

Capítulo 3

Control biológico de patógenos en poscosecha

Chapter 3

Biological control of postharvest pathogens

Yimmy Zapata,¹ Alba Marina Cotes,¹ Haissam Jijakli,²
Michael Wisniewski³

¹ Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

² Gembloux Agro Bio-tech, Université de Liège

³ USDA-ARS, Appalachian Fruit Research Station

Contenido

Introducción	226
Reseña histórica	230
Ecología en la carpósfera	230
Principales agentes de control biológico y sus modos de acción contra los patógenos poscosecha.....	232
Modos de acción	237
Competencia por espacio y nutrientes	238
Producción de antibióticos.....	238
Parasitismo y lisis	240
Inducción de respuestas de defensa.....	240
Producción de otros compuestos antimicrobianos	241
Bioplaguicidas comercialmente disponibles para el control de patógenos en poscosecha	243
Historias de éxito: <i>Candida oleophila</i> para el control biológico de patógenos en poscosecha	244
Conclusiones y perspectivas	246
Agradecimientos	247
Referencias	248

Resumen

A nivel global, la producción agrícola sufre una tensión creciente entre el problema de las enfermedades causadas por hongos que afectan casi a todos los vegetales cosechados, por una parte, y la presión de las agencias reguladoras y de la sociedad que demandan productos inocuos libres de fungicidas de síntesis, por otra. Este escenario ha reactivado el interés por integrar prácticas limpias de control en el manejo de patógenos poscosecha, destacándose el uso de bacterias y levaduras antagonistas, que eran conocidas de tiempo atrás. Para realizar un manejo biológico de las enfermedades durante la poscosecha, es importante distinguir entre infecciones que se originan en campo y que permanecen latentes hasta la maduración del producto, y las infecciones poscosecha *sensu stricto*. En el primer grupo, se destacan las infecciones por *Colletotrichum* spp., que se expresan como antracnosis en mango, banano, aguacate, pimentón, entre otras frutas y hortalizas; por *Botrytis* spp., que causan el moho gris en diferentes especies vegetales, y por *Penicillium* spp., que puede causar infección en el árbol, en almacén o en puestos de mercado al detal. En el segundo grupo se encuentran hongos oportunistas como *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Mucor* spp., *Geotrichum candidum* y *Rhizopus* spp., algunos de ellos con implicaciones para la salud humana por la producción de micotoxinas como fumonisinas y aflatoxinas. Este capítulo inicia con una enumeración de las prácticas dirigidas a controlar infecciones en poscosecha, que van desde el buen manejo de los productos cosechados, pasando por tratamientos físicos erradicantes y químicos preventivos, hasta llegar a la aplicación de fungicidas como última medida. Después se hace una reseña histórica del control biológico de enfermedades de frutas en poscosecha, seguida de una descripción de los diferentes modos en que las bacterias y las levaduras ejercen su actividad biocontroladora. Posteriormente, se examina el progreso en el conocimiento de los procesos de control biológico y las limitaciones prácticas para su pleno uso comercial, para terminar con uno de los casos exitosos en su aplicación. Esta revisión pone de presente la necesidad de un enfoque sistémico, que considere la red de interacciones existentes, y que la búsqueda del manejo ideal del problema debe integrar una visión simple en cada nodo del proceso productivo con intervenciones múltiples a lo largo del mismo.

Palabras clave

Control biológico, frutas, hortalizas, patógenos en poscosecha, plaguicidas microbianos

Abstract

Postharvest diseases of harvested commodities cause significant reductions in food availability and financial profits. Additionally, regulatory agencies are increasingly restricting or banning the postharvest use of synthetic chemical fungicides. This has increased the need to develop more ecofriendly approaches to postharvest disease management, such as biological control using antagonistic microorganisms. Utilization of biocontrol agents has received considerable attention over the past three decades. However, a few yeast or bacteria-based biocontrol products are either in advanced stages of development or commercially available. The reduced success of postharvest biocontrol products has been attributed to several problems, including difficulties in mass production and formulation of the antagonists, the physiological status of the harvested commodity and its susceptibility to specific pathogens, as well as low and inconsistent efficacy under commercial conditions, low profitability, difficulties in market penetration and perception of the customers/industry, and small size companies with low available resources to maintain development and commercialization. Although many studies have been conducted on the mode of action of postharvest microbial antagonists, its understanding is still very incomplete. In this regard, a systems approach, that takes into account all the components of the biocontrol system, may represent the best approach to investigating the network of interactions that exist. This review attempts to highlight that post-harvest management technologies require a systemic approach that goes from simplicity to complexity, understanding that complex problems may require multiple interventions at different points of the process.

Keywords

Biological control, fruits, pathogens, postharvest microbial pesticides, vegetables

Introducción

Las pérdidas de alimentos, particularmente de frutas y hortalizas, alcanzan en el mundo un promedio del 33 %, según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2015a), siendo las enfermedades poscosecha una de las principales causas.

Esta cifra aumenta en países en vía de desarrollo y de bajos ingresos, debido a las limitaciones técnicas en el manejo que se les da a los vegetales durante la cosecha y la poscosecha, particularmente en las áreas de almacenamiento, transporte, cadena de frío, empaquetamiento, mercado y consumo (FAO, 2015b).

En este sentido, de acuerdo con el Ministerio de Salud y Protección Social y la FAO (2012) (citados por Departamento Nacional de Planeación [DNP], 2016), para el año 2010 en Colombia se reportaron pérdidas por 1.426.932 toneladas de frutas y verduras en la etapa de poscosecha, cifra que corresponde aproximadamente al 40 % de su producción.

Las pérdidas producidas por enfermedades en frutas y hortalizas durante la poscosecha pueden tener su origen en etapas previas a la cosecha, durante la cosecha o en el almacenamiento, mercado y consumo. Las pérdidas que tienen su origen en campo, pero que se presentan durante la poscosecha, corresponden particularmente a aquellas relacionadas con enfermedades causadas por hongos que tienen la capacidad de producir infecciones quiescentes, cuyos signos se presentan durante su almacenamiento o preconsumo (Coates & Johnson, 1997). Una de estas enfermedades es la antracnosis, siendo a su vez una de las enfermedades más importantes por las pérdidas que produce y por la cantidad de especies que afecta, causada por diferentes especies del hongo *Colletotrichum* spp. Esta enfermedad es un factor limitante en la poscosecha de frutas como mango, banano, papaya, aguacate, fresas, entre otras (Janisiewicz & Korsten, 2002).

En campo, los conidios del patógeno infectan la superficie de los frutos inmaduros, presentando un desarrollo biotrófico que se modifica una vez se produce la maduración de la fruta (usualmente,

durante la poscosecha de frutos climatéricos), pasando a una fase necrotrófica en la que se observan los primeros síntomas de la enfermedad, como exudados gomosos y pequeñas lesiones de color café, que tienden a hundirse en el borde y a coalescer extendiéndose sobre la superficie del fruto (Weir, Johnston, & Damm, 2012).

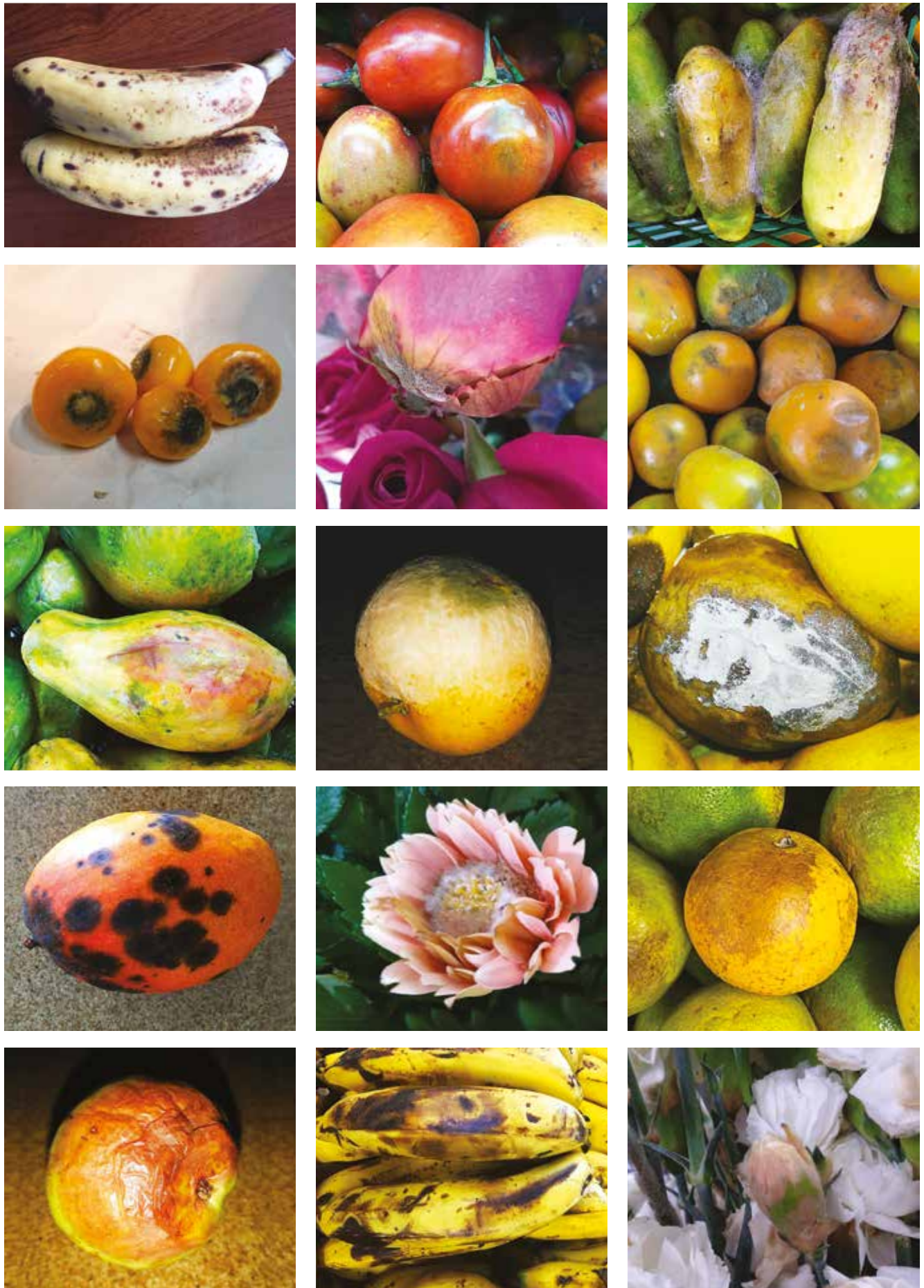
Por otra parte, *Botrytis cinerea*, agente causal del mo- ho gris, infecta las estructuras florales en plantas como fresas, vid, moras o frambuesas, permaneciendo en un estado quiescente hasta la maduración del fruto, momento en el que se desarrolla de forma agresiva, produciendo abundantes conidios que, a su vez, infectarán a otras frutas (Carisse, 2016; Jarvis, 1991; Mason & Dennis, 1978).

En contraste, se encuentran las enfermedades pos- cosecha ocasionadas por patógenos que infectan la superficie vegetal durante o después de la cosecha (figura 3.1). La infección es favorecida por la presencia de heridas producidas por daños mecánicos o lesiones causadas por insectos, que no necesariamente tienen que presentar gran tamaño, así como por aberturas naturales como las lenticelas (Coates & Johnson, 1997).

Dentro de estas enfermedades, las más comunes y limitantes son los mohos verde y azul, causados por *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum*, respectivamente, que afectan diferentes especies de cítricos, manzanas, peras, entre otros. Estas pudriciones son causadas por *Rhizopus stolonifer*, *Geotrichum candidum*, *Mucor* sp., *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp. (Barkai-Golan, 2001).

El inóculo de estos patógenos puede encontrarse en el suelo, donde ocurre la contaminación por una inadecuada manipulación al cosechar los vegetales, o en las áreas de almacenamiento, empaques o vehículos de transporte, siendo además fácilmente transportados en el ambiente por el aire.

Aparte de presentar un rápido crecimiento, algunos de estos patógenos llevan consigo un riesgo asociado: la gran variedad de micotoxinas que pueden producir



Fotos: Grupo de investigación en Control biológico de Corpoica

Figura 3.1. Efecto de diversos patógenos sobre frutas y ornamentales en poscosecha.

como las aflatoxinas asociadas a *Aspergillus flavus* o *Aspergillus parasiticus*; la patulina producida por *Penicillium expansum* y *Aspergillus giganteus*, así como por otras especies de *Penicillium* spp., y de *Aspergillus* spp.; la ocratoxina producida por *Penicillium verrucosum* y *Aspergillus ochraceus*, y las fumonisinas producidas por diferentes especies de *Fusarium* spp., bajo determinadas condiciones de temperatura y humedad relativa (Andersen, Smedsgaard, & Frisvad, 2004; Choudhary & Kumari, 2010; Magan, Medina, & Aldred, 2011). El consumo accidental y repetido de estas micotoxinas puede tener efectos perjudiciales para los sistemas nervioso, cardiovascular, respiratorio y digestivo; adicionalmente, algunas presentan propiedades como agentes cancerígenos, mutagénicos, teratogénicos e inmunosupresores, tanto en humanos como en animales (Andersen et al., 2004; Choudhary & Kumari, 2010; Wu & Khlangwiset, 2010).

Para reducir la incidencia de estos patógenos, se puede recurrir a diferentes prácticas: la mejora en el manejo o la manipulación de los vegetales cosechados, reduciendo el riesgo de producirles heridas; la limpieza y desinfección de las áreas de manipulación; el almacenamiento y el empaque que contribuyan a reducir la inoculación de los diferentes patógenos. También existen diferentes alternativas que, de acuerdo con el vegetal a preservar, pueden ser utilizadas, dentro de las que se encuentran diferentes tratamientos físicos y químicos.

Dentro de los tratamientos físicos sobresale la exposición a la radiación ultravioleta (UV-C) a una longitud de onda de 254 nm, debido a su poder germicida, empleándose como un método de desinfección superficial no invasivo (Park & Kim, 2015). La irradiación de frutas y hortalizas como alternativa de control de patógenos poscosecha ha sido aprobada por la Food and Drug Administration (FDA) en los Estados Unidos; con ella, se han obtenido resultados eficientes en el control de diferentes patógenos poscosecha como, por ejemplo, *P. expansum* en peras (Syamaladevi et al., 2014) o *A. flavus* y *Aspergillus niger* en cereales (Begum et al., 2009); sin embargo, esta alternativa puede ser eficiente frente a patógenos propios de la poscosecha que se encuentran en la superficie de las áreas, empaques o utensilios, pues sus propágulos llegan a la superficie vegetal e inician el proceso de infección y posterior desarrollo de la

enfermedad, punto en el que la irradiación con UV-C actúa directamente sobre los conidios, afectando su viabilidad o el proceso de infección. Por el contrario, en el caso de patógenos como *B. cinerea* y *C. gloeosporioides*, que producen en campo infecciones quiescentes, el control es muy reducido, debido al bajo poder de penetración de la radiación UV-C (Terao, De Carvalho Campos, Benato, & Hashimoto, 2015).

