

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**POBLACIONES EPÍFITAS DE *Geotrichum candidum* Link ex Pers. EN
POSTCOSECHA DE DURAZNOS Y VALIDACIÓN DE UN SISTEMA DE
PRONÓSTICO TEMPRANO DE LA PUDRICIÓN ÁCIDA**

Elena España Graciela Castelleti Pérez

**Santiago, Chile
2010**

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**POBLACIONES EPÍFITAS DE *Geotrichum candidum* Link ex Pers. EN
POSTCOSECHA DE DURAZNOS Y VALIDACIÓN DE UN SISTEMA DE
PRONÓSTICO TEMPRANO DE LA PUDRICIÓN ÁCIDA**

**EPIPHYTIC POPULATIONS OF *Geotrichum candidum* Link ex Pers. IN PEACH
POSTHARVEST AND VALIDATION OF A SOUR ROT EARLY DETECTION
SYSTEM**

Elena España Graciela Castelleti Pérez

**Santiago, Chile
2010**

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

**POBLACIONES EPÍFITAS DE *Geotrichum candidum* Link ex Pers. EN
POSTCOSECHA DE DURAZNOS Y VALIDACIÓN DE UN SISTEMA DE
PRONÓSTICO TEMPRANO DE LA PUDRICIÓN ÁCIDA**

Memoria para optar al Título profesional de:
Ingeniera Agrónoma
Mención: Sanidad Vegetal

Elena España Graciela Castelleti Pérez

	Calificaciones
Profesor Guía Sr. José Luis Henríquez S. Ingeniero Agrónomo, M. S., Ph. D.	7,0
Profesores Evaluadores Sra. Marcela Esterio G. Ingeniero Agrónomo, M. Sc.	6,3
Sr. Julio Haberland A. Ingeniero Agrónomo, Ph. D.	6,8

Santiago, Chile
2010

A mí

AGRADECIMIENTOS

Mis sinceros agradecimientos a todos quienes me ayudaron y acompañaron durante mi vida universitaria y, especialmente, durante la realización de esta memoria:

A mis padres y hermano por su preocupación, confianza, apoyo y disponibilidad eternas, por ir a dejarme a donde tuviera que ir, por preguntarme como estaba y por enorgullecerse siempre de mí.

A mi profesor guía, Sr. José Luis Henríquez, por su apoyo y buenos consejos, por sus críticas constructivas, su confianza y entusiasmo, por otorgarme la independencia para realizar este trabajo y por darme la posibilidad de hacer esta memoria en un laboratorio lleno de personas sin igual.

A mis queridos compañeros de laboratorio. A Paulita, por su eterna simpatía y buena disposición, por su ayuda y por enseñarme tanto. A Víctor, por ayudarme cuando no pude estar en Santiago. A Paula, Pablo, Osvaldo y Valeria, por acompañarme, conversarme y alegrarme los días. A todos, por ser tan buenas y agradables personas, por reírse de mis extraños gustos musicales y hacer el ambiente en el laboratorio tan especial.

A la Sra. Marcela Esterio, por su buena disposición y sabios consejos.

A mis amigos. A Elisa, por ser tan omnipresente. A Pauly, por entender tan bien mis alegrías y frustraciones y, por supuesto, por ayudarme tantas veces con los duraznos. A Pancha, por entender y compartir mis ideales. A Alexis V., por ser tan él mismo. A Paula, Cami, Vero, Michelle, Alexis P., Tato y el resto de los M..., por ser grandes y excelentes personas. A Gabriela y Kathy, las de siempre, por seguir soportándome después de tantos años.

A todos quienes en algún momento me ayudaron con la gigantesca y a veces interminable cantidad de duraznos con los que trabajé.

A los duraznos, a *Geotrichum*, a las bolsas de basura, a la mula, a la cámara de frío, al pasto, a las canchas, a los viernes, a la 714 y a la 304, al anfiteatro, a Varonil, a Luz Clarita, a Choli y a Blanqui.

ÍNDICE

RESUMEN	1
Palabras clave	1
ABSTRACT	2
Key words	2
INTRODUCCIÓN	3
Hipótesis	5
Objetivos	5
MATERIALES Y MÉTODOS	6
Lugar de estudio	6
Metodología	6
Ensayo 1: Efecto de mezclas de fungicidas en la inhibición de hongos saprófitos que dificultan el recuento de <i>Geotrichum candidum</i>	6
Ensayo 2: Efecto de mezclas de fungicidas sobre poblaciones epífitas de <i>Geotrichum candidum</i> en duraznos	7
Ensayo 3. Efecto <i>in vitro</i> de mezclas de fungicidas en el crecimiento micelial de 2 cepas de <i>Geotrichum candidum</i>	8
Ensayo 4. Cuantificación de poblaciones epífitas de <i>Geotrichum candidum</i> en el proceso de postcosecha	9
Diseño experimental y Análisis estadístico	10
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
Ensayo 1: Efecto de mezclas de fungicidas en la inhibición de hongos saprófitos que dificultan el recuento de <i>Geotrichum candidum</i>	11
Ensayo 2: Efecto de mezclas de fungicidas sobre poblaciones epífitas de <i>Geotrichum candidum</i> en duraznos	18
Ensayo 3. Efecto <i>in vitro</i> de mezclas de fungicidas en el crecimiento micelial de 2 cepas de <i>Geotrichum candidum</i>	21
Ensayo 4. Cuantificación de poblaciones epífitas de <i>Geotrichum candidum</i> en el proceso de postcosecha	23
CONCLUSIONES	31
BIBLIOGRAFÍA	32

RESUMEN

La pudrición ácida, causada por *Geotrichum candidum*, afecta a carozos en postcosecha. La fuente de inóculo son los frutos podridos en el huerto, que contaminan los materiales de cosecha, aguas de lavado, líneas de selección y embalaje. Los síntomas de la enfermedad se presentan en los mercados de destino y escasamente en almacenamiento o laboratorio, no existiendo una metodología para reproducirla, siendo difícil conocer su epidemiología o el efecto de las medidas de manejo. Investigaciones previas han mostrado que el congelamiento y posterior incubación a temperatura ambiente permiten la detección de poblaciones epífitas del patógeno sobre la fruta. Para inhibir el desarrollo de hongos saprófitos que impiden el recuento de *G. candidum* en postcosecha, como *Penicillium* y *Rhizopus*, se evaluaron las mezclas de fungicidas dicloran + iprodione, dicloran + imazalil, dicloran + pyrimethanil y dicloran + benomyl, asperjándolas sobre duraznos cv. *Zee Lady* posteriormente congelados y mantenidos en cámara húmeda durante cinco días, comparando los resultados con un tratamiento testigo (sin fungicida). Se determinó el porcentaje de frutos con poblaciones epífitas de cada hongo, resultando efectivas para el recuento de *G. candidum* todas las mezclas excepto dicloran + imazalil. Para verificar efectos inhibitorios de los fungicidas sobre *Geotrichum candidum*, duraznos cv. *Ross* fueron inoculados con el hongo previo al tratamiento con fungicidas y congelación. Todas las mezclas permitieron el recuento del patógeno. Aunque los fungicidas no eliminaron completamente los saprófitos *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus*, sí impidieron que éstos colonizaran totalmente los frutos, permitiendo el desarrollo y recuento de *G. candidum*. También se determinó el efecto de los fungicidas sobre el crecimiento micelial *in vitro* de dos cepas de *G. candidum*, comparadas con un testigo sin fungicidas. Dicloran + pyrimethanil y dicloran + benomyl, a la mitad de la dosis, presentaron la menor inhibición del crecimiento micelial del hongo.

Además, se determinó el porcentaje de frutos con poblaciones epífitas de *Geotrichum candidum* en duraznos cv. *Sweet September* provenientes de huertos comerciales con y sin historial de pudrición ácida, en tres etapas del proceso de embalaje (bins llegada a la planta, hidrocooler y caja embalada). Se observó que la fruta de los huertos sin historial alcanzó el mismo nivel de inóculo en caja embalada que la de aquellos con historial. Esto se debería a la redistribución del inóculo de *G. candidum* durante el proceso de selección y embalaje, después del hidrocooler. En ambos casos se determinó que casi la totalidad de los frutos presentaron poblaciones epífitas del hongo una vez embalados.

Palabras clave: fungicidas, congelamiento de frutos, inóculo, poblaciones epífitas.

ABSTRACT

Sour rot of stone fruit caused by *Geotrichum candidum* has become an important disease in exported peaches. The inoculum coming from rotten fruits in the orchard contaminates the fruit and picking materials, as well as water tanks and packing lines at the packing facilities. Disease symptoms appear in the export markets, but the incidence is barely observed at the national storage or markets. There is not at the present a methodology to replicate the disease in order to better know the disease and the effectiveness of control practices. Previous work showed that freezing the fruit and incubating at room temperature allowed the detection of the epiphytic populations of the pathogen on the fruit, but the colonies of *G. candidum* were sometimes overgrowth by other saprophytic fungi, like *Penicillium* and *Rhizopus*. To inhibit the saprophytic fungi that prevent *G. candidum* enumeration, fungicide mixtures of dicloran + iprodione, dicloran + imazalil, dicloran + pyrimethanil and dicloran + benomyl were spray over Zee Lady peaches before freezing for 4 days. To observe the effect of the fungicide combination on *G. candidum*, inoculated Ross peaches were also treated. The effect of the mixtures of fungicides was also evaluated *in vitro* for the inhibition of the mycelial growth of the pathogen. Finally, the epiphytic populations of *G. candidum* on Sweet September peaches, from orchards with or without history of the disease, were determined at the arrival of the fruit at the packing facility, after the hidrocooler and at the end of the packing line. All the fungicide mixtures but dicloran + imazalil effectively reduced the saprophytic growth of *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Penicillium* and *Aspergillus*. All mixtures allowed enumeration of *G. candidum* and although the fungicides did not eliminate saprophytic fungi, they prevented complete fruit colonization, allowing *G. candidum* growth. Half dose of dicloran + pyrimethanil and dicloran + benomyl had less inhibition of the *in vitro* miceliar growth of *G. candidum*. The epiphytic population of *G. candidum* was lower in fruit coming from the orchards without history of the disease. The population did not increased after the hidrocooler but raised to almost a 100 % at the end of the packing line for both kinds of fruit.

Key words: fungicides, freezing, inoculum, epiphytic populations.

INTRODUCCIÓN

Según datos presentados por ODEPA (2008), la producción estimada en la temporada 2007/08 de durazneros y nectarinos en Chile, fue de aproximadamente 295 mil toneladas, representando el 6,5% de la producción total de fruta. La superficie utilizada para su producción, en el año 2008, fue de 249.553 hectáreas, correspondientes al 8,1% aproximadamente de la superficie total de frutales. Durante la temporada 2007/08 el volumen exportado de estos frutos fue mayor a 107 mil toneladas, generando un retorno de más de 128 millones de dólares. Según estadísticas de la Chilean Fresh Fruit Association (CFFA, 2008), Chile es uno de los mayores exportadores de duraznos y nectarines frescos tanto a nivel mundial como del Hemisferio Sur, alcanzando el puesto número 5 y número 1, respectivamente.

Las enfermedades fungosas de postcosecha tienen un significativo impacto en la exportación de frutas (Morales, 1989). En Chile se han descrito varias pudriciones de postcosecha de carozos causadas por hongos fitopatógenos. Algunos tienen gran importancia económica, siendo frecuentemente detectados en los puertos de destino (Latorre, 1996). La distancia entre Chile y sus mercados, atenta contra una buena vida de repisa de las diferentes variedades de las especies antes mencionadas (Morales, 1989). Los productores y comercializadores de fruta fresca aplican una serie de técnicas y han aumentado sus costos para lograr aumentos de rendimiento y calidad, sin embargo, gran parte de los esfuerzos humanos y económicos se pierden si la fruta es incorrectamente manejada en postcosecha (Morales, 1996).

La pudrición ácida, causada por el hongo *Geotrichum candidum* Link ex Pers., fue descrita en Chile por primera vez el año 2004 por Pinilla (2005b), afectando diferentes variedades de duraznos y nectarinos en postcosecha, en huertos localizados principalmente en la VI Región y Región Metropolitana.

Según Agrios (2004), De Hong and Smith (2004) y Pottier *et al.*, (2008) *Geotrichum candidum* pertenece al Phylum Ascomycota, clase Saccharomycetes, orden Saccharomycetales y familia Candidaceae, caracterizada por presentar ascos desnudos, sin producir ascocarpos. Este hongo vive como saprófito en tejido vegetal muerto o en el suelo de huertos, pero también puede ser patógeno en frutos (Snowdon, 2006). La enfermedad producida por este hongo es una de las pudriciones más sucias y más desagradables de los frutos (Agrios, 2004). Afecta a duraznos, nectarinos, ciruelas y cerezas durante la postcosecha, junto con *Botrytis*, *Penicillium* y *Rhizopus* (Pinilla, 2007). Según Latorre (1996), *Rhizopus* y *Penicillium*, dos hongos fitopatógenos cuya fuente de inóculo primario generalmente está asociado al lugar de embalaje, conservación y transporte de la fruta, son en general los patógenos más frecuentemente detectados en embarques de fruta chilena. Latorre (1992) afirma que *Rhizopus* se caracteriza por provocar una podredumbre oscura, blanda y acuosa que compromete todo el fruto. Superficialmente aparece un abundante moho con aspecto de barba grisácea. En cuanto a *Penicillium*, Piontelli y Toro (1990),

afirman que sus colonias son de rápido crecimiento y origina una podredumbre blanda y acuosa, con una zona de avance muy bien delimitada. En la superficie aparece un moho inicialmente blanquecino y luego azulado (Latorre, 1992).

