Cryptococcus laurentii*
- 4 *Cryptococcus laurentii*+NaHCO₃
- 5 *Trichosporon pullulans*
- 6 *Trichosporon pullulans*+NaHCO₃
- 7 *Hanseniaspora uvarum*
- 8 *Hanseniaspora uvarum*+NaHCO₃
- 9 *Pichia guilliermondii*
- 10 *Pichia guilliermondii*+NaHCO₃
- 11 *Bacillus subtilis*
- 12 *Bacillus subtilis*+NaHCO₃
- 13 *Pseudomonas syringae*
- 14 *Pseudomonas syringae*+NaHCO₃

Penicillium expansum



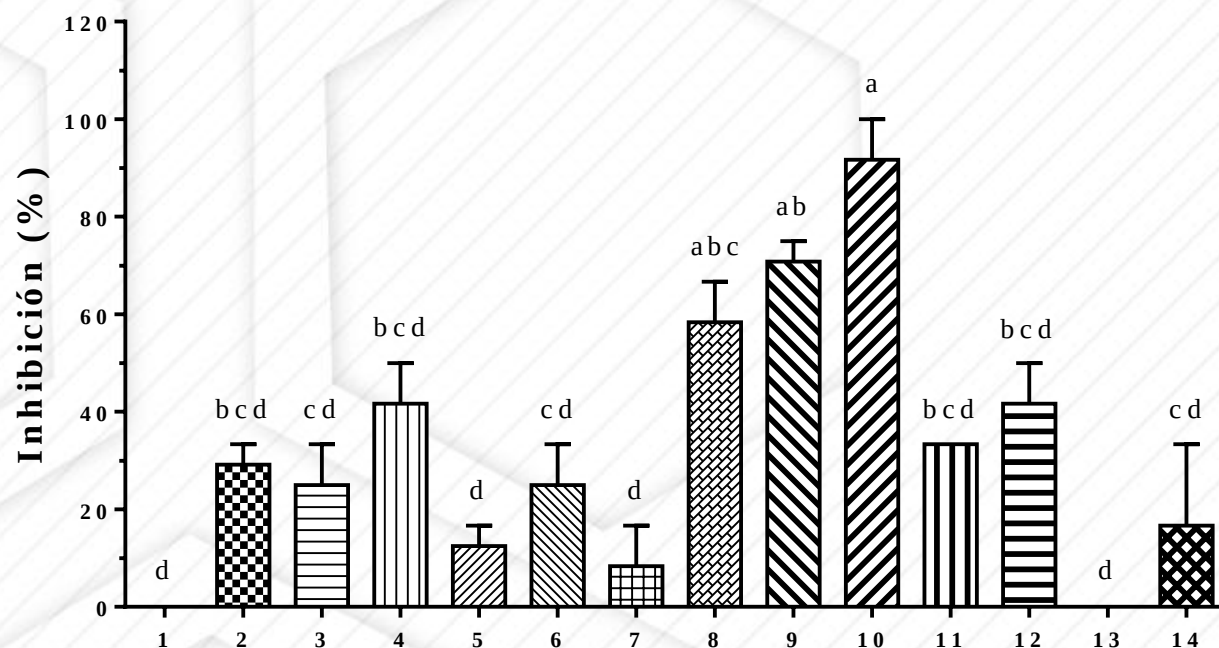
- 1 Control
- 2 Control+NaHCO₃
- 3 *Cryptococcus laurentii*
- 4 *Cryptococcus laurentii*+NaHCO₃
- 5 *Trichosporon pullulans*
- 6 *Trichosporon pullulans*+NaHCO₃
- 7 *Hanseniaspora uvarum*
- 8 *Hanseniaspora uvarum*+NaHCO₃
- 9 *Pichia guilliermondii*
- 10 *Pichia guilliermondii*+NaHCO₃
- 11 *Bacillus subtilis*
- 12 *Bacillus subtilis*+NaHCO₃
- 13 *Pseudomonas syringae*
- 14 *Pseudomonas syringae*+NaHCO₃