Otro método físico que se emplea son los tratamientos térmicos en los que el calor se utiliza para matar o suprimir el desarrollo de los patógenos a temperaturas entre 35 y 55 °C durante diferentes rangos de tiempo. No obstante, dada su tolerancia fisiológica, no todos los vegetales resisten los tratamientos térmicos; por ejemplo, la mayoría de las frutas sufren lesiones causadas por el calor, debido a la temperatura que se requiere para lograr la inhibición de los patógenos (Nunes et al., 2007; Palou, Smilanick, & Droby, 2008).

El tratamiento con calor puede aplicarse en forma de agua caliente o aire caliente. El agua caliente es un medio más eficiente para la transferencia de calor que el aire caliente, siendo también el que probablemente causa mayor daño a los vegetales. En algunas ocasiones se utiliza agua caliente en combinación con fungicidas en el tratamiento de frutas como el mango y el limón (Janisiewicz & Conway, 2010; Palou et al., 2008). Por otra parte, el aire caliente comúnmente se emplea para el tratamiento de la mosca de la fruta y para reducir la humedad de diferentes estructuras vegetales, como por ejemplo la eliminación del capacho de la uchuva que reduce la incidencia de patógenos como *B. cinerea* durante su transporte de Colombia a los diferentes mercados europeos.

Algunos de los tratamientos químicos alternativos al uso de fungicidas de síntesis consisten en la aplicación de sustancias de origen natural como extractos vegetales, aceites esenciales, aditivos y recubrimientos comestibles antifúngicos. Dentro de los extractos vegetales se pueden encontrar aquellos con contenidos de glucosinolatos, producidos por especies de la familia de las crucíferas; también se encuentran extractos de *Aloe vera* y los provenientes de especies de los géneros *Allium* y *Capsicum*, que han mostrado actividad contra patógenos de poscosecha en cítricos (Palou et al., 2008).

Los aceites esenciales de géneros como *Citrus*, *Thymus*, *Origanum*, *Lavandula* o *Eucalyptus* han sido evaluados por su capacidad fungitóxicas y se han identificado algunos compuestos terpénicos responsables de esta capacidad. En algunos casos, estas sustancias han sido clasificadas como *Generally Recognized as Safe* (GRAS) por la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos, debido a que su utilización no genera residuos indeseables (Du Plooy, Regnier, & Combrinck, 2009; Palou et al., 2008).

En cuanto a los aditivos alimentarios, se usan ácidos y sales orgánicas o inorgánicas, dentro de los cuales se pueden encontrar el sorbato potásico, el benzoato sódico, el carbonato sódico y el bicarbonato sódico. Estos han mostrado ser eficientes contra los mohos azules y verdes durante la poscosecha de cítricos; adicionalmente, estos aditivos pueden emplearse junto con los tratamientos de termoterapia en soluciones acuosas calientes (Montesinos-Herrero, Del Río, Pastor, Brunetti, & Palou, 2009; Palou et al., 2008).

Con respecto a los recubrimientos comestibles antifúngicos, estos se prepararon mediante la suma de aditivos alimentarios y sustancias GRAS (sales de ácidos orgánicos, sales de parabeno, entre otros) a formulaciones de hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) y lípidos (Palou et al., 2008; Valencia-Chamorro, Palou, Del Río, & Perez-Gago, 2011).

A pesar de que existen varias alternativas, estas medidas no son suficientes para reducir la incidencia de enfermedades durante poscosecha, por lo que en muchos casos se recurre al uso de fungicidas de síntesis química para evitar el desarrollo de los patógenos. En determinadas circunstancias, estos se usan posteriormente a la cosecha para controlar infecciones ya establecidas o para proteger los vegetales contra las infecciones que pueden ocurrir durante la manipulación y el almacenamiento.

Por otra parte, para que los fungicidas sean eficaces contra las infecciones quiescentes, deben tener la capacidad de penetrar hasta el sitio de la infección, por lo que se utilizan fungicidas sistémicos aplicados en caliente, en algunos casos para incrementar su penetración (Palou et al., 2008). No obstante, no

todos los vegetales son susceptibles al tratamiento con fungicidas, en parte por el período de vida poscosecha o por la fragilidad del tejido, ya que, por ejemplo, en moras es muy corta (no mayor a cinco días) y el fruto es muy frágil, en tanto que para otros vegetales es permitido. En este sentido, por ejemplo, los cítricos, peras y manzanas cuentan con mayor número de autorizaciones para el uso de fungicidas (Palou, 2011), en tanto que para mangos, aguacates, melones o kiwis hay menor número de autorizaciones.

Los fungicidas más empleados en poscosecha de frutas y hortalizas son azoxistrobin, fludioxonil, imazalil, ortofenilfenol, pirimetanil, procloraz, propiconazol, tiabendazol y trifloxistrobin, y los principales métodos de aplicación son en drench, inmersión o aplicación en línea mediante boquillas en el momento del encerado (Palou, 2011; Palou et al., 2008).

Aun así, son muy pocas las moléculas con uso permitido y, en casos particulares, se han presentado problemas de resistencia como, por ejemplo, para *P. digitatum* y *P. expansum*, con resistencia a fludioxonil y pirimetanil en cítricos y manzanas en los estados de California y Washington, en Estados Unidos, sin tener en cuenta los extensos reportes de resistencia de *B. cinerea* (Caiazzo, Kim, & Xiao, 2014; Kim, Saito, & Xiao, 2015).

Por eso, la tendencia a la reducción en uso de fungicidas durante la poscosecha ha aumentado en todo el mundo, siendo las principales razones la preocupación por la salud pública y el ambiente, el desarrollo de la resistencia a patógenos, la falta de nuevos principios activos que reemplacen los que ya no se pueden usar (ya sea por problemas de resistencia o de toxicidad) y, principalmente, la demanda de los consumidores de productos sin residuos de fungicidas y procesados bajo esquemas de producción sostenibles (Mari, Neri, & Bertolini, 2007).

En este sentido, el control biológico mediante el uso de microorganismos antagonistas y formulados como bioplaguicidas es una alternativa dentro de esquemas de manejo integrado en la poscosecha, ya que permite reducir o eliminar el número de aplicaciones de fungicidas; además, no presentan riesgos para la salud humana o ambiental y contribuyen con la inocuidad (Environmental Protection Agency [EPA], 2016).

Reseña histórica

El uso de agentes de control biológico como alternativa a la aplicación de fungicidas de síntesis química fue un tema de investigación con poca relevancia hasta mediados de la década de los ochenta (Wisniewski, Droby, Norelli, Liu, & Schena, 2016). Al final de esa década, eran muy pocas las publicaciones que investigaban el uso de antagonistas microbianos para el control de patógenos poscosecha (Tronsmo & Dennis, 1977; Wilson & Pusey, 1985). Sin embargo, debido a la preocupación sobre los posibles impactos de los fungicidas sobre la salud humana y ambiental (National Research Council [NRC], 1987), al igual que por los riesgos de aparición de cepas de patógenos resistentes a estos productos y la necesidad de contar con estrategias alternativas de control, la investigación en el control biológico de patógenos poscosecha tomó una gran relevancia.

El nacimiento del control biológico poscosecha puede ser rastreado desde 1984, cuando Pusey y Wilson (1984) inocularon melocotones con la cepa B-3 de *Bacillus subtilis* para el control de la pudrición parda causada por *Monilinia fructicola* durante la poscosecha, encontrando que este controlaba la enfermedad. A partir de este sencillo experimento, se hizo evidente que los patógenos poscosecha podían ser controlados, ofreciendo ventajas prácticas con respecto al control en campo.

Posteriormente, en 1989, Wilson y Wisniewski detallaron algunos de los primeros conceptos que definieron la investigación en el control biológico poscosecha, particularmente la hipótesis de que en la superficie de las frutas, vegetales y granos se encuentran de forma saprofítica diferentes especies de microorganismos antagónicos de los patógenos que causan su deterioro. Posteriormente, esto fue demostrado por Chalutz y Wilson (1990), quienes observaron que frutos de cítricos que habían sido cuidadosamente lavados antes de ser almacenados presentaban mayor incidencia de podredumbre que aquellos que fueron almacenados sin lavar.

Esto llevó a que en la década de los noventa se registraran ante la EPA los primeros biofungicidas en Estados Unidos: *Aspire*, cuyo principio activo es la

levadura *Candida oleophila*, y *Biosave*, cuyo principio activo es la bacteria *Pseudomonas syringae*, lo que impulsó el desarrollo de este tipo de productos en el mundo. Un ejemplo de esto ocurrió posteriormente en Israel, en donde se registró *Shemer* a base de la levadura *Metschnikowia fructicola*, hoy en día producido por Bayer CropScience®. Actualmente, se encuentran en desarrollo o registrados bioplaguicidas para uso en poscosecha en Sudáfrica, España, Bélgica y Francia (Droby, Wisniewski, Macarasin, & Wilson, 2009).

No obstante, los diferentes desarrollos y productos, el uso de agentes de control biológico en poscosecha es muy limitado. Si bien en algunos países su uso se ha establecido para diferentes productos agrícolas básicos (*commodities*), no deja de ser una característica puntual.

Diferentes situaciones limitan el desarrollo y adopción del control biológico como alternativa de control; por ejemplo, la falta de recursos financieros para efectuar actividades de prospección y desarrollo, la ausencia de redes de comercialización establecidas y las políticas que restrinjan el uso de moléculas con reportes de resistencia o potencial de causar problemas para la salud, particularmente en los países en desarrollo.

Asimismo, aunque para comercializar y utilizar un biofungicida es necesario contar con un registro y una serie de estudios toxicológicos y ecotoxicológicos, se ha planteado la preocupación por la salud y la seguridad, al incorporar un microorganismo antagonista en nuestra dieta, a pesar de que estos microorganismos en la mayoría de desarrollos han sido aislados de la superficie de los vegetales en lo que se usan; en el mismo sentido, los seres humanos están expuestos a estos y otros microorganismos diariamente cuando consumen frutas u otros vegetales frescos. Además, los antagonistas sobreviven y crecen solo en sitios muy restringidos de la superficie de los vegetales (heridas superficiales) (Droby et al., 2009).

Ecología en la carpósfera

La superficie de los diferentes órganos en una planta está rodeada de zonas de influencia biológica,

en las que la topografía, el microambiente y la disponibilidad de nutrientes, como los exudados vegetales o las secreciones azucaradas provocadas por algunos insectos, influyen sobre el crecimiento de diferentes poblaciones de microorganismos. De esta forma, la zona que tiene influencia en la raíz se conoce como rizosfera, mientras que en las hojas es la filósfera y en los frutos, la carpósfera.

Al igual que las demás estructuras en la filósfera, los frutos están expuestos al ambiente, al aire y al sol, así como a la ausencia de agua, ya que estas superficies tienden a estar secas, a no ser por eventos como lluvia, niebla, rocío o riego. Esto tiene un efecto para el crecimiento microbiano, que requiere de agua libre, así como de una alta humedad relativa (> 90 %) para el crecimiento (Andrews & Harris, 2000).

Es en estas zonas y en condiciones donde se presenta el crecimiento de diferentes tipos de microorganismos, estos interactúan de diferentes formas en la carpósfera, ya sea como epífitos, saprófitos o parásitos; en estos últimos, particularmente los microorganismos normalmente presentan crecimiento epifítico antes de infectar el tejido vegetal (Abdelfattah, Li Destri-Nicosia, Cacciola, Droby, & Schena, 2015).

La dinámica de la colonización de la carpósfera por los microorganismos está determinada en muchos casos por el estado fisiológico del huésped, por su edad y por el tipo de manejo. En este sentido, uno de los cultivos en los que más se ha trabajado para comprender la dinámica microbiana en la carpósfera es la vid, en virtud de la influencia que esta tiene en la producción de vinos. Es así como, en estudios desarrollados en uvas por Kecskemeti, Berkelmann-Lohnertz y Reineke (2016), se analizó la composición estructural de la microbiota presente en la carpósfera de uvas, encontrando que, a medida que la fruta maduraba, decrecían algunas poblaciones microbianas, en tanto que otras aumentaban o permanecían constantes. Además, a mayor maduración, decrecían las poblaciones de *Cladosporium* spp., *Alternaria pullulans* y *Alternaria alternata*, mientras que las de *B. cinerea* aumentaban; en el mismo sentido, encontraron que las poblaciones de bacterianas aisladas con mayor frecuencia correspondían a miembros de los géneros *Sphingomonas*, seguidos por *Gluconobacter* (entre otras bacterias del ácido acético), *Pseudomonas*, *Erwinia*

y *Massilia*. Sin embargo, *Gluconobacter* fue el único grupo que no disminuyó con la maduración del fruto.

Las levaduras son los microorganismos que mayor presencia tienen en la carpósfera de uva, y su población aumenta a medida que la fruta madura. En diferentes estudios se ha demostrado gran variedad de géneros encontrados en las uvas: *Aureobasidium*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Dekkera*, *Issatchenkia*, *Kluyveromyces*, *Metschnikowia*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Sporidiobolus*, *Torulasporea* y *Zygosaccharomyces* (Martins et al., 2014).

Las razones por las cuales aumentan las poblaciones de levaduras pueden estar relacionadas con la cantidad y calidad de los exudados presentes en la carpósfera durante la maduración del fruto, principalmente azúcares como glucosa, sacarosa, fructosa y sorbitol (Martins et al., 2014). Sin embargo, son estos nutrientes los que también estimulan el crecimiento de hongos patógenos como *B. cinerea*. Particularmente la cantidad de estos azúcares aumenta a medida que los frutos maduran, siendo en estos momentos cuando se presenta mayor incidencia del moho gris. No obstante, de acuerdo con Fourie y Holz (1998), quienes evaluaron el efecto de los exudados de frutos de ciruela y nectarina, *B. cinerea* no consume el sorbitol y los procesos de infección se favorecen por presencia de glucosa, sacarosa y fructosa, pero no de sorbitol. A diferencia de *B. cinerea*, una gran variedad de levaduras, aparte de consumir glucosa, sacarosa y fructosa, consumen sorbitol entre otros azúcares, lo que les da una ventaja para colonizar la carpósfera y antagonizar diferentes patógenos.