Como síntomas de la pudrición ácida, Pinilla (2005a) afirma que se puede apreciar una maceración y desintegración de la cutícula y pulpa de los frutos, los que podridos exhalan un fuerte olor a fermentado y rancio (Ogawa *et al.*, 2000). Si existe alta humedad, se forma un micelio muy tenue de color blanco sobre los frutos, que desaparece rápidamente (Pinilla, 2005b).

Según Latorre (1992), la pudrición ácida ocurre en fruta sobremadura, infectada durante la cosecha y sólo se manifiesta luego de algunas semanas de almacenamiento, lo que es corroborado por Agrios (2004), quien señala que es en la fruta madura o sobremadura mantenida en bolsas plásticas o materiales que mantienen la humedad, donde se manifiesta con mayor frecuencia. Pinilla (2007) señala que el inóculo inicial en los huertos proviene de los frutos que caen al suelo, los que al podrirse liberan una gran cantidad de esporas y penetra exclusivamente por micro y macroheridas. Los frutos podridos en el huerto además de contaminar la fruta, contaminan los capachos cosecheros, bins y otros materiales de cosecha, mientras que la fruta cosechada contamina líneas de selección y aguas de lavado de los distintos procesos de postcosecha. Latorre (1992) afirma que este hongo es frecuente en zonas o épocas húmedas y cálidas (25-30°C), no obstante Pinilla (2007) sostiene que crece en un amplio rango de temperaturas (0 a 30°C), similar a lo expuesto por Pazakova *et al.* (2003), que determinaron que crece entre 5 y 38 °C.

Existen muchos factores que podrían haber incrementado la incidencia de pudrición ácida en los últimos años. Primero, la demanda del mercado por fruta madura y lista para el consumo ha aumentado drásticamente, por lo que muchas empresas al embalar precondicionan la fruta para madurarla antes del envío, y la fruta madura es más susceptible a las infecciones por éste patógeno. Segundo, no se han realizado ajustes a las prácticas de manipulación (por ejemplo, el uso adicional de desinfectantes) para el precondicionado de fruta. De hecho, muchas plantas de embalaje han disminuido el uso de cloro para minimizar problemas respiratorios en los trabajadores (Snowdon, 2006). El saneamiento es altamente eficaz en la reducción de la pudrición ácida. Tercero, actualmente no está registrado ningún fungicida para el control de la enfermedad en postcosecha (ASOEX, 2004). Según Pinilla (2005a) sólo los fungicidas tebuconazol y propiconazol, inhiben satisfactoriamente el crecimiento del micelio de *Geotrichum candidum*. Finalmente, la desigual maduración de la fruta obliga a cosechar los huertos escalonadamente, lo que incrementa el polvo y por ende las esporas sobre la fruta, aumentando la incidencia de pudriciones (Snowdon, 2006).

Los síntomas de pudrición ácida se presentan principalmente en los mercados de destino y escasamente en fruta almacenada en cámaras frigoríficas¹, no existiendo hasta el momento

¹ José Luis Henríquez Sáez, Ing. Agr., M. S., Ph. D. Profesor Asistente, Departamento de Sanidad Vegetal, Fac. de Cs. Agronómicas, U. de Chile. 2009. (Comunicación personal).

alguna metodología que permita reproducir la enfermedad (Holmes y Clarck, 2002; Michailides y Morgan, 2004). En esta memoria se validó un sistema que permitirá cuantificar el número de frutos que presenten poblaciones epífitas del hongo, pudiéndose emplear para diferentes estudios epidemiológicos, de efectividad de tratamientos químicos y ser utilizado por empresas embaladoras como un sistema de pronóstico temprano de riesgo de pudrición ácida de la fruta.

Es necesario contar con una mezcla de fungicidas que inhiban el desarrollo de los hongos que impiden una acertada enumeración de las colonias de *G. candidum*. El rápido crecimiento y colonización de *Rhizopus* impide el desarrollo de otros hongos y dificulta su cuantificación. Por otro lado, las colonias de *Penicillium* son inicialmente blancas y se confunden con las de *Geotrichum candidum*. Estudios preliminares realizados por Latorre (1992) y Torres *et al.* (2002) señalan que el fungicida dicloran es específico para el control de *Rhizopus* en carozos. Para el control de *Penicillium*, se recomienda una gran variedad de productos, entre los que destacan iprodione (Latorre, 1992; Pinilla y Álvarez, 2003; Nawrath y Henríquez, 2008), imazalil (AFIPA, 2008), pyrimethanil (Nawrath y Henríquez, 2008) y benomyl (Latorre, 1989; Oliveri *et al.*, 2007).

Considerando los antecedentes previamente expuestos se plantearon las siguientes hipótesis y objetivos de trabajo.

Hipótesis:

1. La aplicación de fungicidas a duraznos, antes de ser congelados, inhibe el desarrollo de diferentes hongos saprófitos permitiendo el desarrollo de *Geotrichum candidum* que provoca la pudrición ácida en poscosecha de carozos.
2. El inóculo de *Geotrichum candidum* sobre la fruta es redistribuido en las distintas etapas del proceso de embalaje de duraznos.

Objetivos:

- Determinar la mezcla de fungicidas aplicados antes de congelar los duraznos, que permita un adecuado desarrollo de *Geotrichum candidum* mediante la inhibición de hongos saprofitos.
- Determinar el efecto de diferentes mezclas de fungicidas sobre el crecimiento micelial *in vitro* de dos cepas de *Geotrichum candidum*.
- Determinar el porcentaje de frutos que presentan poblaciones epífitas de *Geotrichum candidum* en duraznos provenientes de huertos comerciales con y sin historial de pudrición ácida, desde cosecha a caja embalada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El trabajo experimental se realizó entre enero y marzo del año 2009. Parte del estudio se llevó a cabo en el huerto del módulo de práctica I del Campus Antumapu de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, Región Metropolitana. Su ubicación geográfica corresponde a 33°34' Latitud Sur y 70°38' Longitud Oeste. También se utilizó fruta proveniente de huertos comerciales proporcionados por la empresa exportadora Comercial Greenvic S.A. Para los análisis se utilizó la infraestructura del laboratorio de Fitopatología de Poscosecha del Departamento de Sanidad Vegetal de la Universidad de Chile.

Metodología

El trabajo experimental correspondió a cuatro ensayos independientes que se detallan a continuación:

Ensayo 1: Efecto de mezclas de fungicidas en la inhibición de hongos saprofitos que dificultan el recuento de *Geotrichum candidum*

Se utilizaron duraznos del cultivar *Zee Lady* de tres huertos comerciales con historial de pudrición ácida (Viconto Pirque, Viconto Maipo y Chicureo) ubicados en la zona de Pirque y Maipo (Región Metropolitana) y Catemu (V Región). La fruta se obtuvo desde la cosecha comercial a la llegada a la planta embaladora y fue trasladada a la Facultad, donde fue tratada con cuatro diferentes mezclas de fungicidas. Como testigo se consideró fruta sin aplicación de fungicidas (Cuadro 1). Dicloran (Botran 75 WP) fue utilizado para inhibir *Rhizopus*, mientras que imazalil (Fungaflor 500 EC), iprodione (Tercel 50 WP), pyrimethanil (Pyrus 400 SC) y benomyl (Polyben 50 WP) fueron utilizados para inhibir *Penicillium*, los dos saprofitos más frecuentes y que dificultan el recuento de *Geotrichum candidum*. La fruta fue tratada por aspersión de las soluciones de los fungicidas. Se utilizaron 24 frutos por repetición y 4 repeticiones por tratamiento.

Cuadro 1. Tratamientos para determinar el efecto de una aspersión de fungicidas a cosecha sobre hongos saprófitos que inhiben el desarrollo de *Geotrichum candidum*.

Tratamiento	Productos utilizados	Dosis /litro	Repeticiones	Frutos/Repetición
1	Testigo sin fungicidas	-	4	24
2	dicloran + imazalil	1,5g + 1 mL	4	24
3	dicloran + iprodione	1,5g + 1g	4	24
4	dicloran + pyrimethanil	1,5g + 1mL	4	24
5	dicloran + benomyl	1,5g + 1g	4	24

La fruta, después de tratada con los fungicidas, fue sometida a un proceso de congelamiento (-17 °C) para verificar la presencia de los hongos sobre la fruta, el que se prolongó por 5 días, tiempo necesario para el congelamiento de toda la superficie de cada uno de los duraznos. Esta práctica se realizó con el fin de destruir el tejido epidermal de la fruta (Michailides *et al.*, 2010) y permitir así el desarrollo de poblaciones de hongos saprófitos que se alimentan de tejido muerto. A continuación la fruta se almacenó en condiciones de cámara húmeda y temperatura ambiente (24 °C) por 5 días, tiempo después del cual se procedió a determinar el porcentaje de frutos con desarrollo de *Geotrichum candidum*, *Rhizopus*, *Penicillium* y otros saprófitos presentes.

Ensayo 2: Efecto de mezclas de fungicidas sobre poblaciones epífitas de *Geotrichum candidum* en duraznos

Para verificar posibles efectos inhibitorios de los fungicidas sobre *Geotrichum candidum*, se realizaron inoculaciones de duraznos del cultivar *Ross* en el huerto de Antumapu, aproximadamente siete días antes de cosecha. Las inoculaciones se hicieron mediante aspersión de una suspensión conidial de 10^5 conidias/mL en agua destilada estéril a partir de cultivos de 7 días de edad de la cepa CRG2, aislada de duraznos con síntomas de pudrición ácida.

Para la aplicación se utilizó un aspersor manual, distribuyendo la suspensión sobre la superficie del fruto, en forma homogénea. Luego los frutos se mantuvieron en los árboles sin ninguna alteración para que se produjera el establecimiento del hongo en ellos, bajo condiciones naturales. Luego sobre la fruta cosechada se efectuó la aplicación de los mismos fungicidas utilizados en el ensayo 1 (Cuadro 1) mediante aspersión, considerándose además dos tratamientos testigo. El primero consideró sólo inoculación del hongo sobre la fruta, para así verificar el efecto de los fungicidas en el resto de los tratamientos, mientras que el segundo correspondió a fruta no inoculada y no tratada con fungicidas, para verificar la posible ocurrencia de poblaciones naturales del hongo sobre la fruta.

Se utilizaron 10 frutos por repetición y 4 repeticiones por tratamiento (Cuadro 2). El ensayo se realizó en bloques, de 4 árboles al azar, distribuyéndose una repetición de cada tratamiento en un mismo árbol (bloque).

Cuadro 2. Tratamientos para determinar el efecto de una aplicación de fungicidas sobre poblaciones epífitas de *Geotrichum candidum* inoculadas en duraznos en precosecha.

Tratamiento	Productos utilizados	Dosis /litro	Repeticiones	Frutos/Repetición
1	Testigo no inoculado s/fungicidas	-	4	10
2	Testigo inoculado s/fungicidas	-	4	10
3	dicloran + imazalil	1,5g + 1 mL	4	10
4	dicloran + iprodione	1,5g + 1g	4	10
5	dicloran + pyrimethanil	1,5g + 1mL	4	10
6	dicloran + benomyl	1,5g + 1g	4	10

Después de realizadas las aplicaciones de fungicidas la fruta fue congelada en freezer (-17 °C) durante un período de 5 días y luego mantenida en una cámara húmeda por 5 días a temperatura ambiente (24° C) para posteriormente evaluar el porcentaje de frutos con desarrollo de *Geotrichum candidum* y otros saprófitos presentes.

Ensayo 3. Efecto *in vitro* de mezclas de fungicidas en el crecimiento miceliar de 2 cepas de *Geotrichum candidum*

Discos de micelio de 5 mm de diámetro de cultivos de 7 días de 2 cepas de *Geotrichum candidum*, GNRDC y CRG2, fueron transferidos a placas Petri con agar papa dextrosa enmendado con las distintas mezclas de fungicidas evaluados en los ensayos anteriores (Figura 1), todos a la dosis indicada anteriormente y a la mitad de la misma dosis (Cuadro 3), y se compararon con el crecimiento alcanzado en medio de cultivo sin fungicida. Se utilizaron 4 repeticiones por tratamiento para cada una de las cepas de *Geotrichum candidum* utilizadas (Cuadro 3), por lo que se utilizó una cantidad de 72 placas en total para el ensayo.

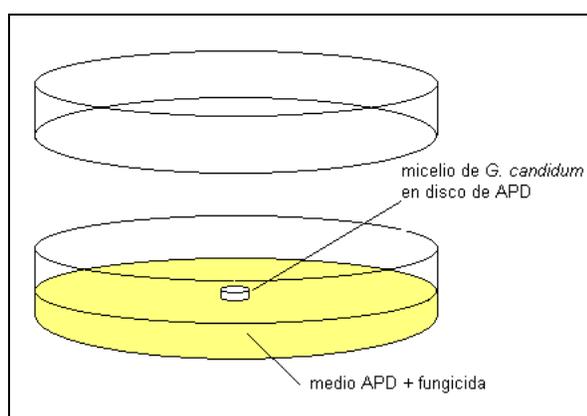


Figura 1. Esquema de la siembra de los discos de micelio de *Geotrichum candidum* en medio APD enmendado con las mezclas de fungicidas.