Aspergillus niger



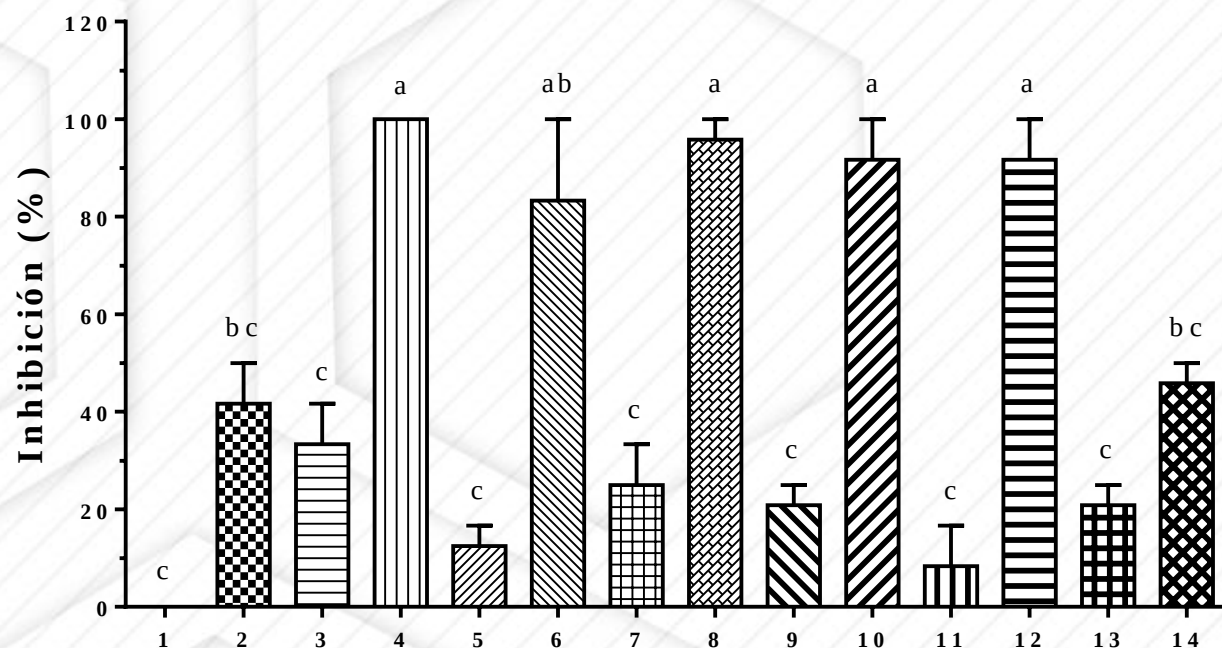
- 1 Control
- 2 Control+NaHCO₃
- 3 *Cryptococcus laurentii*
- 4 *Cryptococcus laurentii*+NaHCO₃
- 5 *Trichosporon pullulans*
- 6 *Trichosporon pullulans*+NaHCO₃
- 7 *Hanseniaspora uvarum*
- 8 *Hanseniaspora uvarum*+NaHCO₃
- 9 *Pichia guilliermondii*
- 10 *Pichia guilliermondii*+NaHCO₃
- 11 *Bacillus subtilis*
- 12 *Bacillus subtilis*+NaHCO₃
- 13 *Pseudomonas syringae*
- 14 *Pseudomonas syringae*+NaHCO₃