Por otra parte, la cantidad limitada de fuentes de nitrógeno orgánicas a partir de aminoácidos, como glutamato o glutamina, y microelementos como hierro afectan igualmente las poblaciones microbianas en beneficio de aquellas que presentan capacidad para tomarlos con mayor rapidez; en este sentido, la producción de sideróforos por diferentes bacterias como *Pseudomonas* spp., y levaduras como *Rhodotorula glutinis*, *Metschnikowia pulcherrima* y *Metschnikowia fructicola* ofrece una ventaja competitiva (Calvente, Benuzzi, & De Tosetti, 1999; Saravanakumar, Spadaro, Garibaldi, & Gullino, 2009).

Aparte de la disponibilidad de nutrientes, los microorganismos (epífitos, endófitos y patógenos) deben

superar los mecanismos de defensa de la planta, particularmente la producción de metabolitos secundarios con propiedades antifúngicas, para colonizar la superficie de los frutos. Justamente, es en el epicarpio de los frutos en donde se encuentran concentrados estos metabolitos en los estados inmaduros, que posteriormente disminuyen con su maduración, momento en el que el fruto es más susceptible a la infección y presenta los signos de una enfermedad, ya sea en campo o durante su poscosecha (Adikaram, Karunanayake, & Abayasekara, 2010).

En mango y aguacate, estos metabolitos juegan un rol importante en la resistencia natural a diferentes

enfermedades, involucrando moléculas como el resorcinol, galotaninos (taninos hidrolizables) y quitinasas que inhiben la mayoría de los patógenos poscosecha; generalmente estas moléculas se encuentran en mayor cantidad en aquellas variedades más tolerantes a determinada enfermedad con respecto a las susceptibles.

Sin embargo, patógenos como *C. gloeosporioides* y *A. alternata* pueden infectar frutos inmaduros y entrar en un estado de latencia hasta que los niveles de estos metabolitos disminuyan, para posteriormente desarrollarse, siendo en este punto cuando se evidencian los signos de la enfermedad (Adikaram et al., 2010).

Principales agentes de control biológico y sus modos de acción contra los patógenos poscosecha

La poscosecha presenta ventajas para implementar alternativas de manejo de enfermedades como el control biológico. Las heridas provocadas durante la cosecha, transporte y manipulación pueden ser protegidas con una sola aplicación de agentes de control biológico, actuando en un sitio específico bajo condiciones de ambientes más estables (Janisiewicz & Korsten, 2002; Wilson & Wisniewski, 1989).

Son muchos los estudios publicados que muestran la versatilidad de los microorganismos, particularmente

levaduras y bacterias, en el control de patógenos poscosecha en diferentes especies vegetales. Sin embargo, en otros se ha demostrado la versatilidad de hongos como *Trichoderma harzianum* o *Trichoderma viride* como agentes de control poscosecha, previo encadenamiento con las labores de precosecha.

En este sentido, y de acuerdo con estudios realizados por diferentes investigadores, en la tabla 3.1 se muestra una compilación de los microorganismos más estudiados como agentes de control biológico de patógenos poscosecha.

Tabla 3.1. Microorganismos antagonistas utilizados para el control de enfermedades poscosecha en hortalizas, raíces y tubérculos

Antagonista	Enfermedad (patógeno)	Fruta	Referencia(s)
<i>Aureobasidium pullulans</i>	Moho gris (<i>B. cinerea</i>), moho azul (<i>P. expansum</i>), pudrición blanda (<i>Monilinia laxa</i>)	Uva, Manzana	Schena, Nigro, Pentimone, Logorio y Ippolito (2003) Bencheqroun, et al. (2007) Barkai-Golan (2001)
<i>Bacillus subtilis</i>	Podredumbre del tallo (<i>Botryodiplodia theobromae</i> Pat.), moho gris (<i>B. cinerea</i>), pudrición por <i>Alternaria</i> (<i>A. alternata</i>)	Fresa, melón	Zhao, Shao, Tu y Chen, (2007) Yang, Bi, Chen, Ge y Zhao (2006)
<i>Bacillus licheniformis</i>	Antracnosis (<i>C. gloeosporioides</i>)	Mango	Govender, Korsten y Sivakumar (2005)

(Continúa)

(Continuación tabla 3.1)

Antagonista	Enfermedad (patógeno)	Fruta	Referencia(s)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>B. cinerea</i> , <i>P. expansum</i> , <i>R. stolonifer</i>	Melocotón	Arrebola, Sivakumar, Bacigalupo y Korsten (2010)
<i>Brevundimonas diminuta</i>	Antracnosis (<i>C. gloeosporioides</i>)	Mango	Kefialew y Ayalew (2008)
<i>Candida guilliermondii</i>	Moho gris (<i>B. cinerea</i>)	Pera, manzana	Tian, Fan, Xu y Liu (2002)
<i>Candida membranifaciens</i>	Antracnosis (<i>C. gloeosporioides</i>)	Mango	Koomen y Jeffries (1993) Kefialew y Ayalew (2008)
<i>Candida oleophila</i>	Pudrición de la corona (<i>Colletotrichum musae</i>) Antracnosis (<i>C. gloeosporioides</i>), moho gris (<i>B. cinerea</i>), moho verde (<i>P. digitatum</i>)	Banano, papaya, melocotón, naranja	Lassois, de Bellaire y Jijakli (2008) Gamagae, Sivakumar, Wilson Wijeratnam y Wijesundra (2003) Karabulut y Baykal (2004) El-Neshawy y Wilson (1997)
<i>Candida sake</i>	Moho azul (<i>P. expansum</i>)	Manzana	Usall, Teixido, Torres, Ochoa de Eribe y Viñas (2001) Torres et al. (2006) Morales, Sanchis, Usall, Ramos y Marín (2008)
<i>Cryptococcus albidus</i>	Moho gris (<i>B. cinerea</i>), moho azul (<i>P. expansum</i>)	Manzana, fresa	Fan y Tian (2001) Helbig (2002)
<i>Cryptococcus laurentii</i>	Pudrición agria (<i>Glomerella cingulata</i>), pudrición marrón (<i>M. fructicola</i>), pudrición por <i>Alternaria</i> (<i>A. alternata</i>), moho azul (<i>P. expansum</i>), pudrición blanda (<i>R. stolonifer</i>), moho gris (<i>B. cinerea</i>), moho azul (<i>P. expansum</i>)	Manzana, cereza, melocotón, fresa.	Lima, Curtis, Piedimonte, Spina y De Cicco (2006) Zhang, Zheng, Fu y Xi (2003, 2005) Zhang, Wang et al. (2007) Zhang, Zheng, Wang, Li y Liu (2007) Zhang, Zheng y Yu (2007) Yao y Tian (2005)
<i>Cryptococcus magnus</i>	Antracnosis (<i>C. gloeosporioides</i>)	Papaya	Capdeville et al. (2007)
<i>Epicoccum nigrum</i>	Pudrición marrón (<i>Monilinia laxa</i>)	Melocotón	Larena et al. (2005)
<i>Kloeckera apiculata</i>	Moho gris (<i>B. cinerea</i>), moho verde (<i>P. digitatum</i>), moho azul (<i>P. italicum</i>)	Cerezas, cítricos	Karabulut, Arslan, Kadir y Gul (2005) Long, Deng y Deng (2006) Long, Deng y Deng (2007)
<i>Kluyveromyces thermotolerans</i>	<i>Aspergillus carbonarius</i> , <i>Aspergillus niger</i>	Uva	Bleve, Grieco, Cozzi, Logrieco y Visconti (2006)
<i>Metschnikowia fructicola</i>	Moho gris (<i>B. cinerea</i>)	Uva	Karabulut y Baykal (2003)
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Moho azul (<i>P. expansum</i> ; <i>P. italicum</i>)	Manzana, cítricos	Spadaro, Vola, Piano, y Gullino (2002) Spadaro, Garibaldi, y Gullino (2004) Kinay y Yildiz (2008)

(Continúa)

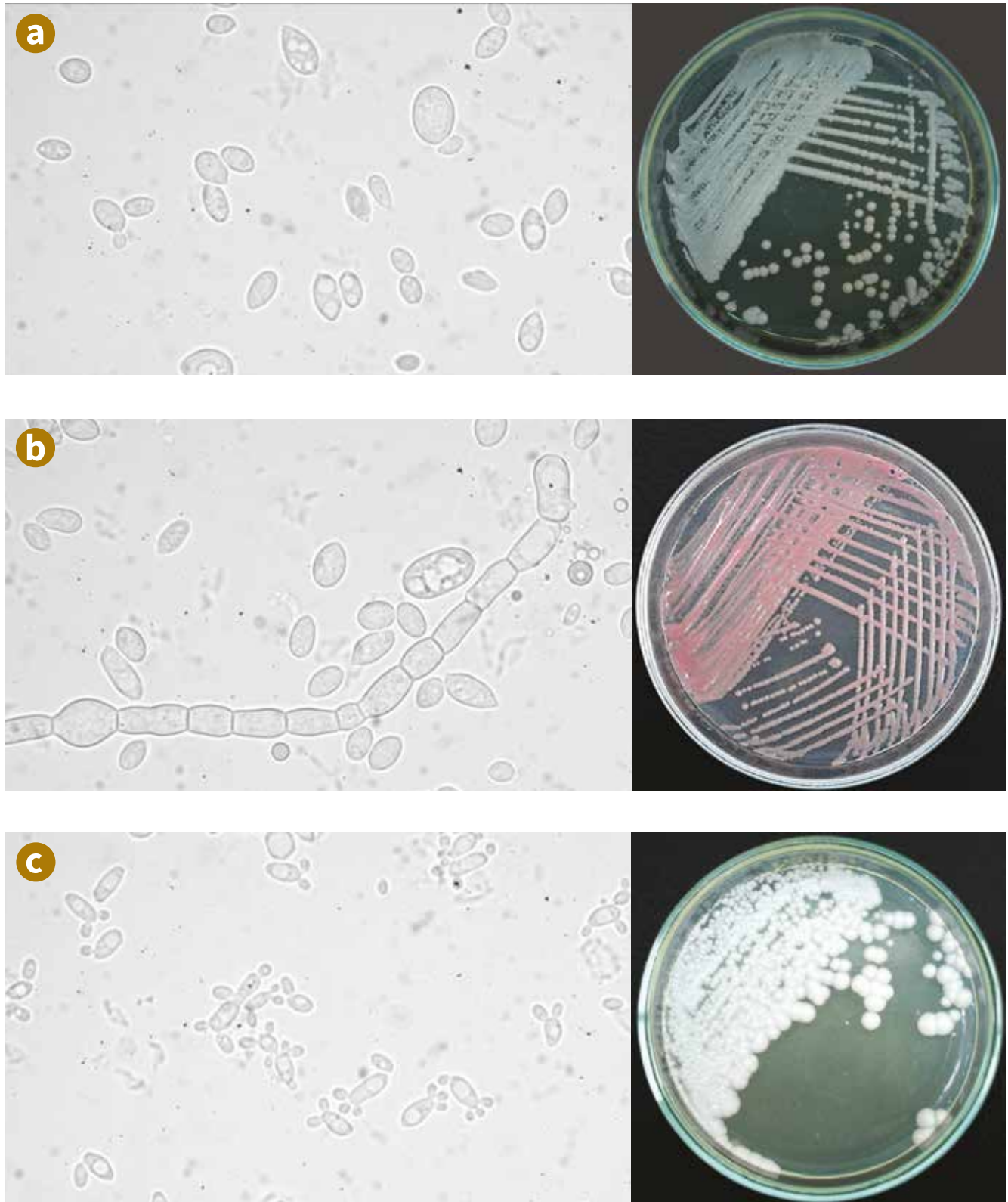
(Continuación tabla 3.1)

Antagonista	Enfermedad (patógeno)	Fruta	Referencia(s)
<i>Pantoea agglomerans</i>	Pudriciones por <i>Penicillium</i> (<i>Penicillium</i> spp.), pudrición blanda (<i>R. stolonifer</i>), moho azul (<i>P. expansum</i>)	Cítricos, manzana, pera	Nunes, Teixido, Usall, y Viñas, (2001); Nunes, Usall, Teixido, Fons y Vinas (2002); Nunes, Usall, Teixidó, Torres y Vinas (2002) Canamas et al. (2008)
<i>Penicillium frequentans</i>	Pudrición marrón (<i>Monilinia</i> sp.)	Melocotón	Guijarro et al. (2007)
<i>Pichia anomala</i>	Pudriciones por <i>Penicillium</i> (<i>Penicillium</i> spp.), pudrición de corona (<i>C. musae</i>), antracnosis (<i>Colletotrichum capsici</i>), mancha bacteriana de la sandía (<i>Acidovorax avenae</i>)	Cítricos, banano, chile, melón	Lahlali, Serrhini y Jijakli (2004) Lassois, de Bellaire y Jijakli (2008) Chanchaichaovivat, Ruenwongsa y Panijpan (2007) Wang, Li, Jiang y Huang (2009)
<i>Pichia guilliermondii</i>	Moho azul (<i>P. italicum</i>)	Cítricos	Kinay y Yildiz (2008)
<i>Pichia membranifaciens</i>	Antracnosis (<i>C. acutatum</i>)	Níspero japonés	Cao, Zheng, Tang y Wang (2008)
<i>Pichia onychis</i>	Pudrición blanda (<i>R. stolonifer</i>)	Tomate	García, Jiménez, Neisa y Cotes (2001) García y Cotes (2001) Fuentes, García y Cotes (2002)
<i>Pichia pastoris</i>	Moho azul (<i>P. expansum</i>)	Manzana	Janisiewicz et al. (2008)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Moho gris (<i>B. cinerea</i>)	Manzana	Mikani et al. (2008)
<i>Pseudomonas syringae</i>	Moho azul (<i>P. expansum</i>), moho gris (<i>B. cinerea</i>)	Manzana, melocotón	Janisiewicz (1987) Zhou, Northover y Schneider (1999)
<i>Rahnella aquatilis</i>	Moho gris (<i>B. cinerea</i>), moho verde (<i>P. digitatum</i>)	Manzana	Calvo, Calvente, De Orellano, Benuzzi y Sanz de Tosetti (2003) Calvo, Calvente, de Orellano, Benuzzi y Sanz de Tosetti (2007)
<i>Rhodotorula glutinis</i>	Moho azul (<i>P. expansum</i>), pudrición por <i>Alternaria</i> (<i>A. alternata</i>), moho gris (<i>B. cinerea</i>)	Manzana, pera, fresa	Zhang et al. (2009) Tian, Qin y Xu (2005) Zhang, Zheng, Wang et al. (2007) Zhang et al. (2008)
<i>Trichoderma harzianum</i>	Antracnosis (<i>C. musae</i> ; <i>C. gloeosporioides</i>), moho gris (<i>B. cinerea</i>), mancha marrón (<i>Gliocephalotrichum microchlamydosporum</i>)	Banano, uva, kiwi, pera, rambután	Krishnamurthy. & Kushalappa (1985) Batta (2007) Sivakumar, Wilson Wijeratnam, Marikar, Abeyesekere y Wijesundera (2001) Sivakumar, Wilson Wijeratnam, Abeyesekere y Wijesundera (2002) Sivakumar, Wilson Wijeratnam, Wijesundera, Marikar y Abeyesekere (2000).
<i>Trichoderma viride</i>	Podredumbre del tallo (<i>B. theobromae</i> Pat.)	Mango	Kota, Kulkarni y Hegde (2006)
<i>Trichosporon pullulans</i>	Pudrición por <i>Alternaria</i> (<i>A. alternata</i>)	Cereza	Qin y Tian (2004)