Cuadro 3. Tratamientos para determinar el efecto *in vitro* de mezclas de fungicidas sobre el crecimiento micelial de 2 cepas de *Geotrichum candidum*.

Tratamientos	Productos utilizados	Dosis /litro	Placas/ tratamiento
1	Testigo s/fungicidas	-	4
2	dicloran + imazalil	1,5g + 1 mL	4
3	dicloran + imazalil	0,75g + 0,5 mL	4
4	dicloran + iprodione	1,5g + 1g	4
5	dicloran + iprodione	0,75g + 0,5g	4
6	dicloran + pyrimethanil	1,5g + 1mL	4
7	dicloran + pyrimethanil	0,75g + 0,5 mL	4
8	dicloran + benomyl	1,5g + 1g	4
9	dicloran + benomyl	0,75g + 0,5g	4

Al sexto día de incubación a 21 °C se midió el crecimiento radial del micelio de cada cepa y se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio del hongo para cada tratamiento, con respecto al crecimiento promedio presentado por el testigo, mediante la siguiente fórmula:

$$\% I\epsilon = \left(\frac{CMTE - CMTR}{CMTE} \right) * 100$$

Donde,

% Iε = Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial

CMTE = Promedio del crecimiento radial del micelio del testigo (mm)

CMTR = Crecimiento radial del micelio de cada tratamiento (mm)

Ensayo 4. Cuantificación de poblaciones epífitas de *Geotrichum candidum* en postcosecha

Se trabajó con fruta de la variedad *Sweet September* proveniente de cuatro huertos comerciales, la mitad de ellos con historial de pudrición ácida (El Resguardo y Agrícola Santa Sofía) ubicados en la zona de Paine y Melipilla en la Región Metropolitana, y la otra mitad sin historial (huertos de los productores Juan Cristóbal Fernández y Fernando Zagal) ubicados en la zona de Melipilla en la Región Metropolitana y San Vicente de Tagua Tagua en la VI Región, respectivamente. Esto, para hacer una comparación entre las diferentes situaciones y además comprobar si la ausencia del desarrollo de la enfermedad en un huerto se debería a la ausencia del hongo en los frutos de ese huerto o debido a que no se han dado las condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad.

La fruta fue tratada por la empresa exportadora con cloro a 75 ppm, en forma de hipoclorito de sodio aplicado en el hidrocooler, e iprodione (Rovral 4 Flo) y fenhexamid (Teldor 500 SC), aplicados en la etapa de embalaje junto a la cera (Primafresh 50V)².

El muestreo de los frutos se realizó desde la cosecha comercial en los bins de cosecha al llegar a la planta de embalaje, a salidas del hidrocooler y desde cajas embaladas, para determinar la presencia del hongo sobre la fruta en 3 etapas del proceso de embalaje. En cada huerto y en las 3 etapas de muestreo se consideraron 4 repeticiones de 48 frutos cada (Cuadro 4).

Cuadro 4. Etapas de muestreo de duraznos *Sweet September* en postcosecha para cuantificar las poblaciones epífitas de *Geotrichum candidum*.

Tratamientos	Etapas postcosecha	Repeticiones	Frutos/Repetición
1	bins llegada a planta	4	48
2	salida de hidrocooler	4	48
3	después de embalaje	4	48

La fruta fue posteriormente tratada con la mezcla de fungicidas dicloran + pyrimethanil (1,5g + 1mL / litro) para evitar el desarrollo de hongos saprófitos, congelada y a continuación almacenada en condiciones de cámara húmeda y temperatura ambiente por 5 días. Luego de ese tiempo, se determinó el porcentaje de frutos con presencia de *Geotrichum candidum*.

Diseño experimental y Análisis estadístico

Los ensayos 1, 2 y 4 se realizaron con un diseño de bloques completos al azar. En el ensayo 2 cada árbol correspondió a un bloque, mientras que en los ensayos 1 y 4 a cada productor. En el ensayo 3 y el análisis de cada productor en los ensayos 1 y 4 el diseño fue completamente al azar.

Los resultados se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA) y las medias se separaron con el test de Tukey (Steel y Torrie, 1985). Los valores porcentuales fueron transformados con la transformación angular de Bliss, previo al análisis estadístico.

² Juan Carlos Kania, Ing. Agr. Jefe de Control de calidad, Comercial Greenvic S. A. 2009. (Comunicación personal).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo 1: Efecto de mezclas de fungicidas en la inhibición de hongos saprofitos que dificultan el recuento de *Geotrichum candidum*

La fruta testigo del huerto Viconto Pirque presentó desarrollo de poblaciones de *Rhizopus* y *Cladosporium*, no detectándose colonias de *Geotrichum candidum*, *Penicillium* u otros (Cuadro 5). El alto porcentaje de desarrollo de *Cladosporium* en los frutos del tratamiento testigo podría haber impedido el desarrollo de los otros hongos, ya que sus poblaciones cubrieron completamente los frutos (Figura 2).



Figura 2. Duraznos *Zee Lady* del tratamiento testigo con desarrollo de *Rhizopus* (micelio gris algodonoso) y *Cladosporium* (micelio verde), luego de ser congelados por 4 días y mantenidos en cámara húmeda por 5 días (huerto Viconto Pirque).

Cuadro 5. Porcentaje de duraznos *Zee Lady* con desarrollo de colonias de diferentes hongos saprofitos luego de ser congelados por 4 días (huerto Viconto Pirque)

Tratamiento	% frutos ^x			
	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.
Testigo sin fungicidas	0 c ^y	0 a	12,5 b	92,7 a
dicloran + imazalil	17,7 bc	4,2 a	69,8 a	53,1 b
dicloran + iprodione	76,4 a	0 a	4,2 b	25 b
dicloran + pyrimethanil	43,4 ab	0 a	88,1 a	97,9 a
dicloran + benomyl	69,8 a	0 a	84,4 a	26,4 b

^x La contabilización de cada hongo se realizó en todos los frutos, permitiendo que un mismo fruto fuera indexado más de una vez.

^y Letras iguales en las columnas indican que no existen diferencias significativas según ANDEVA y posterior prueba de comparación múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$).

En los tratamientos con mezclas de fungicidas, la fruta presentó poblaciones de *Rhizopus*, *Cladosporium* y *Geotrichum candidum*, no así de *Penicillium*, que sólo se observó al utilizar la mezcla dicloran + imazalil (Cuadro 5).

El porcentaje de frutos con *Rhizopus* aumentó con los tratamientos fungicidas, con la excepción de dicloran + iprodione (Cuadro 5). En el caso de *Cladosporium*, el porcentaje de duraznos con presencia del hongo disminuyó con los tratamientos fungicidas, a excepción de la mezcla dicloran + pyrimethanil. Las mezclas de dicloran + iprodione, dicloran + pyrimethanil y dicloran + benomyl aumentaron el número de frutos con desarrollo de *Geotrichum candidum* (Cuadro 5).

Los frutos del tratamiento testigo del huerto Chicureo presentaron desarrollo de colonias de los hongos *Rhizopus*, *Cladosporium* y *Geotrichum candidum*, no encontrándose colonias de *Penicillium* o *Aspergillus*. En este caso la fruta sin tratamiento fungicida presentó desarrollo de poblaciones de *Geotrichum candidum*, las que fueron observadas a pesar de la abundancia de *Rhizopus*. El tratamiento testigo presentó un 100% de frutos con poblaciones de *Geotrichum candidum* y *Rhizopus*, desarrollándose en muchos casos las poblaciones de *Geotrichum candidum* bajo las de *Rhizopus*, lo que dificultó su cuantificación. A diferencia del huerto anterior en que el saprófito predominante fue *Cladosporium*, en la fruta de este huerto predominó *Rhizopus* (Figura 3). Al parecer, las colonias de *G. candidum* crecen más lentamente que otros hongos, no alcanzando a desarrollarse frente al crecimiento de *Cladosporium*, pero sí frente a *Rhizopus*.



Figura 3. Duraznos *Zee Lady* del tratamiento testigo con desarrollo de colonias de *Geotrichum candidum* (micelio blanco) y *Rhizopus* (micelio gris algodonoso), luego de ser congelados por 4 días y mantenidos en cámara húmeda por 5 días (huerto Chicureo).

A diferencia de lo observado con la fruta del huerto Viconto Pirque, se observó desarrollo de *Penicillium* en los frutos tratados con las distintas mezclas de fungicidas, a excepción del tratamiento dicloran + pyrimethanil (Cuadro 6).

Cuadro 6. Porcentaje de duraznos *Zee Lady* con desarrollo de colonias de diferentes hongos saprófitos luego de ser congelados por 4 días (huerto Chicureo)

Tratamiento	% frutos ^x				
	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.
Testigo sin fungicidas	100 a ^y	0 a	100 a	51 a	0 a
dicloran + imazalil	15,6 b	1 a	55,2 c	10,4 a	4,2 a
dicloran + iprodione	100 a	3,1 a	79,2 b	31,3 a	0 a
dicloran + pyrimethanil	100 a	0 a	62,5 c	43,8 a	0 a
dicloran + benomyl	97 a	2,6 a	84,6 b	10,2 a	0 a

^x La contabilización de cada hongo se realizó en todos los frutos, permitiendo que un mismo fruto fuera indexado más de una vez.

^y Letras iguales en las columnas indican que no existen diferencias significativas según ANDEVA y posterior prueba de comparación múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$).

Ninguna de las mezclas de fungicidas resultó efectiva para reducir las poblaciones de *Cladosporium* en la fruta de este huerto (Cuadro 6). En el caso de *Rhizopus*, todas las mezclas presentaron menores porcentajes de frutos con desarrollo del hongo que el testigo, pero fueron los tratamientos dicloran + imazalil y dicloran + pyrimethanil los más efectivos en reducir el porcentaje de duraznos con desarrollo de este hongo. Sólo el tratamiento dicloran + imazalil disminuyó el porcentaje promedio de duraznos con colonias de *Geotrichum candidum*. El resto de los tratamientos presentaron altos porcentajes de frutos con presencia del hongo.

La fruta testigo del huerto Viconto Maipo presentó desarrollo de colonias de los hongos *Penicillium*, *Rhizopus*, *Aspergillus* y *Cladosporium*, encontrándose colonias de *Geotrichum candidum* en el resto de los tratamientos (Cuadro 7).

Cuadro 7. Porcentaje de duraznos *Zee Lady* con desarrollo de colonias de diferentes hongos saprófitos luego de ser congelados por 4 días (huerto Viconto Maipo)

Tratamiento	% frutos ^x				
	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.
Testigo sin fungicidas	0 b ^y	40,6 a	93,8 a	100 a	18,8 a
dicloran + imazalil	9,4 a	1 b	84,4 a	24 b	0 b
dicloran + iprodione	5,2 b	3,1 b	75 a	22,9 b	1 b
dicloran + pyrimethanil	11,5 a	0 b	67,7 a	39,6 b	0 b
dicloran + benomyl	13,5 a	1 b	61,5 a	19,8 b	0 b

^x La contabilización de cada hongo se realizó en todos los frutos, permitiendo que un mismo fruto fuera indexado más de una vez.

^y Letras iguales en las columnas indican que no existen diferencias significativas según ANDEVA y posterior prueba de comparación múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$).

Al igual que la fruta de Viconto Paine (Cuadro 5), el testigo no presentó frutos con desarrollo de poblaciones de *Geotrichum candidum*, ello probablemente se correlaciona con el alto porcentaje promedio de frutos con *Rhizopus* en el testigo (Cuadro 7), ya que se observó que *Rhizopus* cubría completamente los frutos, dificultando la identificación de los

otros hongos presentes (Figura 4). Esto, junto con el alto porcentaje de frutos con desarrollo de *Cladosporium*, pudo haber influido en la falta de desarrollo de colonias de *Geotrichum candidum* observado en el testigo. Fernández-Trujillo *et al.* (1997) observaron en ensayos realizados con duraznos, que el alto crecimiento de *Cladosporium* a 20°C y 95% de humedad relativa después de haber mantenido la fruta a bajas temperaturas, se correlacionaba con el limitado crecimiento de otros microorganismos. Según estos antecedentes, bajas temperaturas, seguidas de condiciones favorables para su desarrollo, permitieron que *Cladosporium* se impusiera sobre el resto de los hongos saprófitos en la superficie de los frutos.



Figura 4. Duraznos *Zee Lady* del tratamiento testigo con desarrollo de *Cladosporium* (1) y *Rhizopus* (2) luego de ser congelados por 4 días y mantenidos en cámara húmeda por 5 días (huerto Viconto Maipo).

En el caso de *Penicillium*, todas las mezclas de fungicidas presentaron resultados similares, obteniéndose bajos porcentajes de frutos con desarrollo de colonias del hongo, a diferencia del testigo que presentó un 40,62 % de duraznos con poblaciones de *Penicillium* (Cuadro 7). Esto sugiere que los duraznos venían con una alta carga de este hongo desde el huerto, a diferencia de lo que ocurrió con la fruta del resto de los productores para este ensayo, en que hubo un bajo porcentaje de frutos con colonias del hongo. Igualmente, todos los tratamientos presentaron porcentajes de frutos con poblaciones de *Cladosporium* y *Aspergillus* menores al testigo (Cuadro 7) indicando que todas las mezclas de fungicidas fueron efectivas para reducir las poblaciones estos hongos.