Fusarium oxysporum



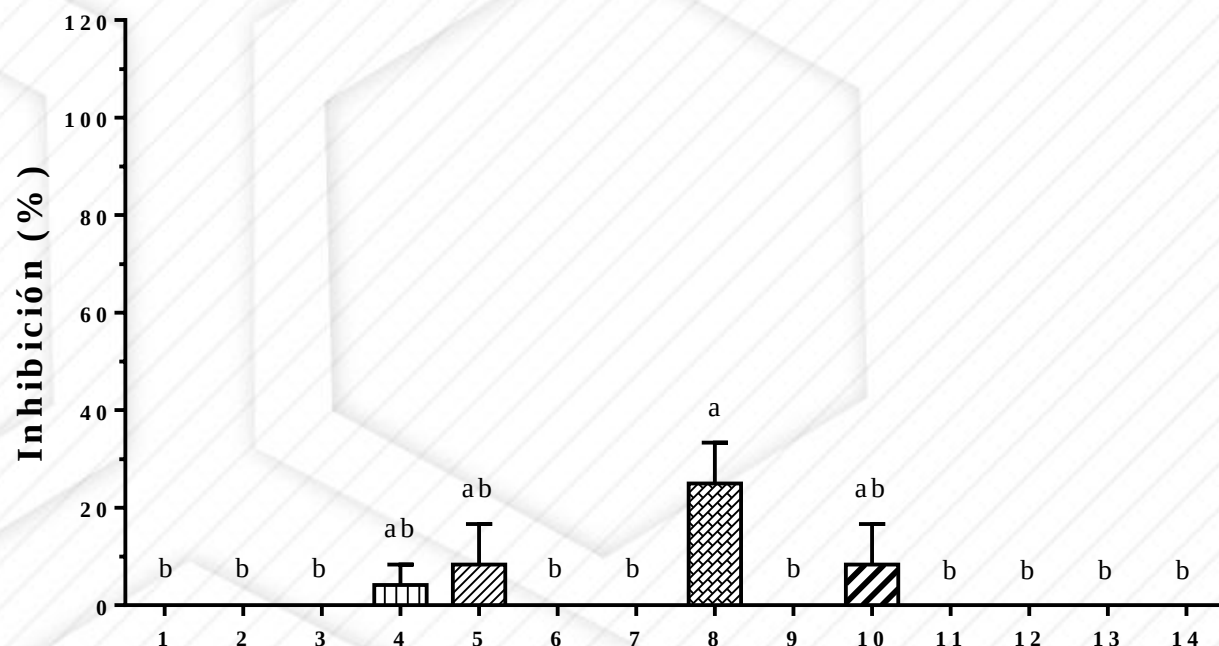
- 1 Control
- 2 Control+NaHCO₃
- 3 *Cryptococcus laurentii*
- 4 *Cryptococcus laurentii*+NaHCO₃
- 5 *Trichosporon pullulans*
- 6 *Trichosporon pullulans*+NaHCO₃
- 7 *Hanseniaspora uvarum*
- 8 *Hanseniaspora uvarum*+NaHCO₃
- 9 *Pichia guilliermondii*
- 10 *Pichia guilliermondii*+NaHCO₃
- 11 *Bacillus subtilis*
- 12 *Bacillus subtilis*+NaHCO₃
- 13 *Pseudomonas syringae*
- 14 *Pseudomonas syringae*+NaHCO₃

Botrytis cinerea



- 1 Control
- 2 Control+NaHCO₃
- 3 *Cryptococcus laurentii*
- 4 *Cryptococcus laurentii*+NaHCO₃
- 5 *Trichosporon pullulans*
- 6 *Trichosporon pullulans*+NaHCO₃
- 7 *Hanseniaspora uvarum*
- 8 *Hanseniaspora uvarum*+NaHCO₃
- 9 *Pichia guilliermondii*
- 10 *Pichia guilliermondii*+NaHCO₃
- 11 *Bacillus subtilis*
- 12 *Bacillus subtilis*+NaHCO₃
- 13 *Pseudomonas syringae*
- 14 *Pseudomonas syringae*+NaHCO₃

Rhizopus stolonifer



- 1 Control
- 2 Control+NaHCO₃
- 3 *Cryptococcus laurentii*
- 4 *Cryptococcus laurentii*+NaHCO₃
- 5 *Trichosporon pullulans*
- 6 *Trichosporon pullulans*+NaHCO₃
- 7 *Hanseniaspora uvarum*
- 8 *Hanseniaspora uvarum*+NaHCO₃
- 9 *Pichia guilliermondii*
- 10 *Pichia guilliermondii*+NaHCO₃
- 11 *Bacillus subtilis*
- 12 *Bacillus subtilis*+NaHCO₃
- 13 *Pseudomonas syringae*
- 14 *Pseudomonas syringae*+NaHCO₃



Conclusiones

La combinación de los antagonistas con el bicarbonato sódico presento un mayor efecto contra los hongos patógenos de fruta de hueso.

Los antagonistas suponen una alternativa real al uso de fungicidas sintéticos.





GRACIAS



COOPERACIÓN TRANSFRONTERIZA
ESPAÑA - PORTUGAL
COOPERAÇÃO TRANSFRONTEIRICA



Unión Europea
FEDER
Invertimos en su futuro



RITECA
Red de Investigación Transfronteriza
Extremadura - Centro - Alentejo
Rede de Investigação Transfronteiriça

GOBIERNO DE EXTREMADURA
Consejería de Empleo, Empresa e Innovación