Fuente: Adaptada de Ray, Swain, Panda y Lata (2011)

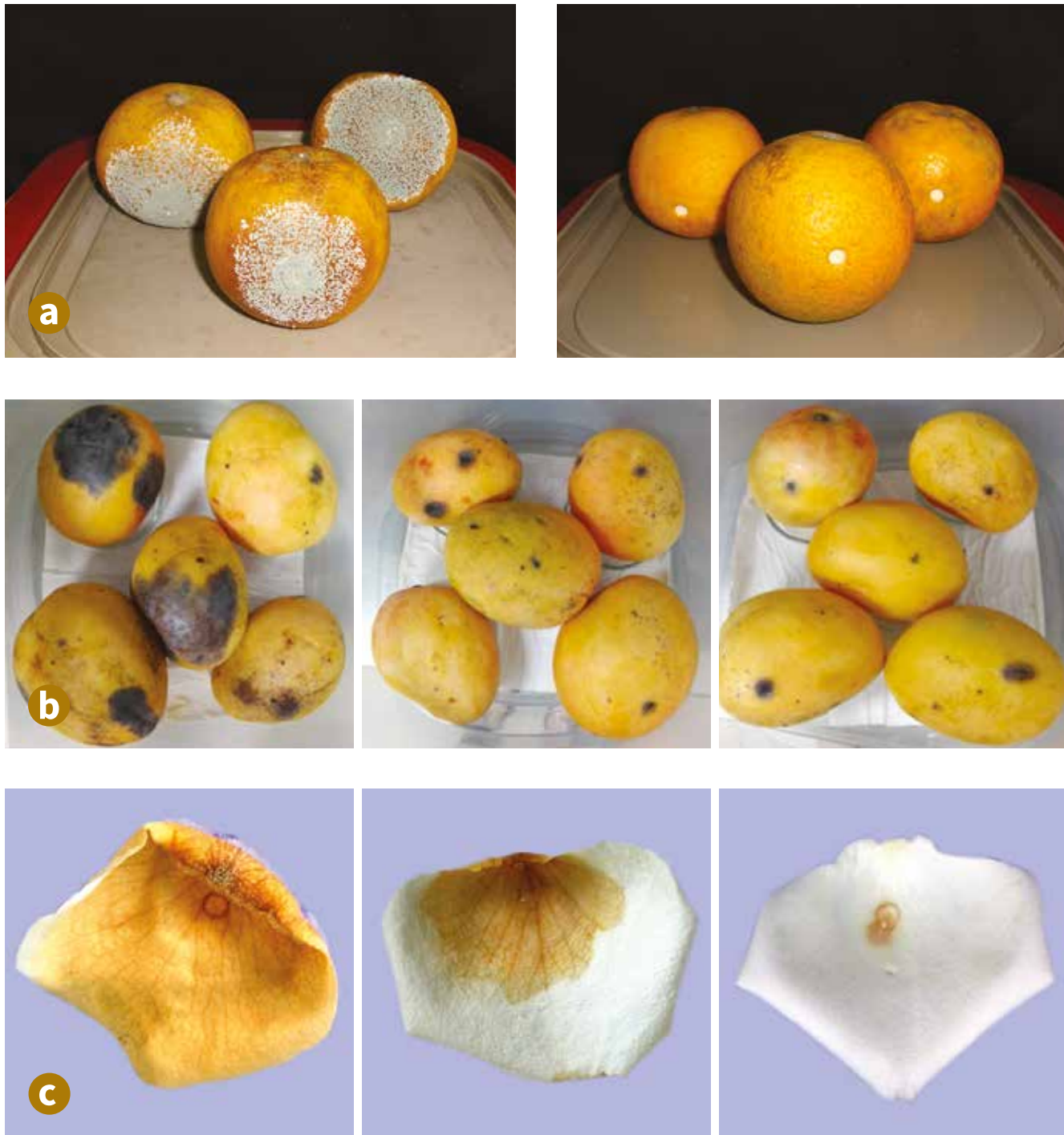
A continuación, se muestran algunas levaduras utilizadas para el control de patógenos en poscosecha

(figura 3.2) y el efecto de varios microorganismos biocontroladores (figura 3.3).



Fotos: Yimmy Zapata

Figura 3.2. Aspecto microscópico (izquierda) y macroscópico (derecha) de levaduras utilizadas como agentes de control en poscosecha, correspondientes a los géneros: a. *Pichia*; b. *Rhodotorula*; c. *Candida*.



Fotos: Yimmy Zapata

Figura 3.3. Actividad biocontroladora de levaduras. a. Control de *P. digitatum* (izquierda) en naranjas con la levadura *C. oleophila* (derecha) después de 7 días de incubación; b. Control de *C. gloeosporioides* (izquierda) con la levadura *Rhodotorula glutinis* (centro) y con la bacteria *Lysinibacillus xylanilyticus* (derecha) después de 12 días de inoculación; c. Control de *B. cinerea* (izquierda) en rosa con dos aislamientos de *Pichia onychis* (centro y derecha) después de 6 días de inoculación.

Modos de acción

Actualmente, se dispone de una gran cantidad de herramientas microbiológicas, microscópicas, bioquímicas y moleculares avanzadas. Estas podrían utilizarse para mejorar los conocimientos sobre los mecanismos de acción de los antagonistas microbianos (Liu, Sui, Wisniewski, Droby, & Liu, 2013), integrándose al estudio del control biológico, ya que las comunidades microbianas en las superficies de frutas y hortalizas podrían afectar el control de la enfermedad a través de su interacción

con las plantas huésped, los patógenos y los agentes de control biológico. Esto ocurre debido a que en los mecanismos de acción hay interacciones tetratróficas entre el antagonista, el patógeno, el huésped y la microflora epifítica (Massart, Martinez-Medina, & Jijakli, 2015). En la mayoría de los casos, los enfoques científicos han examinado por separado estos componentes. A continuación, se presentan los modos de acción más frecuentemente atribuidos a los biocontroladores en poscosecha (figura 3.4).

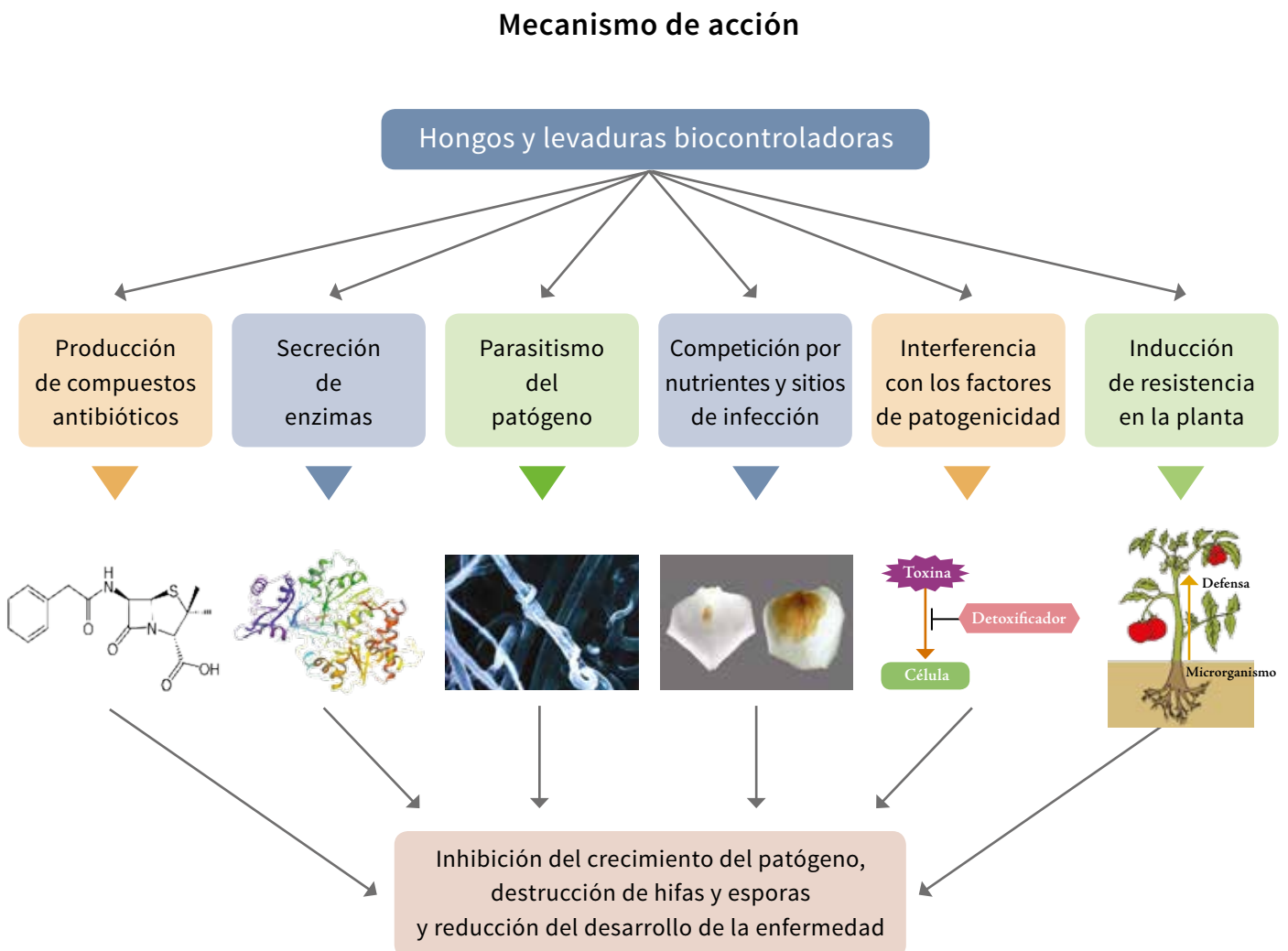


Figura 3.4. Modos de acción atribuidos a biocontroladores de patógenos en poscosecha.

Fuente: Elaboración propia

Competencia por espacio y nutrientes

Se considera que el modo de acción más importante de las levaduras y bacterias biocontroladoras es la competencia por espacio y nutrientes, debido a su rápida capacidad para colonizar la superficie de los vegetales, particularmente en las heridas que se producen durante su manipulación. En estas, las levaduras crecen rápidamente durante las primeras 24 horas agotando los nutrientes disponibles, además de ocupar físicamente el espacio de la herida, lo que limita la germinación de los conidios de los patógenos (figura 3.5). Adicionalmente, las levaduras están mejor adaptadas para tolerar diferentes condiciones nutricionales y ambientales en comparación con los propágulos de los patógenos, lo que les da ventajas competitivas (Droby, Chalutz, Wilson, & Wisniewski, 1992; El-Ghaouth, Wilson, & Wisniewski, 2004; Liu et al., 2013).

Este mecanismo se ha dilucidado en la interacción *Enterobacter cloacae*-*R. stolonifer* en melocotón y *P. guilliermondii*-*P. italicum* en cítricos (Arras, De Cicco, Arru, & Lima, 1998; Wisniewski et al., 1989). En otros estudios, se demostró que los antagonistas *Cryptococcus laurentii* y *Sporobolomyces roseus* utilizaron el acetato de butilo, compuesto volátil de la manzana, como fuente de nutrientes, y redujeron los efectos estimuladores de este compuesto sobre la germinación de los conidios de *B. cinerea* *in vitro* (Filonow, 2001). Además, se observó que estos dos antagonistas exhibían una mayor absorción y utilización de la fructosa a 14 °C, lo que sugiere que la competencia por nutrientes podría haber desempeñado un papel importante en su control. El mismo fenómeno también se encontró en la interacción de *E. herbicola* B66 y B90 con *B. cinerea* y *P. expansum* en jugo de manzana diluido (Bryk, 1999).