A pesar del bajo porcentaje de frutos con desarrollo de *Geotrichum candidum* en todas las mezclas de fungicidas, los tratamientos dicloran + imazalil, dicloran + pyrimethanil y dicloran + benomyl fueron igualmente efectivos en permitir el desarrollo de las poblaciones del hongo (Cuadro 7). Sin embargo, es importante señalar que el huerto Viconto Maipo presentó en general un porcentaje mucho menor de frutos con presencia de *Geotrichum candidum* que los otros huertos, lo que podría deberse a una menor cantidad de inóculo proveniente del huerto. Aún así este huerto tiene historial de pudrición ácida, sugiriendo que pequeñas cantidades de inóculo provenientes del huerto son suficientes para provocar la enfermedad en postcosecha.

Al promediar los resultados obtenidos con la fruta de los tres huertos (Cuadro 8), se observó que las mezclas de fungicidas dicloran + iprodione, dicloran + benomyl y dicloran + pyrimethanil permitieron un mayor porcentaje de duraznos con desarrollo de poblaciones epífitas de *Geotrichum candidum* (Cuadro 8). Estudios anteriores realizados por Morris (1982) con cepas de *Geotrichum candidum* en cítricos, demostraron que cuando la humedad era alta, después de sumergir la fruta en agua o tratamientos con benomyl, la incidencia del hongo aumentaba considerablemente. Lo mismo corroboraron Cohen *et al.* (1991) al comprobar la predisposición a la pudrición causada por *Geotrichum candidum* después de sumergir cítricos en agua. Por lo tanto, la inmersión de la fruta en un fungicida inefectivo contra *Geotrichum candidum*, puede incrementar significativamente las pérdidas por pudrición por parte de este hongo. Asimismo, estudios previos realizados por Thompson (1985, citado por Latorre 1996) afirman que benomyl en postcosecha no tiene acción sobre *Geotrichum candidum*. Latorre (1989) no señala al fungicida dicloran para el control de este hongo, mientras que pyrimethanil e iprodione tampoco son señalados para el control de *G. candidum* (AFIPA, 2008).

Por el contrario, la mezcla de imazalil + dicloran fue con la que se obtuvo un menor porcentaje de frutos con desarrollo de *G. candidum* (Cuadro 8). Por el contrario, Wardowski y Brown (1991, citados por Cabras *et al.* 1999) afirman que imazalil no es efectivo en el control de la pudrición ácida causada por *Geotrichum candidum*, mientras que Eckert (1992) señala que los fungicidas imidazólicos no controlan esta pudrición. No obstante, estos estudios fueron realizados sobre tejido vivo, a diferencia del actual en que se mide la capacidad saprofitica del hongo, lo que podría explicar la diferencia de resultados con respecto a imazalil.

Cuadro 8. Porcentaje de duraznos *Zee Lady* con desarrollo de colonias de diferentes hongos saprófitos luego de ser congelados por 4 días (Promedio de los tres huertos)

Tratamiento	% frutos ^x				
	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.
Testigo sin fungicidas	33,3 b ^y	13,5 a	68,8 a	81,2 a	6,3 a
dicloran + imazalil	14,2 c	2,1 b	69,8 ab	29,2 c	1,4 b
dicloran + iprodione	60,5 a	2,1 b	52,8 b	26,4 c	0,4 b
dicloran + pyrimethanil	51,6 a	0 b	72,8 a	60,4 b	0 b
dicloran + benomyl	60,1 a	1,2 b	76,8 a	18,8 c	0 b

^x La contabilización de cada hongo se realizó en todos los frutos, permitiendo que un mismo fruto fuera indexado más de una vez.

^y Letras iguales en las columnas indican que no existen diferencias significativas según ANDEVA y posterior prueba de comparación múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$).

Para *Rhizopus*, no se apreciaron diferencias notorias entre los tratamientos y el testigo, a excepción de la mezcla dicloran + iprodione que disminuyó el porcentaje de frutos con el hongo (Cuadro 8). Estos resultados difieren de los obtenidos por Northover y Zhou (2002), quienes obtuvieron de 85 a 100% de control de la pudrición causada por *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) en duraznos con tratamientos de postcosecha de dicloran, y un control del 55 al 97 % con iprodione. Resultados similares fueron obtenidos por Briones

(1994), quien obtuvo notables efectos sobre el crecimiento de *Rhizopus stolonifer* en tratamientos de postcosecha en cerezas con dicloran e iprodione. En investigaciones previas en postcosecha de melones, Schulze (1984) tampoco logró controlar a *Rhizopus* mediante la inmersión de frutos con benomyl. Northover y Zhou (2002) señalan que se ha demostrado por años que los fungicidas utilizados para el control de *Rhizopus stolonifer* causan resistencia. Los altos porcentajes de frutos con poblaciones de *Rhizopus* en todos los tratamientos fungicidas, sugieren que el fungicida dicloran no cumplió el objetivo dentro de la mezcla, es decir, inhibir el desarrollo del hongo. Si se trata de una especie de *Rhizopus* de menor sensibilidad, esto podría explicar la reducida eficacia de dicloran para inhibir el desarrollo del patógeno. Por otro lado, dicloran podría tener una alta eficacia inhibiendo la capacidad parasítica del hongo, cuando éste crece y se desarrolla en tejido vivo, tal como lo demuestran los estudios antes mencionados y no inhibiendo su capacidad saprofítica, cuando crece y se desarrolla sobre tejido muerto. Sin embargo, es importante señalar que a pesar de que en los tratamientos con mezclas de fungicidas se presentaron poblaciones del hongo, éstas recubrían los frutos en menor medida que en el testigo (Figura 5), permitiendo el recuento de otros hongos.

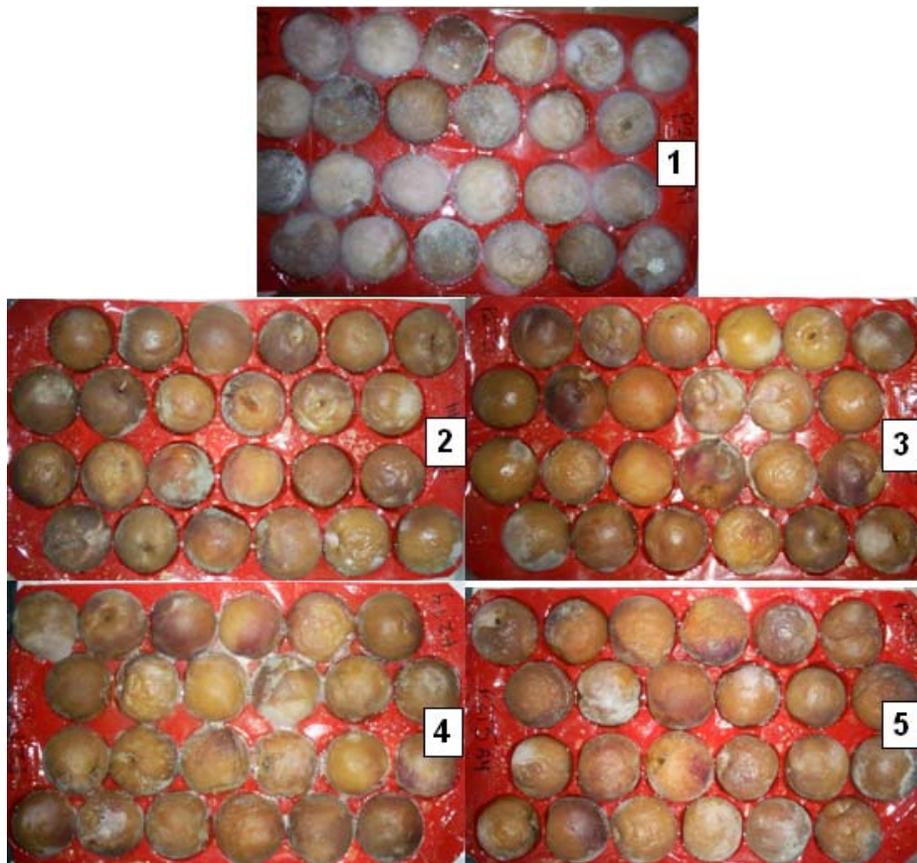


Figura 5. Duraznos *Zee Lady* con desarrollo de colonias de diferentes hongos saprófitos luego de ser tratados con diferentes mezclas de fungicidas, congelados por 4 días y mantenidos en cámara húmeda por 5 días. 1: Testigo sin fungicidas, 2: dicloran + imazalil, 3: dicloran + iprodione, 4: dicloran + pyrimethanil y 5: dicloran + benomyl.

Cabe destacar que en la fruta de todos los productores se presentó una repetición para el tratamiento dicloran + iprodione cubierta de una cepa distinta de *Rhizopus*, la cual no respondía de ninguna manera a la mezcla de fungicidas, por lo que fue eliminada del análisis de datos. Se trataba de una cepa mucho más tupida, blanca y algodonosa sin la típica esporulación negra (Figura 6). La sensibilidad de los patógenos a los fungicidas varía entre géneros y también entre especies de un mismo género. Con algo de experiencia algunos hongos se pueden identificar en forma macroscópica. Sin embargo, en otros casos se debe identificar luego de cuidadosos estudios microscópicos de cultivos puros. Por ejemplo: *Rhizopus stolonifer*, *R. arrhizus* Fisher y *R. circinans* Tiegh son muy similares morfológicamente pero responden en forma diferente a algunos fungicidas y a la temperatura (Auger, 1990). Según Ogawa y Manji (1984; citados por Latorre, 1989) dicloran sólo presenta acción sobre *Rhizopus stolonifer* y no sobre otras especies del género tales como *R. arrhizus* y *R. circinans*.

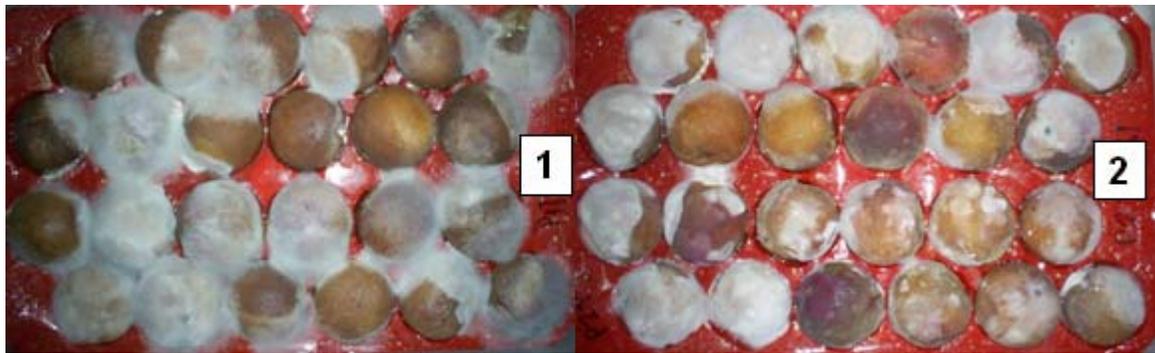


Figura 6. Duraznos *Zee Lady* con desarrollo de colonias de una cepa distinta de *Rhizopus*, luego de ser tratados con dicloran + iprodione, congelados por 4 días y mantenidos en cámara húmeda por 5 días. 1: huerto Viconto Pirque y 2: huerto Chicureo.

En el caso de *Cladosporium*, las mezclas de fungicidas dicloran + iprodione, dicloran + benomyl y dicloran + imazalil presentaron los mejores resultados inhibiendo el desarrollo del hongo (Cuadro 8). Estudios anteriores realizados por Tello (2003) señalaron que el fungicida benomyl fue efectivo contra *Cladosporium herbarum* (Pers.: Fr.) Link en vides, mientras que iprodione es destacado como efectivo para el control de *Cladosporium* (AFIPA, 2008). Tanto para *Aspergillus* como para *Penicillium*, todas las mezclas de fungicidas fueron efectivas en disminuir el porcentaje de frutos con desarrollo del hongo (Cuadro 8).

Si bien las mezclas de fungicidas no eliminaron completamente a los saprófitos, éstas impidieron que colonizaran completamente los frutos, permitiendo que se desarrollara *Geotrichum candidum* (Figura 5). Es así como se apreció un mayor porcentaje de frutos con *G. candidum* sobre los frutos tratados con mezclas de fungicidas, debido a la menor presencia del resto de los hongos observados, que sobre el testigo sin aplicación de fungicidas.

Ensayo 2: Efecto de mezclas de fungicidas sobre poblaciones epífitas de *Geotrichum candidum* en duraznos

En ambos tratamientos testigos, con y sin inoculación de *G. candidum*, los duraznos presentaron desarrollo de colonias de los hongos *Geotrichum candidum*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Cladosporium* y *Aspergillus*, siendo *Rhizopus* el saprófito predominante. En los tratamientos con aplicación de fungicidas se presentaron los mismos hongos, a excepción de *Aspergillus* (Cuadro 9, Figura 7).

Cuadro 9. Porcentaje de duraznos *Ross* con desarrollo de colonias de *Geotrichum candidum* y otros hongos saprófitos, luego de ser congelados por 4 días (Huerto práctica I Antumapu)

Tratamiento	% frutos ^x				
	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Rhizopus sp.</i>	<i>Cladosporium sp.</i>	<i>Aspergillus sp.</i>
Testigo no inoculado s/fungicidas	17,5 c ^y	40 a	97,5 a	52 ab	17,5 a
Testigo inoculado s/fungicidas	55 b	45 a	97,5 a	25 b	20 a
dicloran + imazalil	90 a	12,5 b	25 c	75 a	0 b
dicloran + iprodione	90 a	12,5 b	52,5 b	32 b	0 b
dicloran + pyrimethanil	100 a	0 b	40 bc	68 a	0 b
dicloran + benomyl	90 a	5 b	55 b	75 a	0 b

^x La contabilización de cada hongo se realizó en todos los frutos, permitiendo que un mismo fruto fuera indexado más de una vez.

^y Letras iguales en las columnas indican que no existen diferencias significativas según ANDEVA y posterior prueba de comparación múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$).

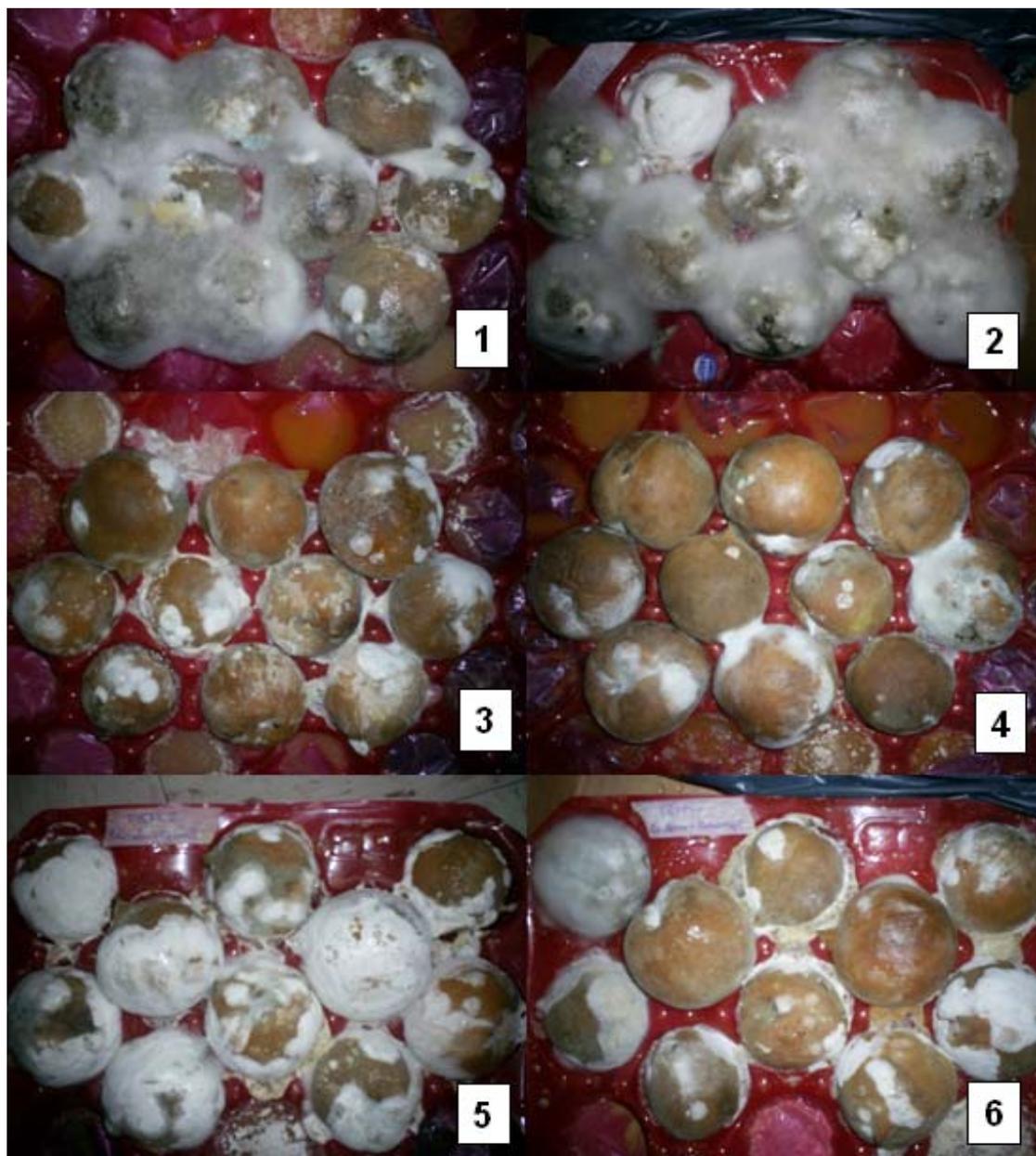


Figura 7. Duraznos *Ross* con desarrollo de colonias de *Geotrichum candidum* y otros hongos saprófitos, luego de ser inoculados, tratados con diferentes mezclas de fungicidas, congelados por 4 días y mantenidos en cámara húmeda por 5 días. 1: Testigo no inoculado sin fungicidas, 2: Testigo inoculado sin fungicidas, 3: dicloran + imazalil, 4: dicloran + iprodione, 5: dicloran + pyrimethanil y 6: dicloran + benomyl.

El testigo inoculado presentó un mayor porcentaje de frutos con desarrollo de *Geotrichum candidum* que el testigo sin inocular, demostrando la efectividad de la inoculación. Además, la presencia de poblaciones del hongo en el tratamiento testigo sin inocular (Cuadro 9) demuestra la ocurrencia de poblaciones naturales del hongo en el huerto de Antumapu.

El alto porcentaje de frutos con presencia de *Rhizopus* y *Penicillium* en los testigos (Cuadro 9) probablemente se debió a la presencia de precipitaciones durante la realización de este ensayo, favoreciendo el desarrollo de estos hongos. Además el abundante crecimiento de *Rhizopus* pudo haber afectado el desarrollo y colonización de los otros hongos. Northover y Zhou (2002) señalan que la rápida diseminación de *Rhizopus stolonifer* entre frutos adyacentes resulta en duraznos podridos y cubiertos de micelio y esporas. En el caso de *Geotrichum candidum* y *Penicillium*, en muchas ocasiones sus colonias se desarrollaron bajo *Rhizopus*, dificultando su identificación y recuento (Figura 8).

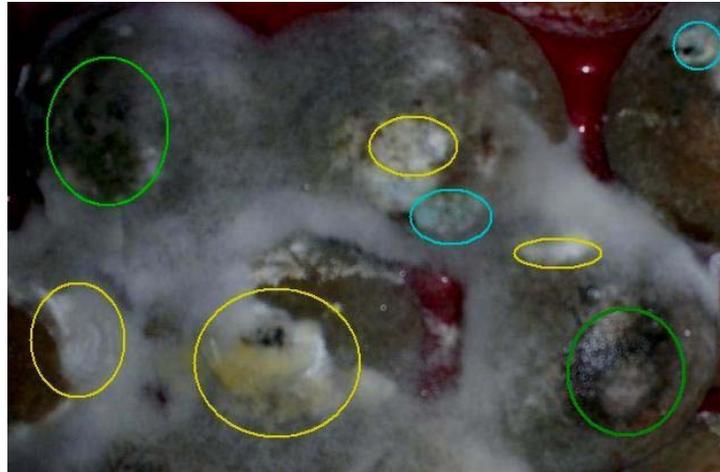


Figura 8. Duraznos Ross del testigo inoculado, con desarrollo de colonias de *Geotrichum candidum* (círculos amarillos), *Penicillium* (círculos celestes) y *Cladosporium* (círculos verdes) bajo el micelio de *Rhizopus* luego de ser congelados por 4 días y mantenidos en cámara húmeda por 5 días.

No se observaron diferencias entre las distintas mezclas de fungicidas sobre el porcentaje de frutos con presencia de *Geotrichum candidum*, sin embargo todos se diferenciaron de ambos testigos, aumentando el porcentaje de duraznos con desarrollo de este hongo.

Con respecto a *Penicillium*, se observó que todas las mezclas de fungicidas se diferenciaron de los testigos, permitiendo nulos a muy bajos porcentajes de frutos con desarrollo del hongo (Cuadro 9). Estos resultados fueron similares a los observados por Rosales (2004), quien obtuvo un alto control por parte de pyrimethanil sobre poblaciones naturales de *Penicillium expansum* (Link) Thom. en manzanas; por Li y Xiao (2008), quienes afirman que las poblaciones de *Penicillium expansum* pueden ser efectivamente controladas con pyrimethanil; y por D'Aquino *et al.* (2006), quienes concluyeron que los tratamientos de postcosecha con pyrimethanil representan una opción efectiva para el control de las pudriciones causadas por *Penicillium* en cítricos. Tello (2003) determinó que dicloran y benomyl eran efectivos en el control de *Penicillium* en aplicaciones sobre uva de mesa y ensayos *in vitro*. Por otro lado, Abildgren *et al.* (1987) confirmaron que la mezcla de dicloran + iprodione era efectiva no sólo contra numerosas especies de *Rhizopus*, sino también de *Penicillium* en ensayos *in vitro*. Finalmente, Altieri *et al.* (2005), señalan que el

fungicida imazalil es efectivo en el control de *Penicillium digitatum* Sacc. y *Penicillium italicum* Wehmer en postcosecha de cítricos.

A pesar de que todos los tratamientos disminuyeron el porcentaje de frutos con desarrollo de *Rhizopus*, diferenciándose de ambos testigos, el tratamiento dicloran + imazalil se destacó, aunque imazalil no es indicado para el control de *Rhizopus*, a diferencia de dicloran (AFIPA, 2008). En el caso de *Aspergillus*, todos los tratamientos fueron efectivos al inhibir completamente el desarrollo del hongo, diferenciándose de ambos testigos (Cuadro 9). Para *Cladosporium* sólo la mezcla de dicloran + iprodione se diferenció del resto de las mezclas de fungicidas, presentando un menor porcentaje de frutos con poblaciones del hongo (Cuadro 9, Figura 7), al igual que lo observado en el ensayo anterior donde esta mezcla de ingredientes activos también redujo las poblaciones del hongo.

Todas las mezclas de fungicidas permitieron observar y realizar un adecuado recuento de las poblaciones de *Geotrichum candidum* inoculadas en precosecha, apreciándose un mayor porcentaje de frutos con *Geotrichum candidum* sobre los frutos tratados con mezclas de fungicidas, que sobre los testigos sin aplicación de fungicidas (Cuadro 9). Aunque los fungicidas no eliminaron completamente a los saprófitos, impidieron que éstos colonizaran completamente los frutos, permitiendo que se desarrollara el hongo. Esto se apreció especialmente en el caso de los duraznos tratados con dicloran + pyrimethanil, que fueron completamente cubiertos por las poblaciones de *G. candidum* (Figura 7).

Ensayo 3. Efecto *in vitro* de mezclas de fungicidas en el crecimiento miceliar de 2 cepas de *Geotrichum candidum*

Todas las mezclas de fungicidas produjeron una importante inhibición del crecimiento miceliar en ambas cepas de *Geotrichum candidum*, con resultados muy similares, aún cuando en los ensayos de crecimiento sobre duraznos previamente congelados hubieran permitido un 100% de desarrollo de poblaciones del hongo (Cuadro 10). Posiblemente esta diferencia se deba a la ausencia del resto de los organismos presentes en el resto de los ensayos.

Los tratamientos fungicidas que se destacaron fueron dicloran + benomyl y dicloran + pyrimethanil, ambos a la mitad de la dosis, ya que presentaron un menor porcentaje de inhibición del micelio de *Geotrichum candidum* (Cuadro 10, Figura 9), diferenciándose estadísticamente del resto de los tratamientos. Al reducir las dosis a la mitad, en el caso de dicloran + pyrimethanil y dicloran + benomyl, se redujo también el efecto sobre el crecimiento miceliar de la mezcla de fungicidas.

Cuadro 10. Porcentaje de inhibición *in vitro* del crecimiento micelial de 2 cepas de *Geotrichum candidum* en medio agar papa dextrosa enmendado con mezclas de fungicidas.

Tratamiento	Dosis/Litro	Cepa	
		GNRDC	CRG2
Testigo s/fungicidas	-	0 f ^x	0 f
dicloran + imazalil	1,5g + 1 mL	99,5 a	97,9 a
dicloran + imazalil	0,75g + 0,5 mL	95,9 a	95,5 ab
dicloran + iprodione	1,5g + 1g	93,9 ab	94,9 ab
dicloran + iprodione	0,75g + 0,5g	88,8 bc	88,7 bc
dicloran + pyrimethanil	1,5g + 1mL	88,5 bc	88,9 bc
dicloran + pyrimethanil	0,75g + 0,5 mL	75 d	75,4 d
dicloran + benomyl	1,5g + 1g	84,8 c	85,3 c
dicloran + benomyl	0,75g + 0,5g	66,3 e	55,6 e

^x Letras iguales en las columnas indican que no existen diferencias significativas según ANDEVA y posterior prueba de comparación múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$).