Sin embargo, diferentes estudios han demostrado que la eficiencia en el control disminuye con la maduración de los frutos. En este sentido, Arras et al. (1998) evaluaron la actividad de control de la levadura *Pichia guilliermondii* contra el moho azul en cítricos, adicionando bajas concentraciones de glucosa en las heridas donde fue inoculada; los investigadores encontraron que la incidencia de *P. italicum* aumentó significativamente en las frutas tratadas, con respecto

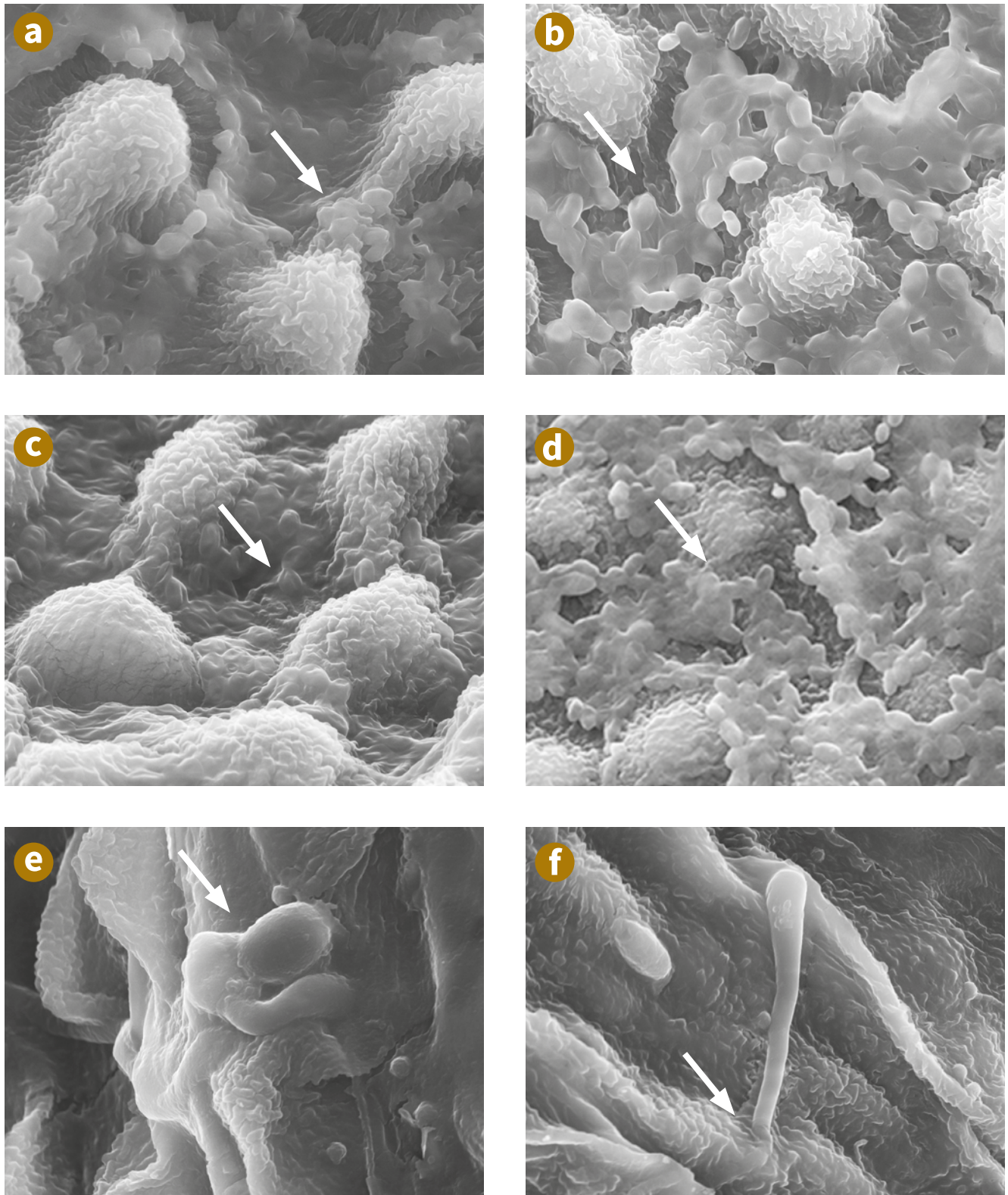
a aquellas a las que no se les adicionó glucosa. Esta situación, también se ha observado para *Pseudomonas cepacia* y *Candida saitoana* en el control de *P. digitatum* en limones, que se redujo a medida en que el fruto cambió su coloración de verde a amarillo, parámetro fisiológico que indica un avance en la maduración (El-Ghaouth, Smilanick, & Wilson, 2000; El-Ghaouth & Wilson, 2002).

Por otra parte, la competencia por micronutrientes como el hierro en un ambiente pobre en oxígeno, como las heridas de las frutas, es un mecanismo utilizado por los antagonistas. Tal es el caso de sideróforos de tipo ácido rodotorúlico, producido por *Rhodotorula glutinis*, que interviene en el control de *Penicillium expansum* en manzanas (Calvente et al., 1999). Lo mismo ocurrió con la producción de pulquerrimina por *Metschnikowia pulcherrima* y *Metschnikowia fructicola*, que está involucrada en el control de *B. cinerea*, *Alternaria alternata* y *P. expansum*, en manzanas almacenadas en atmósferas controladas (O_2 al 2 % y CO_2 al 3 %) (Saravanakumar et al., 2009).

Producción de antibióticos

La antibiosis es un importante modo de acción atribuido particularmente a las bacterias, debido a su capacidad para producir sustancias que inhiben el crecimiento de los patógenos o que causan su muerte. Bacterias como *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas cepacia* inhiben el crecimiento de patógenos como *P. expansum* y *B. cinerea*, mediante la producción de iturina y pirrolnitrina, respectivamente (Janisiewicz, Yourman, Roitman, & Mahoney, 1991; Pusey, 1989).

La iturina, producida por *B. subtilis* B-3, y la pirrolnitrina, producida por *Pseudomonas cepacia* LT-4-12W, redujeron el crecimiento *in vitro* y la germinación conidial del patógeno de durazno *M. fructicola*, así como de los patógenos de manzana y pera *P. expansum* y *B. cinerea*, respectivamente (Gueldner et al., 1988; Janisiewicz & Roitman, 1988). Ambos biocontroladores controlaron efectivamente las enfermedades causadas por estos patógenos (Janisiewicz & Roitman, 1988; Prusky, Alkan, Mengiste, & Fluhr, 2013), que tam-



Fotos: Gloria Patricia Barrera

Figura 3.5. Aspecto microscópico de la interacción entre la levadura *Rhodotorula glutinis* y *B. cinerea* en pétalos de rosa luego de 24 y 96 horas, respectivamente. a y b. Superficie de pétalos inoculados con la levadura; c y d. Superficie de pétalos de rosa inoculados con la levadura y con conidios de *B. cinerea*; e y f. Desarrollo de *B. cinerea* inoculado en ausencia de la levadura (Imágenes al microscopio electrónico de barrido a una magnitud de 5.000 X).

bién fueron controladas al aplicarlos sobre los frutos en ausencia de los biocontroladores (Janisiewicz et al., 1991). En ensayos desarrollados con las cepas productoras de iturina *B. amyloliquefaciens* PPCB004 y *B. subtilis* UMAF6614 y UMAF6639, y las cepas no productoras de iturina *B. amyloliquefaciens* PPCB004itu- (un mutante de la cepa PPCB004) y *B. subtilis* PPCB00, en el control de *Penicillium crustosum*, *Alternaria citri* y *C. gloeosporioides* en naranjas (Arrebola, Jacobs, & Korsten, 2010), se inocularon las bacterias 24 horas previas a la inoculación de los patógenos. Allí, se observó que había una menor incidencia de estos en aquellas naranjas tratadas con las bacterias productoras de iturina, con respecto a las tratadas con las bacterias que no producen este antibiótico, demostrando el gran potencial de uso de estas bacterias durante la poscosecha de cítricos.

Además, se demostró que *A. pullulans* produce el antibiótico aureobasidina (Takesako et al., 1991), mientras que las cepas de *P. syringae* ESC-10 y ESC-11 producen el antibiótico Siringomicina E en algunos medios de cultivo, compuestos que al purificarlos controlaron el moho verde de los limones (Bull et al., 1998).

Sin embargo, esto lleva al debate de si se debería usar un microorganismo productor de antibióticos en poscosecha, teniendo en cuenta la preocupación de introducir estos metabolitos en los alimentos o contribuir al riesgo de desarrollo de resistencia por parte de los patógenos (Nunes, 2012). Es necesario elucidar aún más este modo de acción, ya que, como lo demostraron Smilanick y Denis-Arrue (1992), un patógeno que presente resistencia a un antibiótico puede ser controlado por un microorganismo que produzca este mismo metabolito; estos autores observaron que una cepa de *P. digitatum* resistente a la pirrolnitrina fue controlado por *P. cepacia*, bacteria que lo produce, sugiriendo que la producción de antibióticos no es el único mecanismo de acción, pudiendo estar involucrado además la colonización y el consumo de nutrientes.

En este sentido, sería posible utilizar microorganismos que produzcan compuestos antimicrobianos volátiles, dado que así los alimentos no estarían en contacto con los microorganismos y sus antibióticos (Gomes, Queiroz, & Pereira, 2015; Nunes, 2012).

Parasitismo y lisis

Algunos microorganismos utilizados como agentes de control en poscosecha tienen la capacidad de parasitar a diferentes patógenos. Wisniewski et al. (1991) evidenciaron la habilidad que tienen las células de *Pichia guilliermondii* de unirse a las hifas de *B. cinerea* y de *Penicillium* sp., (mediada quizás por la acción de lectinas) y de degradarlas mediante la producción y actividad de enzimas hidrolíticas como β -1,3-glucanasa y quitinasa.

Aureobasidium pullulans cepa LS-30 ha demostrado control de patógenos poscosecha como *B. cinerea* y *P. expansum* en manzanas y de *A. niger* y *R. stolonifer* en uvas de mesa, mediante la producción de β -1,3-glucanasa y exoquitinasa (Castoria et al., 2001). Asimismo, se ha demostrado lisis en las hifas de *B. cinerea* por β -1,3-glucanasa producida por *P. guilliermondii* en manzana (Arras et al., 1998). Además, cuando se aplicó la cepa K de *P. anomala*, en presencia de la pared celular de *B. cinerea* en heridas de manzana, demostró mayor eficacia en el control del moho gris, control que se relacionó con un aumento de tres veces en la producción de exo- β -1,3-glucanasa, lo que llevó a una reducción de más del 50 % en el tamaño de la lesión, en comparación a cuando el antagonista se aplicó solo (Grevesse, Jijakli, Duterme, Colinet, & Lepoivre, 1998; Jijakli, Lepoivre, & Grevesse, 1999). También se han encontrado mayores actividades β -1,3-glucanasa y quitinasa en heridas de manzana tratadas con cepas de *A. pullulans*, relacionando esto con su actividad biocontroladora en manzanas y uvas de mesa (Conway, Sams, & Hickey, 2002; Ippolito & Nigro, 2000).

Inducción de respuestas de defensa

La respuesta de defensa en frutos está determinada principalmente por la producción de inhibidores de las enzimas que intervienen en la degradación de la pared celular de los tejidos vegetales, así como en la producción de compuestos antifúngicos como fitoalexinas y compuestos fenólicos, especies

reactivas de oxígeno y el fortalecimiento de las paredes celulares. Estas respuestas pueden ser elicidadas por diferentes microorganismos, entre los que se encuentran algunas levaduras que se utilizan en poscosecha (Arras, 1996; Ippolito, El-Ghaouth, Wilson, & Wisniewski, 2000).

Uno de los primeros reportes sobre inducción de resistencia en frutas almacenadas fue realizado por Arras (1996), quien demostró que la fitoalexina scoparona, asociada a la resistencia en cítricos, fue sintetizada en naranjas tratadas con la levadura *Candida famata* cepa FS35.

En el mismo sentido, Droby et al. (2002) demostraron que *Candida oleophila* indujo resistencia sistémica a *P. digitatum* en pomelo, 24 horas después de la aplicación de la levadura, observando que las heridas realizadas a menos de 4 cm de las heridas inoculadas con las células de las levaduras presentaban menor incidencia de la enfermedad con respecto a las que se encontraban a mayor distancia; así, atribuyeron la protección a la producción y acumulación de β -1,3-glucanasa, quitinasa y fitoalexinas.

Igualmente, El Ghaouth, Wilson y Wisniewski (2003) demostraron la inducción de respuestas de defensa en manzanas por *Candida saitoana* contra *B. cinerea*, al inocular la levadura entre 48 y 72 horas previas a la inoculación del patógeno. Estos autores observaron reducción de las lesiones producidas por *B. cinerea* en heridas, efecto de protección que fue correlacionado con la producción de β -1,3-glucanasa y quitinasa.

En otros trabajos se demostró que la levadura antagonista *P. guilliermondii* US-7 induce en cáscaras de cítricos, además de la fitoalexina scoparona, la producción de la fenilalanina amonio liasa (PAL). Esta enzima es de suma importancia, ya que es la primera en la ruta de los fenilpropanoides involucrada en mecanismos de defensa vegetal (Pusey & Wilson, 1984). Además, el tratamiento con *C. saitoana* en manzana y cítricos indujo quitinasa y causó la deposición de papilas a lo largo de las paredes de las células huésped (El-Ghaouth et al., 2000; El-Ghaouth, Wilson, & Wisniewski, 1998). La aplicación de *A. pullulans* L47 en manzanas aumentó las actividades de β -1,3-glucanasa, quitinasa y polifenol oxidasa (PO) 24 horas después del tratamiento, alcanzando

niveles máximos a las 48 y 96 h después de su inoculación (Ippolito et al., 2000). Además, cuando se aplicó *C. saitoana* sobre manzanas, 48 horas a 72 horas antes de la inoculación con *B. cinerea*, redujo el diámetro de lesión en más del 50 % y 70 %, respectivamente, y aumentó las actividades de quitinasa y β -1,3-glucanasa (El-Ghaouth et al., 2003).

Por otra parte, el tratamiento en manzanas con la levadura *C. famata*, además de aumentar las actividades de quitinasa y β -1,3-glucanasa, aumentó 12 veces la concentración de las fitoalexinas scoparona y scopoletin en las heridas de la fruta, cuatro días después de inoculación. Este resultado se relacionó con la reducción del moho verde (*P. digitatum*) en las naranjas (Arras, 1996). La aplicación de *Pseudomonas fluorescens* FP7, formulada como una emulsión agua en aceite, aumentó la actividad de las enzimas relacionadas con la defensa; tal es el caso de PAL, peroxidasa, polifenol oxidasa, catalasa y β -1,3-glucanasa. Estas mismas respuestas fueron observadas cuando se aplicaron *P. fluorescens* Pf1 y *B. subtilis* EPCO16 (Faisal et al., 2013). Estas cepas, además de los compuestos mencionados anteriormente, también indujeron la superóxido dismutasa y catalasa en frutos de mango tratados contra la pudrición del tallo (Seethapathy, Gurudevan, Subramanian, & Kuppasamy, 2016).

Producción de otros compuestos antimicrobianos

Algunas cepas de las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia membranifaciens* pueden producir diferentes compuestos que inhiben el desarrollo de los patógenos durante la poscosecha; entre estas, las levaduras con el factor *killer* (K) producen las denominadas toxinas o proteínas κ , que son letales tanto para otras levaduras como para otros hongos. Estas toxinas le confieren a quien las produce una ventaja ecológica al momento de colonizar un sustrato, ya que son estables y activas en rangos de pH entre 3,0 y 5,5; aunque algunas son inestables a temperaturas sobre los 25 °C, esto en general no afecta su actividad, ya que a esta temperatura no se suelen realizar las operaciones poscosecha (Breinig et al., 2002; Marquina, Santos, & Peinado, 2002; Selitrennikoff, 2001).

Un ejemplo de su uso para patógenos en poscosecha se describe en el trabajo de Perez et al. (2016), quienes evaluaron 437 aislamientos de levadura, demostrando que el 8,5 % pertenecía al fenotipo κ . Estas pertenecen a los géneros *Saccharomyces*, *Wickerhamomyces*, *Kazachstania*, *Pichia*, *Candida* y *Clavispora*, que al ser enfrentadas *in vitro* con *P. digitatum* causaron la máxima inhibición, seleccionándose para la realización de bioensayos *in vivo* en limones. De este grupo, dos cepas de *Pichia* y una cepa de *Wickerhamomyces* presentaron una protección significativa contra el

moho verde ($p < 0,05$). Otros autores también han demostrado que los caracteres κ de cepas de *Debaryomyces hansenii* les confieren potencial para el control de las enfermedades poscosecha (Çorbacı & Uçar, 2017).