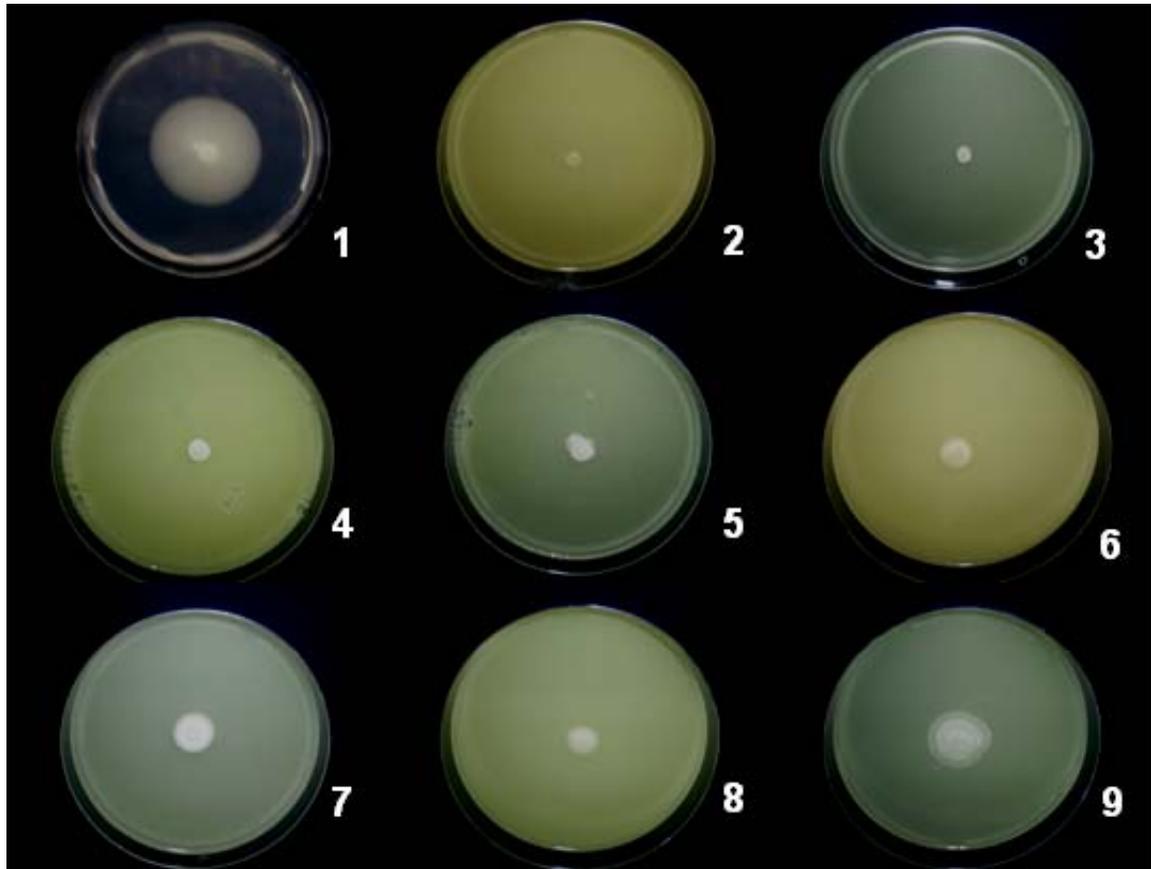


Figura 9. Inhibición *in vitro* del crecimiento micelial de *Geotrichum Candidum*, cepa GNRDC, en medio agar papa dextrosa enmendado con mezclas de fungicidas. 1: Testigo sin fungicidas, 2: dicloran + imazalil (1,5g + 1 mL), 3: dicloran + imazalil (0,75g + 0,5 mL), 4: dicloran + iprodione (1,5g + 1 mL), 5: dicloran + iprodione (0,75g + 0,5 mL), 6: dicloran + pyrimethanil (1,5g + 1 mL), 7: dicloran + pyrimethanil (0,75g + 0,5 mL), 8: dicloran + benomyl (1,5g + 1 mL) y 9: dicloran + benomyl (0,75g + 0,5 mL).

El tratamiento dicloran + imazalil fue el más activo en la inhibición de ambas cepas de *Geotrichum candidum*, junto con dicloran + iprodione en dosis alta, lo que se reflejó en el alto porcentaje de inhibición que fue muy cercano al 100%. Esto indica que son más eficientes en su control, con mayor actividad sobre el hongo que los restantes fungicidas (Figura 9).

Ensayo 4. Cuantificación de poblaciones epífitas de *Geotrichum candidum* en el proceso de postcosecha

Los resultados de los huertos con historial de pudrición ácida indican que hubo diferencias entre las distintas etapas del proceso de postcosecha con respecto a *Geotrichum candidum*, aumentando el porcentaje de frutos con poblaciones epífitas en el último punto de muestreo (Cuadros 11 y 12, Figuras 10 y 11).

Cuadro 11. Porcentaje de frutos con poblaciones de *Geotrichum candidum* y otros hongos sapófitos en tres etapas de postcosecha en duraznos *Sweet September* (huerto El Resguardo).

Punto de muestreo	% frutos ^x			
	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.
bins llegada a planta	69,7 b ^y	0 a	49,9 a	78 a
salida de hidrocóoler	91,7 a	2,1 a	12,9 b	45,7 b
caja embalada	99 a	0 a	3,1 b	0 c

^x La contabilización de cada hongo se realizó en todos los frutos, permitiendo que un mismo fruto fuera indexado más de una vez.

^y Letras iguales en las columnas indican que no existen diferencias significativas según ANDEVA y posterior prueba de comparación múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$).

Cuadro 12. Porcentaje de frutos con poblaciones de *Geotrichum candidum* y otros hongos sapófitos en tres etapas de postcosecha en duraznos *Sweet September* (huerto Agrícola Santa Sofía).

Punto de muestreo	% frutos ^x			
	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.
bins llegada a planta	73,2 ab ^y	1 a	24,4 a	65 a
salida de hidrocóoler	59,9 b	0,5 a	30,2 a	74,5 a
caja embalada	94,3 a	0,5 a	5,2 b	0 b

^x La contabilización de cada hongo se realizó en todos los frutos, permitiendo que un mismo fruto fuera indexado más de una vez.

^y Letras iguales en las columnas indican que no existen diferencias significativas según ANDEVA y posterior prueba de comparación múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$).

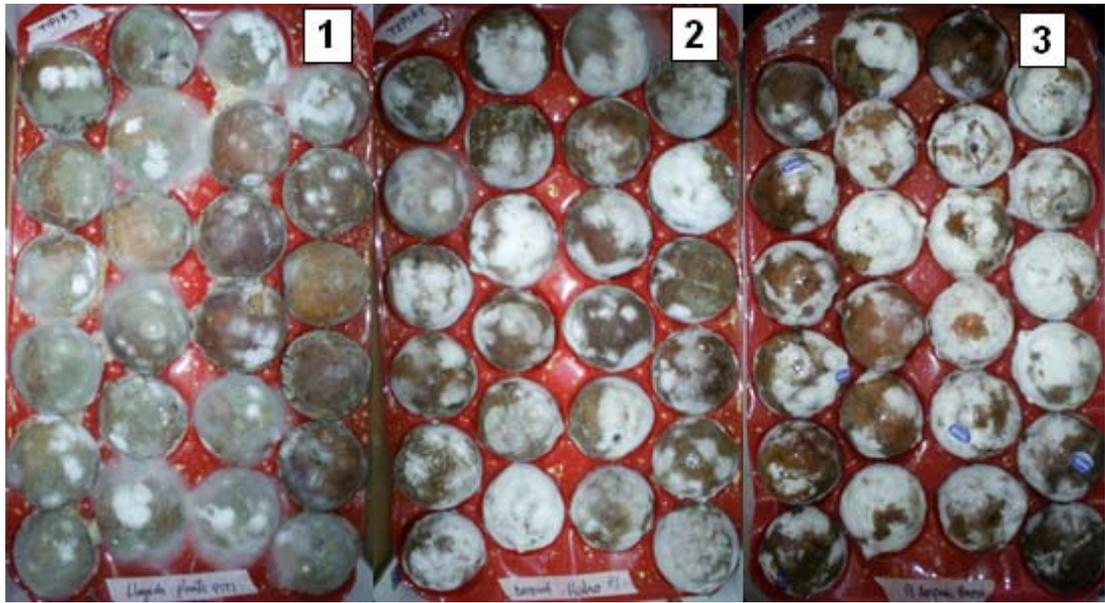


Figura 10. Desarrollo de *Geotrichum candidum* en tres etapas de postcosecha en duraznos *Sweet September* (huerto El Resguardo). 1: bins llegada a planta, 2: salida de hydrocooler y 3: caja embalada.

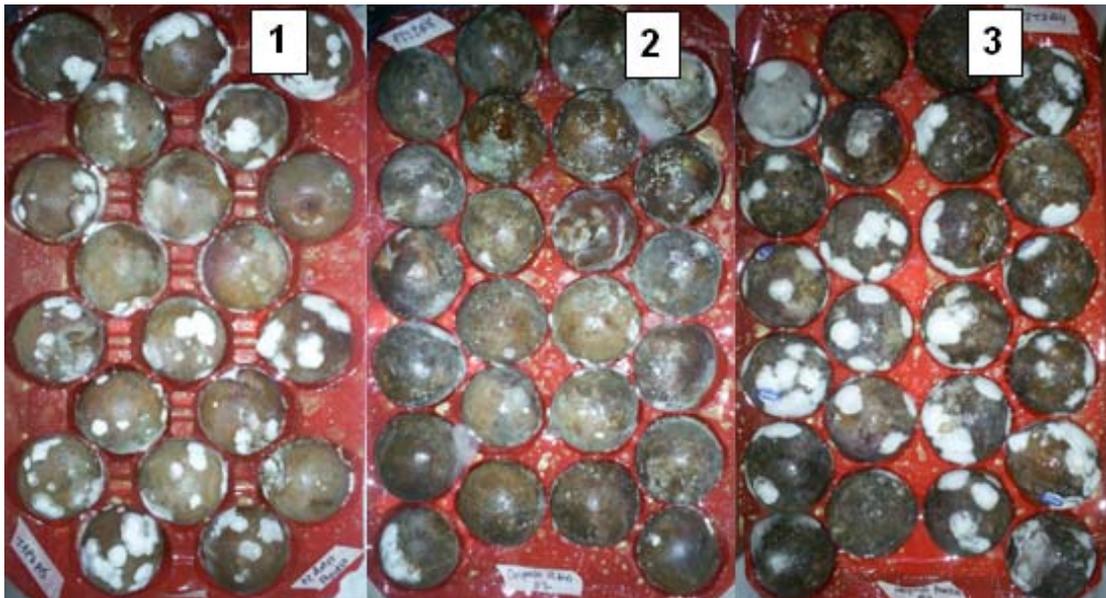


Figura 11. Desarrollo de *Geotrichum candidum* en tres etapas de postcosecha en duraznos *Sweet September* (huerto Agrícola Santa Sofía). 1: bins llegada a planta, 2: salida de hydrocooler y 3: caja embalada.

El porcentaje de frutos con poblaciones de *Geotrichum candidum* fue notoriamente menor en los bins a la llegada a la planta de los huertos sin historial de pudrición ácida que en la fruta de los huertos con historial. Pero al igual que para los huertos con historial (Cuadros 11 y 12, Figuras 10 y 11), el porcentaje de frutos con poblaciones epífitas de *G. candidum*

(Cuadros 13 y 14, Figuras 12 y 13) aumentó significativamente en el tercer punto de muestreo (caja embalada). Esto demuestra que es después del hidrocóoler, durante el proceso de embalaje, donde se produce una importante redistribución del inóculo del hongo que viene desde el campo, cubriendo casi la totalidad de los frutos. La presencia del hongo en los duraznos de los huertos sin historial de pudrición ácida sugiere que la ausencia de desarrollo de la enfermedad no se debe a la no presencia del hongo en los huertos, sino que a la falta de las condiciones favorables para su desarrollo.

Cuadro 13. Porcentaje de frutos con poblaciones de *Geotrichum candidum* y otros hongos sapófitos en tres etapas de postcosecha en duraznos *Sweet September* (huerto Fernando Zagal).

Punto de muestreo	% frutos ^x			
	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.
bins llegada a planta	26 b ^y	0 a	53,7 a	54,7 a
salida de hidrocóoler	20,8 b	1,6 a	39,1 a	84,9 a
caja embalada	99,5 a	0 a	12 b	0 b

^x La contabilización de cada hongo se realizó en todos los frutos, permitiendo que un mismo fruto fuera indexado más de una vez.

^y Letras iguales en las columnas indican que no existen diferencias significativas según ANDEVA y posterior prueba de comparación múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$).

Cuadro 14. Porcentaje de frutos con poblaciones de *Geotrichum candidum* y otros hongos sapófitos en tres etapas de postcosecha en duraznos *Sweet September* (huerto Juan Cristóbal Fernandez).

Punto de muestreo	% frutos ^x			
	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.
bins llegada a planta	21,4 b ^y	0 a	46,9 a	89,1 a
salida de hidrocóoler	13,6 b	0,5 a	24 b	85,4 a
caja embalada	97,4 a	0 a	5,7 c	0 b

^x La contabilización de cada hongo se realizó en todos los frutos, permitiendo que un mismo fruto fuera indexado más de una vez.

^y Letras iguales en las columnas indican que no existen diferencias significativas según ANDEVA y posterior prueba de comparación múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$).



Figura 12. Desarrollo de *Geotrichum candidum* en tres etapas de postcosecha en duraznos *Sweet September* (huerto Fernando Zagal). 1: bins llegada a planta, 2: salida de hydrocooler y 3: caja embalada.



Figura 13. Desarrollo de *Geotrichum candidum* en tres etapas de postcosecha en duraznos *Sweet September* (huerto Juan Cristóbal Fernandez). 1: bins llegada a planta, 2: salida de hydrocooler y 3: caja embalada.

Zoffoli *et al.* (1996) y Pinilla (2007), señalan que las fuentes de inóculo de *G. candidum* se encuentran comúnmente en los huertos, de modo que la fruta infectada eventualmente lo dispersa, contaminando el agua empleada en el hydrocooler, lavado, pozos de vaciado o el transporte de la fruta en la línea de embalaje. Sin embargo, tanto en los huertos con historial

como en aquellos sin historial de pudrición ácida, a salidas del hidrocooler se mantuvo constante el porcentaje de duraznos con poblaciones de *Geotrichum candidum* que venía desde los bins al inicio del proceso de muestreo (Cuadros 15 y 16). En el hidrocooler se utilizó agua clorada a una concentración de 75 ppm de hipoclorito de sodio. En cuanto al efecto del cloro sobre *Geotrichum candidum*, Bartz *et al.* (2001) afirman que el cloro a esa concentración destruye las artrosporas del hongo, aunque no en un 100%, ya que muchas de éstas pueden escapar a la acción del cloro en agua en movimiento. Según Latorre (1989), el cloro, en las formas de hipoclorito de sodio o hipoclorito de calcio, actúa reduciendo el nivel de inóculo existente sobre la fruta o en el agua y normalmente se usa en un rango variable entre 100 y 200 ppm. Los resultados obtenidos por Smilanick *et al.* (2002) determinaron la efectividad del hipoclorito de sodio a 200 ppm sobre la reducción de la viabilidad de las esporas de *Geotrichum candidum*, señalando que una breve inmersión reduce la viabilidad de las esporas del hongo, siendo el cloro necesario en estas relativamente altas concentraciones debido al breve período de tiempo en que la fruta está en contacto con la solución. Según los antecedentes recopilados en el presente estudio, el segundo punto de muestreo (hidrocooler) no dispersa el inóculo del hongo proveniente del huerto, pero, tampoco la aplicación de cloro en esta etapa del proceso sería suficiente para reducir el nivel de inóculo de *G. candidum* sobre la fruta.

Cuadro 15. Porcentaje de frutos con poblaciones de *Geotrichum candidum* y otros hongos sapófitos en tres etapas de postcosecha en duraznos *Sweet September* (promedio huertos con historial).

Punto de muestreo	% frutos ^x			
	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.
bins llegada a planta	71,4 b ^y	0,5 a	37,1 a	71,5 a
salida de hidrocooler	75,8 b	1,3 a	21,6 b	60,1 a
caja embalada	96,6 a	0,3 a	4,2 c	0 b

^x La contabilización de cada hongo se realizó en todos los frutos, permitiendo que un mismo fruto fuera indexado más de una vez.

^y Letras iguales en las columnas indican que no existen diferencias significativas según ANDEVA y posterior prueba de comparación múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$).

Cuadro 16. Porcentaje de frutos con poblaciones de *Geotrichum candidum* y otros hongos sapófitos en tres etapas de postcosecha en duraznos *Sweet September* (promedio huertos sin historial).

Punto de muestreo	% frutos ^x			
	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.
bins llegada a planta	23,7 b ^y	0 a	50,3 a	71,9 a
salida de hidrocooler	17,2 b	1 a	31,5 b	85,2 a
caja embalada	98,4 a	0 a	8,9 c	0 b

^x La contabilización de cada hongo se realizó en todos los frutos, permitiendo que un mismo fruto fuera indexado más de una vez.

^y Letras iguales en las columnas indican que no existen diferencias significativas según ANDEVA y posterior prueba de comparación múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$).

Aún cuando en el primer punto de muestreo se observó un porcentaje mucho menor de frutos con presencia de *Geotrichum candidum* en los huertos sin historial que aquellos con historial, en el tercer punto de muestreo (caja embalada) la fruta de los huertos sin historial alcanzó el mismo nivel de inóculo del hongo observado en la fruta de los huertos con historial. Esto se debería a la redistribución del inóculo de *G. candidum* durante el proceso de embalaje.

Se detectó, tanto para los huertos con historial de pudrición ácida (Cuadro 15, Figuras 10 y 11) como para aquellos sin historial de la enfermedad (Cuadro 16, Figuras 12 y 13), que el porcentaje de frutos con poblaciones de *Cladosporium* y *Rhizopus* disminuyó a través de las distintas etapas del proceso, diferenciándose notablemente el porcentaje de duraznos con desarrollo de estos hongos en los bins a la llegada a la planta con el que hubo después del embalaje, siendo nulo o mucho menor en este último caso.

Es importante señalar que la fruta recibió aplicaciones de cloro a 75 ppm en el hidrocooler y de Rovral y Teldor en la etapa de embalaje. Se observó, en el caso de *Rhizopus*, que hubo una disminución significativa del porcentaje de frutos con poblaciones del hongo entre el primer y segundo punto de muestreo (Cuadros 15 y 16). Investigaciones realizadas por Zoffoli *et al.* (1997), demostraron la eficacia del hipoclorito de sodio en el control en postcosecha de *Rhizopus stolonifer*. Du Toit (2005) señala que el hipoclorito de sodio reduce la incidencia de *Cladosporium variabile* (Cooke).

El lavado, escobillado y desinfección de la fruta con Rovral y Teldor afectaría a la fruta embalada, disminuyendo los porcentajes de frutos con desarrollo de *Rhizopus* y *Cladosporium* en este último punto de muestreo (Cuadros 15 y 16). Rovral es efectivo en el control de *Penicillium*, *Cladosporium* y *Rhizopus* (AFIPA, 2008), no así Teldor, cuyo ingrediente activo es fenhexamid, un fungicida específico para el control de *Botrytis cinerea* Pers. (Esterio *et al.*, 2006), que ha demostrado tener poca eficacia en el control de *Rhizopus* en duraznos y nectarines (Foster *et al.*, 2007) y en el control de *Penicillium expansum* en ensayos realizados con uvas por Franck *et al.* (2005).

Con respecto a *Penicillium*, se observó que el hidrocooler pareciera aumentar el inóculo del hongo sobre la fruta, redistribuyéndolo (Cuadros 15 y 16). Sin embargo, los niveles del hongo fueron demasiado bajos y no permitieron encontrar diferencias entre las distintas etapas del muestreo. Con respecto a esta situación, Spotts y Cervantes (2001), en ensayos realizados en peras señalan que existe una relación directa entre la incidencia de la pudrición causada por *Penicillium expansum* y la cantidad de inóculo existente en suspensión en el aire y la superficie. Sin embargo, aclaran que la incidencia de la enfermedad no se vio afectada por la humedad. Esto podría explicar la falta de desarrollo de este hongo, ya que a pesar de las condiciones de humedad proporcionadas al tratar los frutos con un fungicida y posterior congelamiento, éste no se desarrolló debido a la baja cantidad de inóculo proveniente de los huertos. Además, la aplicación de pyrimethanil + dicloran a los frutos, mezcla de fungicidas que obtuvo buenos resultados en los ensayos anteriores, podría haber ayudado al no desarrollo del hongo. D'Aquino *et al.* (2006),

señalan que el fungicida pyrimethanil es efectivo contra *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum*.

El porcentaje de frutos con desarrollo de poblaciones epífitas de *Geotrichum candidum* fue mucho menor a la llegada a la planta en comparación con el porcentaje que hubo después de embalaje. En el caso de *Rhizopus* y *Cladosporium* ocurrió todo lo contrario, siendo mayor el porcentaje de frutos con presencia de estos hongos al inicio del proceso y mucho menor después de embalaje, disminuyendo el porcentaje de frutos con *Rhizopus* y desapareciendo *Cladosporium* en el proceso (Cuadro 17). Estos resultados sugieren que es en el proceso de embalaje donde se redistribuye *Geotrichum candidum*. Además, la baja presencia de *Rhizopus* y *Cladosporium* debido al lavado y uso de cloro y fungicidas (Rovral y Teldor) en el proceso de limpieza y selección, permitiría que *Geotrichum candidum* se desarrolle libremente.

Cuadro 17. Porcentaje de frutos con poblaciones de *Geotrichum candidum* y otros hongos sapófitos en tres etapas de postcosecha en duraznos *Sweet September* (promedio de los cuatro huertos).

Punto de muestreo	% frutos ^x			
	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.
bins llegada a planta	47,6 b ^y	0,3 a	43,7 a	71,7 a
salida de hidrocooler	46,5 b	1,2 a	26,6 b	72,6 a
caja embalada	97,5 a	0,1 a	6,5 c	0 b

^x La contabilización de cada hongo se realizó en todos los frutos, permitiendo que un mismo fruto fuera indexado más de una vez.

^y Letras iguales en las columnas indican que no existen diferencias significativas según ANDEVA y posterior prueba de comparación múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$).

Es importante señalar que también se produjo una redistribución de *Geotrichum candidum* en los mismos frutos. Las poblaciones del hongo siempre estaban más desarrolladas y recubrían los frutos en mayor grado a medida que iban pasando las etapas del proceso de postcosecha, llegando a cubrir los frutos casi en su totalidad en el tercer punto de muestreo, es decir, después de embalaje (Figura 14). Esto indica que la redistribución del inóculo podría producirse entre la fruta de un mismo lote y no de un lote a otro como se postula, especialmente si se considera que en la planta embaladora se siguen rigurosamente las medidas sanitarias de limpieza y desinfección de la línea de selección y embalaje en los cambios de fruta de diferentes lotes.



Figura 14. Duraznos *Sweet September* después de embalaje, cubiertos con poblaciones de *Geotrichum candidum*.

Investigaciones previas en peras realizadas por Lennox *et al.* (2003) demostraron que existe una correlación positiva entre la pudrición y las poblaciones de *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum* en la superficie de los frutos, señalando que un alto nivel de inóculo en la superficie de los frutos puede provocar posteriormente un alto nivel de pudrición. Sin embargo, en este estudio se ha demostrado que aún pequeñas cantidades de inóculo provenientes de huertos con o sin historial son suficientes para provocar la pudrición ácida al redistribuirse el inóculo de *Geotrichum candidum* entre los frutos en la línea de embalaje. Latorre (1989) señala que la contaminación con inóculo se inicia en la línea de selección. A pesar de que la higiene y sanitización, tanto en el huerto como en el proceso de postcosecha, serían una importante estrategia para evitar la presencia y diseminación del inóculo de *G. candidum* en la postcosecha de duraznos, es necesario estudiar las causas del daño debido al manejo de la fruta. Son las heridas la puerta de entrada del inóculo a los frutos permitiendo el desarrollo de la enfermedad en postcosecha, por lo tanto, el desarrollo de la pudrición ácida dependería de las condiciones de manejo de la fruta y no del nivel de inóculo sobre los frutos. Aún cuando en este estudio se ha demostrado que toda la fruta puede presentar al hongo, no toda la fruta finalmente desarrolla la enfermedad en los mercados de destino.

CONCLUSIONES

En duraznos previamente congelados provenientes del huerto de Antumapu y huertos comerciales de la Región Metropolitana, *Geotrichum candidum* se presenta junto a los hongos *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus*, siendo *Rhizopus* el saprófito predominante y dificultando la cuantificación del resto de los hongos que se desarrollan bajo su micelio.

Las mezclas de fungicidas dicloran + iprodione, dicloran + benomyl y dicloran + pyrimethanil no eliminan completamente a los saprófitos *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus*, pero impiden que éstos colonicen completamente los duraznos, permitiendo el desarrollo de las poblaciones epífitas de *Geotrichum candidum* y, por ende, su cuantificación en duraznos provenientes de huertos comerciales de la Región Metropolitana con historial de pudrición ácida.

Las mezclas de fungicidas dicloran + iprodione, dicloran + imazalil, dicloran + benomyl y dicloran + pyrimethanil permiten observar y realizar un adecuado recuento de las poblaciones de *Geotrichum candidum* inoculadas en precosecha, en duraznos del huerto de Antumapu, al reducir el desarrollo de hongos saprófitos.

Las mezclas de fungicidas dicloran + benomyl y dicloran + pyrimethanil, a la dosis de 0,75g + 0,5 mL/Litro, inhiben en menor medida el crecimiento miceliar in vitro de 2 cepas de *Geotrichum candidum*.

La baja presencia de *Rhizopus* y *Cladosporium* en los duraznos, debido al lavado y uso de cloro y fungicidas en el proceso de limpieza y selección, permite el desarrollo de *Geotrichum candidum* en postcosecha.

Los duraznos provenientes de huertos sin historial de pudrición ácida presentan menores porcentajes de poblaciones de *Geotrichum candidum* a la llegada a la planta que aquellos provenientes de huertos con historial de pudrición ácida, pero después de la línea de selección y embalaje alcanzan el mismo nivel debido a la redistribución del inóculo de *G. candidum* que viene desde el campo durante el proceso de selección y embalaje de los duraznos. Por lo tanto, la ausencia de desarrollo de la enfermedad no se debe a la no presencia del hongo en estos huertos, sino que a la falta de condiciones favorables para su desarrollo.

BIBLIOGRAFÍA

ABILDGREN, M. P., LUND, F., THRANE, U. and ELMHOLT, S. 1987. Czapek-Dox agar containing iprodione and dicloran as a selective medium for the isolation of *Fusarium* species. Letters in Applied Microbiology 5 (4):83-86.

AGRIOS, G. 2004, Plant Pathology. 5 ed. Elsevier Academic Press. Disponible en: <http://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=CnzbgZgby60C&oi=fnd&pg=PP24&dq=fruit+and+foliar+diseases+caused+by+fungi&ots=FmIjzg4Jmg&sig=la0IKlGCJpsmKqm0LlFgI5XBpmE#PPP2,M1>, leído el 10 de Diciembre, 2008.