Varios de los mecanismos citados se resumen en la figura 3.6, en la que además se muestran los efectos del patógeno en una fruta no tratada con el biocontrolador, en comparación con una fruta tratada con el biocontrolador.

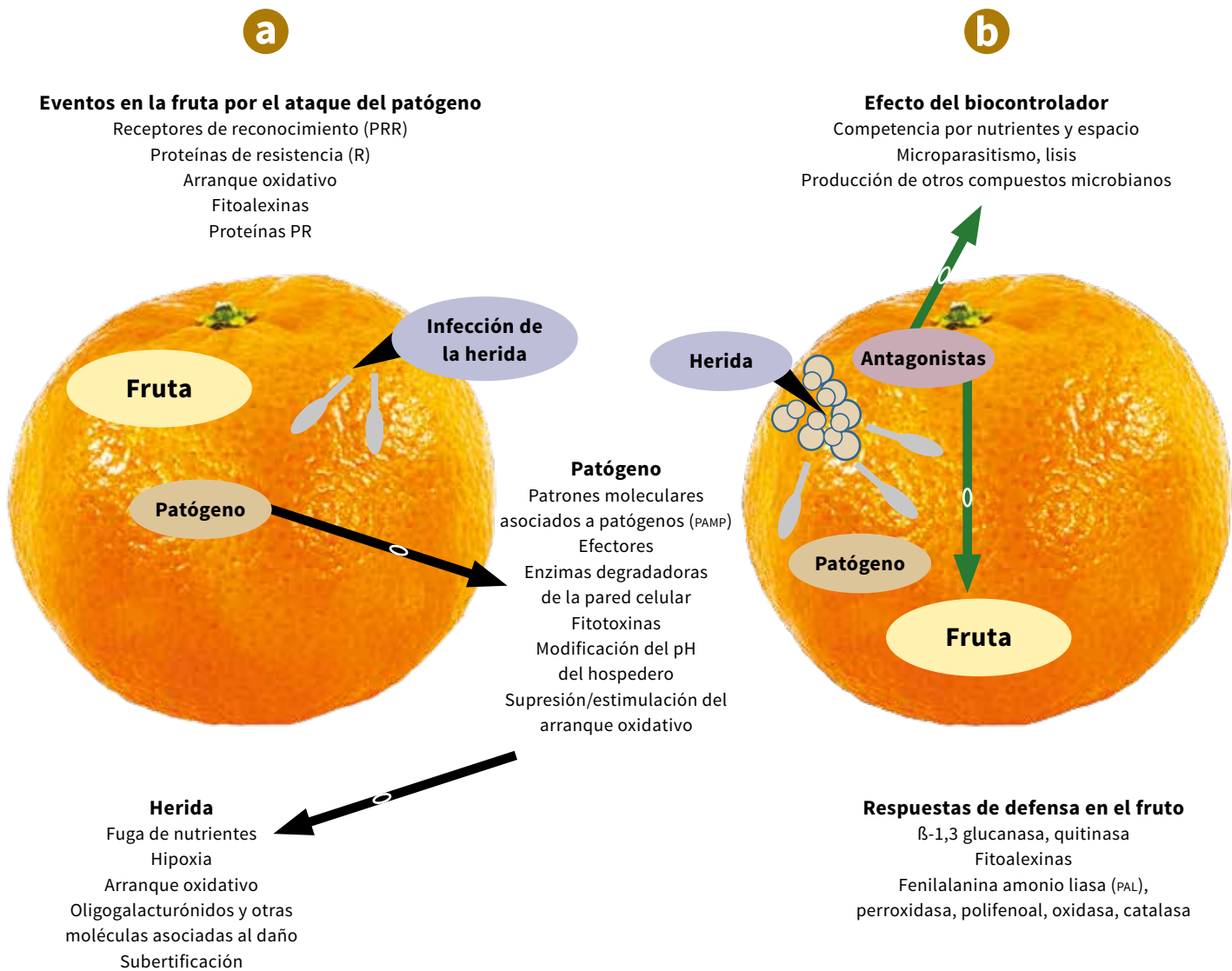


Figura 3.6. Interacciones entre Patógeno–Fruta–Biocontrolador. a. Efectos del patógeno y respuesta de una fruta no tratada con el biocontrolador; b. Efecto protector de un biocontrolador expresado por diferentes mecanismos directos sobre el patógeno, e indirectos mediante inducción de respuestas de defensa en la fruta.

Fuente: Adaptada de Spadaro y Droby (2016)

Bioplaguicidas comercialmente disponibles para el control de patógenos en poscosecha

A diferencia de la tolerancia en la efectividad que puede tener el control biológico en campo, en poscosecha se considera que la actividad debe ser superior al 90%. Sin embargo, este nivel de control puede ser alcanzado solo cuando se complementa el uso de los bioplaguicidas con bajos niveles de fungicidas de

síntesis química (Droby et al., 2009). A pesar de las numerosas investigaciones desarrolladas en el control biológico de patógenos poscosecha, en la actualidad son pocos los bioplaguicidas basados en levaduras o bacterias registrados en diferentes países para el manejo de enfermedades en la poscosecha (tabla 3.2).

Tabla 3.2. Ejemplo de biofungicidas registrados para el control de patógenos poscosecha

Biofungicida	Principio activo	Blanco	Uso en	Origen
Aspire	<i>Candida oleophila</i> cepa I-182	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Penicillium</i> sp.	Manzanas, cítricos	Ecogen, Estados Unidos (Wisniewski et al., 2007)
Boni Protect	<i>Aureobasidium pullulans</i> cepas DSM 14940 y 14941	<i>Gloeosporium album</i> , <i>P. expansum</i> , <i>B. cinerea</i> , <i>Monilia fructigena</i>	Manzanas	Bio-protect, Alemania (Lacroix, 2010).
Bio-Save®	<i>Pseudomonas syringae</i>	<i>B. cinerea</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>Geotrichum</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp.	Manzanas, peras, cerezas, cítricos.	Estados Unidos (Droby et al., 2009).
Botector®	<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>B. cinerea</i>	Uvas	Bio-ferm GmbH Technopark, Austria (Lacroix, 2010).
Candifruit	<i>Candida sake</i> cepa CPA-1	<i>Penicillium</i> sp.	Manzanas y cítricos	Sipcam - Inaagri, SA, Valencia, España (Droby et al., 2009).
NEXY®	<i>Candida oleophila</i> cepa O	<i>B. cinerea</i> , <i>P. expansum</i>	Manzanas, banano, cítricos.	Lesaffre - Bionext, Francia (Droby et al., 2009).
Shemer™	<i>Metschnikowia fructicola</i>	<i>Aspergillus</i> sp., <i>B. cinerea</i> , <i>Rhizopus</i> sp., <i>Sclerotinia</i> sp.	Uvas, cítricos, fresas, frutos de pepita	Bayer Crop Science, Israel (Droby et al., 2009).
Yield Plus	<i>Cryptococcus albidus</i>	<i>B. cinerea</i> , <i>P. expansum</i> , <i>Mucor piriformis</i>	Frutos de pepita	Lallemand, Canada (Droby et al., 2009).

Fuente: Elaboración propia con base en los autores citados

Dado el costo en el desarrollo de nuevas y seguras moléculas químicas para uso en poscosecha, así como las restricciones en el uso que las actuales plantea, la adopción de los biofungicidas como estrategia principal para el control de los patógenos poscosecha ofrece una importante oportunidad, siendo pocos los que se encuentran en etapas avanzadas de desarrollo o que están comercialmente disponibles. El poco éxito de los productos para el control de patógenos en poscosecha ha sido atribuido a varios problemas, incluyendo dificultades para su producción masiva y formulación, el estado fisiológico de los productos cosechados y su susceptibilidad a patógenos específicos (Droby, Wisniewski, Teixidó, Spadaro, & Jijakli, 2016), además de la baja rentabilidad de muchos de ellos (Spadaro & Droby, 2016), y debido a los resultados inconsistentes cuando son usados a nivel comercial, ya que la mayoría de ellos no afectan patógenos quiescentes.

Historias de éxito: *Candida oleophila* para el control biológico de patógenos en poscosecha

Los primeros estudios sobre control biológico de enfermedades poscosecha aparecieron hace más de 30 años, cuando investigadores del Servicio de Investigación Agrícola de Estados Unidos (USDA-ARS, por su sigla en inglés) trabajaron en el desarrollo de bioplaguicidas a base de levaduras y bacterias (Droby et al., 2009; Sharma, Singh, & Singh, 2009; Spadaro & Gullino, 2004) y, desde entonces, se han logrado progresos importantes. El primer producto de biocontrol de patógenos en poscosecha fue desarrollado por Wisniewski et al. (2007), quienes utilizaron la levadura *Candida oleophila*, producto que fue lanzado bajo el nombre comercial de *Aspire*® en 1995 (Ecogen Inc., Langhore, PA).

Ese primer producto dejó muchas enseñanzas y abrió el campo para el uso de levaduras biocontroladoras, ya que en el proceso de investigación Wilson Wisniewski, Droby y Chalutz (1993) desarrollaron una estrategia de selección para identificar potenciales agentes biocontroladores no productores de antibióticos. El aislamiento se realizó aplicando agua de lavado de frutas

sanas sobre la superficie de los frutos que normalmente desarrollaban enfermedades en la poscosecha, para así obtener levaduras a partir de heridas que no habían desarrollado la infección por patógenos. Posteriormente, incluyeron en esta estrategia la inoculación artificial de los patógenos que se deseaba controlar. En uno u otro caso, una vez aislaban la levadura antagonista en cultivo puro, estas se identificaban utilizando técnicas morfológicas, fisiológicas y moleculares para establecer su identidad. Así, a partir de la superficie del tomate se aisló *Candida oleophila* (cepa I-182), a partir de la cual se desarrolló el primer bioplaguicida de control en poscosecha a base de levaduras. Su desarrollo estuvo fundamentado en criterios adicionales para la cepa y para el producto formulado (Wisniewski et al., 2007), tales como:

- Estabilidad genética.
- Eficacia a bajas concentraciones.
- Reducida exigencia de nutrientes.
- Capacidad para sobrevivir condiciones ambientales adversas, incluyendo baja temperatura y almacenamiento en atmósfera controlada.
- Eficacia contra una amplia gama de patógenos en variedad de frutas y hortalizas.
- Facilidad para ser producida masivamente en un medio de cultivo económico.
- Formulación con una larga vida útil.
- Facilidad de aplicación.
- No producción de metabolitos perjudiciales para la salud humana.
- Compatibilidad con plaguicidas químicos.
- Tolerancia a los procedimientos utilizados para su escalamiento comercial.
- Ausencia de crecimiento a 37 °C.
- Ausencia de patogenicidad en frutas y hortalizas.

Para su producción comercial, se estableció una alianza con Ecogen, que proporcionó el puente entre la teoría y la práctica. Esta empresa se encargó de proteger, mediante patente, el uso de la levadura y

de realizar el proceso de registro ante la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA, por su sigla en inglés). Previamente, se logró producir la levadura en un sustrato de bajo costo, utilizando subproductos industriales, y se desarrolló un bioplaguicida con una vida útil de más de un año sin refrigeración (Wilson & Wisniewski, 1994), que fue evaluado en ensayos piloto sobre manzanas y cítricos en Estados Unidos e Israel, respectivamente. Este producto a base de un único microorganismo dio inicio a la primera generación de productos para poscosecha (Wisniewski et al., 2007). Se registró en Estados Unidos para su uso en manzanas y cítricos, pero fue retirado del mercado tres años después de su introducción comercial a gran escala, en parte debido a su eficacia inconsistente bajo condiciones comerciales, si se tiene en cuenta que este y otros productos de poscosecha tienen incapacidad para controlar infecciones preestablecidas o quiescentes. Además, otras situaciones tales como la baja rentabilidad, las dificultades de penetración y percepción del mercado (clientes/industria y pequeñas empresas), la baja disponibilidad y la falta de recursos para mantener su desarrollo y comercialización llevaron a tomar esta decisión (Spadaro & Droby, 2016).

Las limitaciones de este tipo de productos para controlar infecciones preestablecidas o quiescentes dieron inicio al desarrollo de la segunda generación de bioplaguicidas, basada en la combinación de productos naturales junto con el microorganismo antagonista, lo que permitió mejorar las oportunidades de patentes y atraer nuevos socios industriales. Es así como mediante otra investigación, el grupo de Gembloux Agro-Biotech (Universidad de Lieja, Bélgica) aislaron la levadura *Candida oleophila* cepa O de la superficie de manzanas Golden Delicious, que fue seleccionada entre varias por su alta y consistente actividad biocontroladora contra *B. cinerea* y *P. expansum*, dos patógenos limitantes a nivel mundial en la poscosecha de manzanas y peras (Jijakli, Lepoivre, Tossut, & Thonard, 1993). Esta cepa también resultó ser muy eficaz para controlar *P. digitatum* y *P. italicum*, dos especies devastadoras en la poscosecha de los cítricos (Lahlali, Serrhini, & Jijakli, 2004, 2005a, 2005b).

En razón de estos resultados se desarrolló NEXY®, un formulado que, además de la cepa O de *C.*

oleophila, contiene el aditivo nutricional consistente en una sal de calcio. Este producto se vende en dos bolsas separadas: NEXY® biomasa y NEXY® aditivo, que deben mezclarse justo antes de su uso. El producto fue patentado y licenciado por la compañía Agrauxine, una subsidiaria de Lesaffre International, y fue registrado ante la Unión Europea (Lahlali, Raffaele, & Jijakli, 2011). NEXY® ha demostrado además un control efectivo contra un complejo fúngico integrado por *C. musae*, *Fusarium moniliforme* y *Cephalosporium* sp., en banano (Bastiaanse, De Lapeyre de Bellaire, Lassois, Misson, & Jijakli, 2010). Recientemente, Agrauxine y Syngenta iniciaron una alianza para lanzar NEXY® como la primera solución de biocontrol contra las enfermedades en poscosecha del banano (Lavalard, 2017).

El uso de aditivos mezclados con las levaduras para incrementar su actividad biocontroladora también fue implementado por los investigadores de USDA-ARS, quienes luego del registro de Aspire desarrollaron dos nuevos productos, cuyos principales componentes fueron la levadura *Candida saitoana*, mezclada con un derivado del quitosán (Biocoat®) o con lisozima (Biocure®). Estos compuestos ya se habían ensayado en todo el mundo y habían demostrado tener actividad de control de fitopatógenos (Wisniewski et al., 2007). Además de estos aditivos, ambos productos contienen bicarbonato sódico. La eficacia de control de estos bioplaguicidas se ubicó en niveles equivalentes a los encontrados con los fungicidas químicos utilizados en la poscosecha y fueron patentados (El-Ghaouth & Wilson, 2002; Wilson & El-Ghaouth, 2002).

Gracias a los esfuerzos pioneros de varios grupos de investigación, en los últimos años ha habido una gran dinámica en el control biológico de patógenos en poscosecha. Un análisis de información desarrollada por Spadaro y Droby (2016) mostró que, al utilizar las palabras clave “biocontrol”, “control biológico” y “poscosecha” en Scopus, se recuperaron 879 documentos, la mayoría de ellos (el 69%) publicada en los últimos diez años, lo que demostró avances impresionantes en el desarrollo de este tema, en el que se incluyeron trabajos sobre registro y comercialización de productos de biocontrol y manejo de los principales patógenos poscosecha, como *P. expansum*, *P. digitatum*, *P. italicum*, *Fusarium sambucinum*, *R. stolonifer* y *B. cinerea*.

Conclusiones y perspectivas

Las primeras investigaciones para identificar potenciales agentes de biocontrol básicamente adoptaron la misma estrategia utilizada para encontrar agentes de control biológico contra enfermedades foliares y transmitidas por el suelo, en las que se diseñó un programa de aislamiento y *screening* para identificar antagonistas potentes únicos. Sin embargo, los paradigmas anteriores descuidaron el hecho de que el antagonista introducido no era el único “jugador” presente en el producto cosechado y les atribuyó poca importancia a otros tratamientos poscosecha sobre la población de antagonistas y su efecto sobre otra microflora residente.

Ha habido avances significativos en la comprensión de los mecanismos de acción de los biocontroladores; además, la información disponible indica que no hay un mecanismo universal común para todos los antagonistas reportados. Aunque se piensa que la competencia por los nutrientes y espacio juega un papel importante, ahora es evidente que los diferentes mecanismos de acción que actúan en conjunto y la contribución relativa de cada uno de ellos dependen en gran medida del tipo de antagonista, del huésped, del medio ambiente y de la microflora natural residente, que es única para cada fruta o verdura.

Se ha demostrado que el estado fisiológico, las condiciones ambientales y el manejo poscosecha tienen efectos significativos, pero hay desconocimiento en gran parte sobre las interacciones fruto/hortaliza con las comunidades microbianas. A la luz de los recientes avances en las tecnologías ómicas, tecnologías de secuenciación de última generación y biología de sistemas, la ecología microbiana está teniendo un gran impacto que está llevando a un cambio de paradigma en el control biológico de patógenos en poscosecha. La comprensión de que el microbioma es un componente integral y activo de las frutas y hortalizas cosechadas, así como que está siendo influenciado por diversos factores de estrés bióticos y abióticos, exige el estudio de todos los factores involucrados en la composición y función de un microbioma específico. Se debe explorar la posibilidad de que las interacciones multitróficas estén implicadas en los sistemas de control biológico en poscosecha. La comprensión de los mecanismos por los cuales las plantas seleccionan e interactúan con sus microbiomas puede tener un efecto directo sobre la salud de las frutas y las enfermedades y puede conducir al establecimiento de estrategias de manejo de los fitopatógenos y a la modulación de la fisiología del fruto/hortaliza después de la cosecha.

Se han logrado avances significativos en el descubrimiento y desarrollo de bioplaguicidas, y en la mejora de la eficacia de una amplia variedad de antagonistas microbianos. Todo indica que la industria de bioplaguicidas seguirá creciendo y, finalmente, podrá convertirse en el componente principal para el control de enfermedades en poscosecha. Estamos definitivamente entrando en la era de la biología y nos estamos alejando de la era de los agroquímicos. En esta nueva era, las soluciones biológicas se utilizarán para resolver problemas de enfermedades y producción en la agricultura. El universo de los microorganismos inexplorados y su uso potencial ofrece un nuevo paradigma, especialmente en lo relativo al uso de consorcios microbianos. La investigación está descubriendo que los límites entre macroorganismos (plantas, animales y seres humanos) y microorganismos son ambiguos y superficialmente comprendidos. La comprensión de cómo estos dos mundos interactúan será el desafío que enfrentan los investigadores en muchos campos, incluyendo aquellos que trabajan en control biológico de enfermedades antes y después de la cosecha. Aunque esto representa grandes desafíos, habrá grandes oportunidades para la actividad comercial en control biológico.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a los pares evaluadores por su importante contribución a este capítulo.



Referencias

- Abdelfattah, A., Li Destri-Nicosia, M. G., Cacciola, S. O., Droby, S., & Schena, L. (2015). Metabarcoding analysis of fungal diversity in the phyllosphere and carposphere of olive (*Olea europaea*). *Plos One*, 10(7), 1-19. doi:10.1371/journal.pone.0131069.
- Adikaram, N., Karunanayake, C., & Abayasekara, C. (2010). The role of pre-formed antifungal substances in the resistance of fruits to postharvest pathogens. En D. Prusky & M. L. Gullino (Eds.), *Postharvest pathology* (pp. 1-11). Dordrecht, Holanda: Springer.
- Andersen, B., Smedsgaard, J., & Frisvad, J. (2004). *Penicillium expansum*: Consistent production of patulin, chaetoglobosins, and other secondary metabolites in culture and their natural occurrence in fruit products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(8), 2421-2428. doi:10.102/jf035406k.
- Andrews, J. H., & Harris, R. F. (2000). The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces. *Annual Review of Phytopathology*, 38, 145-180. doi:10.1146/annurev.phyto.38.1.145.
- Arras, G. (1996). Mode of action of an isolate of *Candida famata* in biological control of *Penicillium digitatum* in orange fruits. *Postharvest Biology and Technology*, 8(3), 191-198. doi:10.1016/0925-5214(95)00071-2.
- Arras, G., De Cicco, V., Arru, S., & Lima, G. (1998). Biocontrol by yeasts of blue mould of citrus fruits and the mode of action of an isolate of *Pichia guilliermondii*. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 73(3), 413-418. doi:10.1080/14620316.1998.11510993.
- Arrebola, E., Jacobs, R., & Korsten, L. (2009). Iturin A is the principal inhibitor in the biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* PPCB004 against postharvest fungal pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 108(2), 386-395. doi:10.1111/j.1365-2672.2009.04438.x.
- Arrebola, E., Sivakumar, D., Bacigalupo, R., & Korsten, L. (2010). Combined application of antagonist *Bacillus amyloliquefaciens* and essential oils for the control of peach postharvest diseases. *Crop Protection*, 29(4), 369-377. doi:10.1016/j.cropro.2009.08.001.
- Barkai-Golan, R. (2001). *Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control*. Amsterdam, Holanda: Elsevier.
- Bastiaanse, H., De Lapeyre de Bellaire, L., Lassois, L., Misson, C., & Jijakli, M. H. (2010). Integrated control of crown rot of banana with *Candida oleophila* strain O, calcium chloride and modified atmosphere packaging. *Biological Control*, 53(1), 100-107. doi:10.1016/j.biocontrol.2009.10.012.
- Batta, Y. A. (2007). Control of postharvest diseases of fruit with an invert emulsion formulation of *Trichoderma harzianum* Rifai. *Postharvest Biology and Technology*, 43(1), 143-150. doi:10.1016/j.postharvbio.2006.07.010.
- Begum, M., Hocking, A. D., & Miskelly, D. (2009). Inactivation of food spoilage fungi by ultra violet (uvc) irradiation. *International Journal of Food Microbiology*, 129(1), 74-77. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.11.020.
- Bencheqroun, S. K., Bajji, M., Massart, S., Labhilili, M., Jaafari, S. E., & Jijakli M. H. (2007). *In vitro* and *in situ* study of postharvest apple blue mold biocontrol by *Aureobasidium pullulans*: Evidence for the involvement of competition for nutrients. *Postharvest Biology Technology*, 46(2), 128-135. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.05.005.
- Bleve, G., Grieco, F., Cozzi, G., Logrieco, A., & Visconti, A. (2006). Isolation of epiphytic yeasts with potential for biocontrol of *Aspergillus carbonarius* and *A. niger* on grape. *International Journal of Food Microbiology*, 108(2), 204-209. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.12.004.
- Breinig, F., Tipper, D. J., & Schmitt, M. J. (2002). Kre1p, the plasma membrane receptor for the yeast K1 viral toxin. *Cell*, 108(3), 395-405. doi:10.1016/S0092-8674(02)00634-7.
- Bryk, H. (1999). The study on the infection of apple fruits by *Botrytis cinerea* Pers. after harvest. *Acta Agrobotanica*, 52(1-2), 19-29.
- Bull, C. T., Wadsworth, M. L., Sorensen, K. N., Takemoto, J. Y., Austin, R. K.,... Smilanick, J. L. (1998). Syringomycin E produced by biological control agents controls green mold on lemons. *Biological Control*, 12(2), 89-95. doi:10.1006/bcon.1998.0622.

- Caiazza, R., Kim, Y., & Xiao, C. L. (2014). Occurrence and Phenotypes of Pyrimethanil Resistance in *Penicillium expansum* from Apple in Washington State. *Plant Disease*, 98(7), 924-928. doi:10.1094/PDIS-07-13-0721RE.
- Calvente, V., Benuzzi, D., & De Tosetti, M. I. S. (1999). Antagonistic action of siderophores from *Rhodotorula glutinis* upon the postharvest pathogen *Penicillium expansum*, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 43(4), 167-172. doi:10.1016/S0964-8305(99)00046-3.
- Calvo, J., Calvente, V., De Orellano, M. E., Benuzzi, D., & Sanz de Tosetti M. I. (2003). Improvement in the biocontrol of postharvest diseases of apples with the use of yeast mixtures. *Biocontrol*, 48(5), 579-593. doi:10.1023/A:1025738811204.
- Calvo, J., Calvente, V., de Orellano, M. E., Benuzzi, D., & Sanz de Tosetti, M. (2007). Biological control of postharvest spoilage caused by *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* in apple by using the bacterium *Rahnella aquatilis*. *International Journal of Food Microbiology*, 113(3), 251-257. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.07.003.
- Canamas, T. P., Viñas, I., Usall, J., Torres, R., Anguera, M., & Teixidó, N. (2008). Control of postharvest diseases on citrus fruit by preharvest applications of biocontrol agent *Pantoea agglomerans* CPA-2: Part II. Effectiveness of different cell formulations. *Postharvest Biology and Technology*, 49(1), 96-106. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.12.005.
- Cao, S., Zheng, Y., Tang, S., & Wang, K. (2008). Improved control of anthracnose rot in loquat fruit by a combination treatment of *Pichia membranifaciens* with CaCl₂. *International Journal of Food Microbiology*, 126(1-2), 216-220. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.05.026.
- Capdeville, G., Souza, M. T., Santos, J. R. P., Miranda, S. P., Caetano A. R., & Torres, F. A. G. (2007). Selection and testing of epiphytic yeasts to control anthracnose in postharvest of papaya fruit. *Scientia Horticulturae*, 111(2), 179-185. doi:10.1016/j.scienta.2006.10.003.
- Carisse, O. (2016). Epidemiology and aerobiology of *Botrytis* spp. En: S. Fillinger & Y. Elad, Y. (Eds.), *Botrytis – the Fungus, the pathogen and its management in agricultural systems* (pp. 127-148). Cham, Suiza: Springer International.
- Castoria, R., De Curtis, F., Lima, G., Caputo, L., Pacifico, S., & De Cicco, V. (2001). *Aureobasidium pullulans* (LS-30) an antagonist of postharvest pathogens of fruits: study on its modes of action. *Postharvest Biology and Technology*, 22(1), 7-17. doi:10.1016/S0925-5214(00)00186-1.
- Coates, L. M., & Johnson, G. I. (1997). Postharvest pathology of fruit and vegetables. En J. Brown & H. Ogle, (Eds.), *Plant Pathogens and Plant Diseases* (pp. 533- 547). Armidale, Australia: Rockvale.
- Conway, W. S., Sams, C. E., & Hickey, K. D. (2002). Pre- and postharvest calcium treatment of apple fruit and its effect on quality. *Acta Horticulture*, 594, 413-419. doi:10.17660/ActaHortic.2002.594.53.
- Çorbacı, C., & Uçar, F. B. (2017). Production and optimization of killer toxin in *Debaryomyces hansenii* strains. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60, e17160339. doi:10.1590/1678-4324-2017160339.
- Chalutz, E., & Wilson, C. (1990). Postharvest biocontrol of green and blue mold and sour rot of citrus fruit by *Debaryomyces hansenii*. *Plant Diseases*, 74, 134-137. doi:10.1094/PD-74-0134.
- Chanchaichaovivat, A., Ruenwongsa, P., & Panijpan, B. (2007). Screening and identification of yeast strains from fruit and vegetables: potential for biological control of postharvest chilli anthracnose (*Colletotrichum capsici*). *Biological Control*, 42, 326-335. doi:10.1016/j.biocontrol.2007.05.016.
- Choudhary, A. K., & Kumari, P. (2010). Management of mycotoxin contamination in preharvest and post harvest crops: present status and future prospects. *Journal of Phytology*, 2(7), 37-52.
- Departamento Nacional de Planeación (DNP). (2016). *Pérdida y desperdicio de alimentos en Colombia, estudio de la dirección de seguimiento y evaluación de políticas públicas*. Bogotá, Colombia: DNP.
- Droby, S., Chalutz, E., Wilson, C. L., & Wisniewski, M. E. (1992). Biological control of postharvest diseases: a promising alternative to the use of synthetic fungicides. *Phytoparasitica*, 20(Supl. 1), S149-S153. doi:10.1007/bf02980427.
- Droby, S., Vinokur, V., Weiss, B., Cohen, L., Daus, A., Goldschmidt, E. E., & Porat, R. (2002). Induction of resistance to *Penicillium digitatum* in grapefruit by the yeast biocontrol agent *Candida oleophila*. *Phytopathology*, 92(4), 393-399. doi:10.1094/PHYTO.2002.92.4.393.
- Droby, S., Wisniewski, M., Macarasin, D., & Wilson, C. (2009). Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm? *Postharvest Biology and Technology*, 52(2), 137-145. doi:10.1016/j.postharvbio.2008.11.009.
- Droby, S., Wisniewski, M., Teixidó, N., Spadaro, D., & Jijakli, M. H. (2016). The science, development, and commercialization of postharvest biocontrol products. *Postharvest Biology and Technology*, 122, 22-29. doi:10.1016/j.postharvbio.2016.04.006.
- Du Plooy, W., Regnier, T., & Combrinck, S. (2009). Essential oil amended coatings as alternatives to synthetic fungicides in citrus postharvest management. *Postharvest Biology and Technology*, 53(3), 117-122. doi:10.1016/j.postharvbio.2009.04.005.
- El-Ghaouth, A., Smilanick, J. L., & Wilson, C. L. (2000). Enhancement of the performance of *Candida saitoana* by the addition of glycolchitosan for the control of postharvest decay of apple and citrus fruit. *Postharvest*