AFIPA (Asociación Nacional de Fabricantes e Importadores de Productos Fitosanitarios Agrícolas). 2008. Manual Fitosanitario: 2009-2010. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago. Chile. 972 p.

ALTIERI, G., DI RENZO, G.C. and LANZA, G. 2005. Imazalil on-line control in postharvest treatments of citrus fruit. Acta Horticulturae 682:1773-1780.

ASOEX (Asociación de Exportadores de Chile A. G.). 2004. Agenda de pesticidas, sección, registros, tolerancias y carencias en frutas y hortalizas de exportación. 196 p.

AUGER, J. Enfermedades de post-cosecha en frutas. 1990. Tecnologías de apoyo a la exportación de frutas y hortalizas en Chile. p. 140-143. *In*: Publicaciones Misceláneas Agrícolas N° 29. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Santiago, Chile.

BARTZ, J. A., EAYRE, C. G., MAHOVIC, M. J., CONCELMO, D. E., BRECHT, J. K. and SARGENT, S. A. 2001. Chlorine concentration and the inoculation of tomato fruit in packinghouse dump tanks. Plant Disease 85 (8): 885-889.

BRIONES, J. I. 1994. Efectos del hidrogenfrio con distintas dosis de cloro y de la aplicación de fungicidas, sobre la incidencia de pudriciones en postcosecha de cerezas Bing y D'Annonay. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile. Escuela de Agronomía. Santiago, Chile. 124 p.

CABRAS, P., SCHIRRA, M., PIRISI, F., GARAU, V. and ANGIONI, A. 1999. Factors affecting Imazalil and Thiabendazole uptake and persistence in citrus fruits following dip treatments. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47 (8): 3352-3354.

CFFA (Chilean Fresh Fruit Association). S.A. 2008. Chile y su industria frutícola. Disponible en: http://www.cffa.org/industry_es.shtml. Leído el 15 de diciembre de 2008.

- COHEN, E., COGGINS, C. W. and ECKERT, J. W. 1991. Predisposition of citrus fruits to sour rot when submerged in water. *Plant Disease* 75 (2):166-168.
- D'AQUINO, S., SCHIRRA, M., PALMA, A., ANGIONI, A., CABRAS, P. and MIGHELI, Q. 2006. Residue levels and effectiveness of Pyrimethanil vs Imazalil when using heated postharvest dip treatments for control of *Penicillium* decay on citrus fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (13): 4721-4726.
- DE HOOG, G. and Smith, M., 2004. Ribosomal gene phylogeny and species delimitation in *Geotrichum* and its teleomorphs. *Studies in Mycology* 50: 489-515.
- DU TOIT, L. J. and HERNÁNDEZ-PÉREZ, P. 2005. Efficacy of hot water and chlorine for eradication of *Cladosporium variabile*, *Stemphylium botryosum*, and *Verticillium dahliae* from spinach seed. *Plant Disease* 89 (12): 1305-1312.
- ECKERT, J. W. 1992. Jornadas de postcosecha en citricultura. *Levante Agrícola* 31 (321):260-265.
- ESTERIO, M., AUGER, J., DOMANGE, M., GARCÍA, H., RAMOS, C. y VENEGAS, J. 2006. Análisis de sensibilidad *in vitro* de *Botrytis cinerea* Pers. a fenhexamid en Chile y caracterización genética mediante el uso del fragmento parcial del gen *Bc-hc*. *Fitopatología* 41(1): 15-24.
- FERNÁNDEZ-TRUJILLO, J. P., SALMERÓN, M. C. and ARTÉS, F. 1997. Effect of intermitent warming and modified atmosphere packaging on fungal growth in peaches. *Plant Disease* 81 (8): 880-884.
- FOSTER, H., DRIEVER, G. F., THOMPSON, D. C. and ADASKAVEG, J. E. 2007. Postharvest decay management for stone fruit crops in California using the "reduced-risk" fungicides fludioxonil and fenhexamid. *Plant Disease* 91 (2):209-215.
- FRANCK, J., LATORRE, B. A., TORRES, R. and ZOFFOLI, J. P. 2005. The effect of preharvest fungicide and postharvest sulphur dioxide use on postharvest decay of table grapes caused by *Penicillium expansum*. *Postharvest Biology and Technology* 37: 20-30.
- HOLMES, G. J. and CLARCK, C. A. 2002. First Report of *Geotrichum candidum* as a Pathogen of Sweetpotato Storage Roots from Flooded Fields in North Carolina and Louisiana. *Plant Disease* 86 (6): 695.
- LATORRE, B. 1989. Fungicidas y Nematicidas, avances y aplicabilidad. Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía, Santiago, Chile. 216 p.
- LATORRE, B. 1992. Enfermedades de las plantas cultivadas. 3 ed. Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía, Santiago, Chile. 628 p.

- LATORRE, B. 1996. Estrategias tecnológicas de Postcosecha para frutales de carozo. Patología de frutos de carozo. *In*: I curso internacional de Postcosecha. Departamento de Fruticultura y Enología, Pontificia Universidad Católica de Chile. 2-3 octubre, 1996. 32 p.
- LENNOX, CH., SPOTTS, R. and CERVANTES, L. 2003. Populations of *Botrytis cinerea* and *Penicillium* spp. on pear fruit, and in orchards and packinghouses, and their relationship to postharvest decay. *Plant Disease* 87 (6):639-644.
- LI, H. X. and XIAO, C. L. 2008. Baseline sensitivities to fludioxonil and pyrimethanil in *Penicillium expansum* populations from apple in Washington State. *Postharvest Biology and Technology* 47:239-245.
- MICHAILIDES, T. J. and MORGAN, D. P. 2004. First Report of Sour Rot of California Peaches and Nectarines Caused by Yeasts. *Plant Disease* 88 (2): 222.
- MICHAILIDES, T. J., MORGAN D. P. and LUO, Y. 2010. Epidemiological assessments and postharvest disease incidence. pp. 69-88. *In*: Prusky, D. and Gullino, M. L. (Eds.) *Postharvest Pathology: Plant Pathology in the 21st Century, Contributions to the 9th International Congress*. 1st ed. Springer, New York, EEUU. 211 p. Disponible en: <http://books.google.cl/books?id=YSIsm5MWPcC&pg=PA69&dq=postharvest+pathology&cd=1#v=onepage&q=postharvest%20pathology&f=false> . Leído el 25 de enero de 2010.
- MORALES, A. 1989. Manejo y control de enfermedades fungosas en postcosecha de carozos, pomáceas y kiwi. p. 147-157. *In*: Manejo de plagas y enfermedades en frutales y uva de mesa. Publicaciones Misceláneas Agrícolas N° 30. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Santiago, Chile.
- MORALES, A. 1996. Principales enfermedades de postcosecha de frutales de carozo, pomáceas y kiwi. Manejo y control. p. 119-125. *In*: Avances en sanidad vegetal de frutales y vides. Publicaciones Misceláneas Agrícolas N° 41. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Santiago, Chile.
- MORRIS, S. C. 1982. Synergism of *Geotrichum candidum* and *Penicillium digitatum* in infected citrus fruit. *Phytopathology* 72 (10):1336-1339.
- NAWRATH, A. y HENRÍQUEZ, J. 2008. Antecedentes sobre el moho azul de la uva de mesa. *Aconex*. (97):14-20.
- NORTHOVER, J. and ZHOU, T. 2002. Control of *Rhizopus* rot of peaches with postharvest treatments of tebuconazole, fludioxonil and *Pseudomonas syringae*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 24 (2):144-153.

ODEPA. 2008. Frutales país: superficie y producción. Disponible en: <http://www.odepa.gob.cl/odepaweb/servlet/contenidos.ServletDetallesScr;jsessionid=C2EC9D94841BBCFDD788710A8DF854ED?idcla=12&idn=1737>. Leído el 15 de diciembre de 2008.

OGAWA, J., ZEHR, E. y BIRD, G. 2000. Plagas y enfermedades de los frutales de hueso. American Phytopathol. Society, EEUU. 168 p. Disponible en: http://books.google.com/books?id=JpEqjZg_tQsC&pg=PA17&dq=GEOTRICHUM+CANDIDUM&lr=&hl=es. Leído el 16 de diciembre de 2008.

OLIVERI, C., CAMPISANO, A., CATARA, A. and CIRVILLERI, G. 2007. Characterization and AFLP genotyping of *Penicillium* strains from postharvest samples and packinghouse environments. Journal of Plant Pathology 89 (1):29-40.

PAZAKOVA, J., PIPOVA, M., NAGY, J. and TUREK, P. 2003. The Growth of *Geotrichum candidum* at different temperatures and sodium chloride concentration. Folia Veterinaria 47 (3):212-214.

PINILLA, B. 2005a. Eficiencia de fungicidas “in Vitro” en la inhibición del hongo *Geotrichum Candidum* agente causal de la pudrición acida en duraznos.. In: INIA (Instituto de Investigaciones Agropecuarias). XV Congreso de la Sociedad Chilena de Fitopatología. Facultad de Agronomía, Universidad de Tarapacá. Arica, Chile. 15-18 diciembre, 2005. Disponible en: http://alerce.inia.cl/sochifit/XV.html#Articulo_03, leído el 13 de Diciembre, 2008.

PINILLA, B. 2005b. Fuentes de inóculo de la pudrición ácida causada por *Geotrichum candidum* en duraznos. In: INIA (Instituto de Investigaciones Agropecuarias). XV Congreso de la Sociedad Chilena de Fitopatología. Facultad de Agronomía, Universidad de Tarapacá, Arica, Chile. 15-18 diciembre, 2005. Disponible en: http://alerce.inia.cl/sochifit/XV.html#Articulo_03, leído el 13 de Diciembre, 2008.

PINILLA, B. 2007. Avances en la detección, prevención y control de *Geotrichum* en duraznos. In: ASOEX (Asociación de Exportadores de Chile, A.G.). Segundo ciclo de seminarios de actualización técnico comercial para las principales especies frutícolas de exportación. Santiago, Chile. 21-22 agosto, 2007. Disponible en: www.asoex.cl/admin/PaginaWeb/Biblioteca/Archivos/Bajar.asp?Carpeta...%20II%20CICLO%20...car_bpinnacle.pdf, leído el 13 de Diciembre, 2008.

PINILLA, B. y ÁLVAREZ, M. 2003. Principales pudriciones fungosas que afectan a las clementinas. Aconex (78): 5-10.

PIONTELLI, E. y TORO, M. 1990. Manual de identificación de hongos comunes en alimentos. Universidad de Valparaíso, Escuela de Medicina. 189 p.

- POTTIER, I., GENTE, S., VERNOUX, J. P. and GUÉGUEN. 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: *Geotrichum candidum*. International Journal of Food Microbiology 126 (3): 327-332.
- ROSALES, E. 2004. Eficacia de aplicación de los fungicidas Fludioxonil, Thiabendazole y Pyrimethanil por termonebulización (“Thermofogging”) en manzanas Red Delicious sobre el control de *Botrytis cinerea* en postcosecha. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Talca, Escuela de Agronomía. Talca, Chile 55 p.
- SCHULZE, K. 1984. Comportamiento de cultivares y tratamiento con fungicidas en postcosecha de melones (*Cucumis melo* L. var. *reticulatus*). Memoria Agrónomo. Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía. Santiago, Chile. 67 p.
- SMILANICK, J. L., AIYABEI, J., GABLER, F., DOCTOR, J., SORENSON, D. and MACKEY, D. B. 2002. Quantification of the toxicity of aqueous chlorine to spores of *Penicillium digitatum* and *Geotrichum citri-aurantii*. Plant Disease 86 (5):509-514.
- SPOTTS, R. A. and CERVANTES, L. A. 2001. Disease incidence inoculum dose relationships for *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* and decay of pear fruit using dry, airborne conidia. Plant Disease 85 (7): 755-759.
- STEEL, R. y TORRIE, J. 1985. Bioestadística: principios y procedimientos. Ricardo Martínez. McGraw-Hill. Santiago, Chile. 622 p.
- SNOWDON, A. L. 2006. Management strategies for sour rot of stone fruit. Disponible en: http://www.farmassist.com/postharvest/images/Sour_Rot_White_Paper.pdf, leído el 12 de Diciembre, 2008.
- TELLO, J. 2003. Evaluación de la efectividad de fungicidas de distinta familia química en el control de los hongos involucrados en el complejo pudrición ácida de la vid cv. Red Globe. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Talca, Escuela de Agronomía. Talca, Chile. 53 p.
- TORRES, F., PINILLA, B. y ÁLVAREZ, M. 2002. Eficiencia de tratamientos de postcosecha con fungicidas en el control de *Rhizopus* sp. en nectarinos. In: XII Congreso Nacional de Fitopatología. Puerto Varas, Chile. 1-4 octubre, 2002. Disponible en: http://alerce.inia.cl/sochifit/XII.html#Articulo_54, leído el 13 de Diciembre, 2008.
- ZOFFOLI, J.P., LATORRE, B.A. y BARIGGI, S. 1996. Sistemas de sanitización de aguas en centrales frutícolas. ACONEX 51:10-15.
- ZOFFOLI, J. P., LATORRE, B. A. and BARIGGI, S. 1997. Respuesta de *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* y *Rhizopus stolonifer* al cloro, empleado en la desinfección de fruta en postcosecha. Simiente 67 (1):68-95.