- Biology and Technology*, 19(1), 103-110. doi:10.1016/S0925-5214(00)00076-4.
- El-Ghaouth, A., & Wilson, C. (2002). Patente EUA 6419922B1. *Candida saitoana* compositions for biocontrol of plant postharvest decay. Washington, EE. UU.: Oficina de Patentes y Marcas de EUA.
- El-Ghaouth, A., Wilson, C., & Wisniewski, M. (2003). Control of postharvest decay of apple fruit with *Candida saitoana* and induction of defense responses. *Phytopathology*, 93(3), 344-348. doi:10.1094/PHYTO.2003.93.3.344.
- El-Ghaouth, A., Wilson, C., & Wisniewski, M. (2004). Biologically-based alternatives to synthetic fungicides for the control of postharvest diseases of fruit and vegetables. En S. A. M. H. Naqvi (Ed.), *Diseases of fruit and vegetables* (pp. 511-535). Dordrecht, Holanda: Springer.
- El-Ghaouth, A., Wilson, C. L., & Wisniewski, M. (1998). Ultrastructural and cytochemical aspects of the biological Control of *Botrytis cinerea* by *Candida saitoana* in apple fruit. *Phytopathology*, 88(4), 282-291. doi:10.1094/PHYTO.1998.88.4.282.
- El-Neshawy, S. M., & Wilson, C. L. (1997). Nisin enhancement of biocontrol of postharvest diseases of apple with *Candida oleophila*. *Postharvest Biology and Technology*, 10(1), 9-14. doi:10.1016/S0925-5214(96)00053-1.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2016). *What are Biopesticides?* Recuperado de <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/what-are-biopesticides>.
- Faisal, M., Prema, R., Nagendran, K., Karthikeyan, G., Raguchander, T., & Prabakar, K. (2013). Development and evaluation of water in oil based emulsion formulation of *Pseudomonas fluorescens* (FP7) against *Colletotrichum musae* incitant of anthracnose disease in banana. *European Journal of Plant Pathology*, 138(1), 167-180. doi:10.1007/s10658-013-0320-6.
- Fan, Q., & Tian, S. P. (2001). Postharvest biological control of grey mold and blue mold on apple by *Cryptococcus albidus* (Saito) Skinner. *Postharvest Biology and Technology*, 21(3), 341-350. doi:10.1016/S0925-5214(00)00182-4.
- Filonow, A. B. (2001). Butyl acetate and yeasts interact in adhesion and germination of *Botrytis cinerea* conidia *in vitro* and in fungal decay of golden delicious apple. *Journal of Chemical Ecology*, 27(4), 831-844. doi:10.1023/A:1010314305461.
- Fourie, J. F., & Holz, G. (1998). Effects of fruit and pollen exudates on growth of *Botrytis cinerea* and infection of plum and nectarine fruit. *Plant Disease*, 82(2), 165-170. doi:10.1094/PDIS.1998.82.2.165.
- Fuentes, O. E., García, P. G., & Cotes, A. M. (2002). Evaluation of potential agents for postharvest biocontrol of *Alternaria alternata* in tomato. *Bulletin OILB/SROP*, 25(10), 403-406.
- Gamagae, S. U., Sivakumar, D., Wilson Wijeratnam, R. S., & Wijesundra R. L. C. (2003). Use of sodium bicarbonate and *Candida oleophila* to control anthracnose in papaya during storage. *Crop Protection*, 22(5), 775-779. doi:10.1016/S0261-2194(03)00046-2.
- García, G., & Cotes, A. M. (2001). Searching alternatives for biological control of *Rhizopus stolonifer* in tomato postharvest. *Fitopatología colombiana*, 25, 39-47.
- García G., Jiménez, Y., Neisa, A., & Cotes, A. M. (2001). Selection of native yeasts for biological control of post-harvest rots caused by *Botrytis allii* in onion and *Rhizopus stolonifer* in tomato. *Bulletin OILB/SROP*, 24(3), 181-184.
- Gomes, A., Queiroz, M., & Pereira, O. (2015). Mycofumigation for the biological control of postharvest diseases in fruits and vegetables: A review. *Bioengineering. Austin Journal of Biotechnology & Bioengineering*, 2(4), 1051.
- Govender, V., Korsten, L., & Sivakumar, D. (2005). Semi-commercial evaluation of *Bacillus licheniformis* to control mango postharvest diseases in South Africa. *Postharvest Biology and Technology*, 38(1), 57-65. doi:10.1016/j.postharvbio.2005.04.005.
- Grevesse, C., Jijakli, H., Duterme, O., Colinet, D., & Lepoivre, P. (1998). Preliminary study of exo-b-1, 3-Glucanase encoding genes in relation to the protective activity of *Pichia anomala* (strain K) against *Botrytis cinerea* on postharvest apples. *Bulletin OILB/SROP = IOBC/WPRS Bulletin*, 21(9), 81-89.
- Guedner, R. C., Reilly, C. C., Pusey, P. L., Costello, C. E., Arrendale, R. F., Cox, R. H., Himmelsbach, D. S., et al. (1988). Isolation and identification of iturins as antifungal peptides in biological control of peach brown rot with *Bacillus subtilis*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 36(2), 366-370. doi:10.1021/jf00080a031.
- Guijarro, B., Melgarejo, P., Torres, R., Lamarca, N., Usall, J., & De Cal, A. (2007). Effects of different biological formulations of *Penicillium frequentans* on brown rot of peaches. *Biological Control*, 42(1), 86-96. doi:10.1016/j.biocontrol.2007.03.014.
- Ippolito, A., El-Ghaouth, A., Wilson, C. L., & Wisniewski, M. (2000). Control of postharvest decay of apple fruit by *Aureobasidium pullulans* and induction of defense responses. *Postharvest Biology and Technology*, 19(3), 265-272. doi:10.1016/S0925-5214(00)00104-6.
- Ippolito, A., & Nigro, F. (2000). Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Crop Protection*, 19(8), 715-723. doi:10.1016/S0261-2194(00)00095-8.
- Janisiewicz, W. J. (1987). Postharvest biological control of blue mold on apple. *Phytopathology*, 77, 481-485.
- Janisiewicz, W., & Roitman, J. (1988). Biological control of blue mold and gray mold on apple and pear with *Pseudomonas cepacia*. *Phytopathology*, 78(12), 1697-1700.

- Janisiewicz, W., Yourman, L., Roitman, J., & Mahoney, N. (1991). Postharvest control of blue mould and gray mould of apples and pears by dip treatment with pyrrolnitrin, a metabolite of *Pseudomonas cepacia*. *Plant Disease*, 75(5), 490-494. doi:10.1094/PD-75-0490.
- Janisiewicz, W. J., & Conway, W. S. (2010). Combining biological control with physical and chemical treatments to control fruit decay after harvest. *Stewart Postharvest Review* 6(1), article 3. doi:10.2212/spr.2010.1.3.
- Janisiewicz, W. J., & Korsten, L. (2002). Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annual Review of Phytopathology*, 40, 411-441. doi:10.1146/annurev.phyto.40.120401.130158.
- Janisiewicz, W. J., Bastos Pereira, I., Almeida, M. S., Roberts, D. P., Wisniewski, M., & Kurtenbach, E. (2008). Improved biocontrol of fruit decay fungi with *Pichia pastoris* recombinant strains expressing Psd1 antifungal peptide. *Postharvest Biology and Technology*, 47(2), 218-225. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.06.010.
- Jarvis, W. R. (1991). Latent infections in the pre- and postharvest environment. *HortScience*, 26(6), 801.
- Jijakli, M., Lepoivre, P., Tossut, P., & Thonard, P. (1993). Biological control of *Botrytis cinerea* and *Penicillium* sp. on post-harvest apples by two antagonistic yeasts. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen (Rijksuniversiteit te Gent)*, 58(3b), 1349-1358.
- Jijakli, M.H., Lepoivre, P., & Grevesse, C. (1999). Yeast species for biocontrol of apple postharvest diseases: An encouraging case of study for practical use. En K. G. Mukerji, B. P. Chamola, & R. K. Upadhyay (Eds.), *Biotechnological approaches in biocontrol of plant pathogens* (pp. 31-49). Boston, EE. UU.: Springer.
- Helbig, J. (2002). Ability of the antagonistic yeast *Cryptococcus albidus* to control *Botrytis cinerea* in strawberry. *Biocontrol*, 47(1), 85-99. doi:10.1023/A:1014466903941.
- Karabulut, O. A., & Baykal, N. (2003). Biological control of postharvest diseases of peaches and nectarines by yeasts. *Journal of Phytopathology*, 151(3), 130-134. doi:10.1046/j.1439-0434.2003.00690.x.
- Karabulut, O. A., & Baykal, N. (2004). Integrated control of postharvest diseases of peaches with a yeast antagonist, hot water and modified atmosphere packaging. *Crop Protection*, 23(5), 431-435. doi:10.1016/j.cropro.2003.09.012.
- Karabulut, O. A., Arslan, U., Kadir, I., & Gul, K. (2005). Integrated control of post harvest diseases of sweet cherry with yeast antagonist and sodium bicarbonate applications within a hydrocooler. *Postharvest Biology and Technology*, 37(2), 135-141. doi:10.1016/j.postharvbio.2005.03.003.
- Kecskemeti, E., Berkelmann-Lohnertz, B., & Reineke, A. (2016). Are epiphytic microbial communities in the carposphere of ripening grape clusters (*Vitis vinifera* L.) different between conventional, organic, and biodynamic grapes? *PLoS One*, 11, e0160852. doi:10.1371/journal.pone.0160852.
- Kefalew, Y., & Ayalew, A. (2008). Postharvest biological control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) on mango (*Mangifera indica*). *Postharvest Biology and Technology*, 50(1), 8-11. doi:10.1016/j.postharvbio.2008.03.007.
- Kim, Y. K., Saito, S., & Xiao, C. L. (2015). Occurrence of Fludioxonil resistance in *Penicillium digitatum* from citrus in California. *Plant Diseases*, 99(10), 1447. doi:10.1094/PDIS-02-15-0226-PDN.
- Kinay, P., & Yildiz, M. (2008). The shelf life and effectiveness of granular formulations of *Metschnikowia pulcherrima* and *Pichia guilliermondii* yeast isolates that control postharvest decay of citrus fruit. *Biological Control*, 45(3), 433-440. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.03.001.
- Koomen, I., & Jeffries, P. (1993). Effects of antagonistic microorganisms on the postharvest development of *Colletotrichum gloeosporioides* on mango. *Plant Pathology*, 42(2), 230-237. doi:10.1111/j.1365-3059.1993.tb01495.x.
- Kota, V. R., Kulkarni, S., & Hegde, Y. R. (2006). Postharvest diseases of mango and their biological management. *Journal of Plant Disease Science*, 1(2), 186-188.
- Krishnamurthy, S., & Kushalappa, C. G. (1985). Studies on the shelf life and quality of Robusta bananas as affected by post-harvest treatments. *Journal of Horticultural Science*, 60(4), 549-556. doi: 10.1080/14620316.1985.11515663.
- Lacroix, C. (2010). *Protective cultures, antimicrobial metabolites and bacteriophages for food and beverage biopreservation*. Cambridge, Inglaterra: Elsevier.
- Lahlali, R., Raffaele, B., & Jijakli, M. H. (2011). UV protectants for *Candida oleophila* (strain O), a biocontrol agent of postharvest fruit diseases. *Plant Pathology*, 60(2), 288-295. doi:10.1111/j.1365-3059.2010.02368.x.
- Lahlali, R., Serrhini, M. N., & Jijakli, M. H. (2004). Efficacy assessment of *Candida oleophila* (strain O) and *Pichia anomala* (strain K) against major postharvest diseases of citrus fruits in Morocco. *Communications in Agriculture Applied Biological Sciences*, 69(4), 601-609.
- Lahlali, R., Serrhini, M. N., & Jijakli, M. H. (2005a). Development of a biological control method against postharvest diseases of citrus fruits. *Communications in Agriculture Applied Biological Sciences*, 70(3), 47-58.
- Lahlali, R., Serrhini, M. N., & Jijakli, M. H. (2005b). Studying and modelling the combined effect of temperature and water activity on the growth rate of *P. expansum*. *International Journal of Food Microbiology*, 103(3), 315-322. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.02.002.
- Lahlali, R., Serrhini, M. N., & Jijakli, M. H. (2004). Efficacy assessment of *Candida oleophila* (strain O) and *Pichia anomala* (strain K) against major postharvest diseases of

- citrus fruit in Morocco. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 69(4), 601-609.
- Larena, I., Torres, R., de Cal, A., Linan, M., Melgarejo, P., Domenichini, P., ... Usall, J. (2005). Biological control of postharvest brown rot (*Monilinia* spp.) of peaches by field applications of *Epicoccum nigrum*. *Biological Control*, 32(2), 305-310. doi:10.1016/j.biocontrol.2004.10.010.
- Lassois, L., de Bellaire, L., & Jijakli, M. H. (2008). Biological control of crown rot of bananas with *Pichia anomala* strain K and *Candida oleophila* strain O. *Biological Control*, 45(3), 410-418. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.01.013.
- Lavalard, M. (2017). *Agrauxine and Syngenta start a partnership to launch Nexy®*. Recuperado de <https://www.agrauxine.com/es/2017/05/12/agrauxine-syngenta-nexy/>.
- Lima, G., Curtis, F. D., Piedimonte, D., Spina, A. M., & De Cicco, V. (2006). Integration of biocontrol yeast and thiabendazole protects stored apples from fungicide sensitive and resistant isolates of *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Technology*, 40(3), 301-307. doi:10.1016/j.postharvbio.2006.01.017.
- Liu, J., Sui, Y., Wisniewski, M., Droby, S., & Liu, Y. (2013). Review: Utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. *International Journal of Food Microbiology*, 167(2), 153-160. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.09.004.
- Long, C. A., Deng, B. X., & Deng, X. (2006). Pilot testing of *Kloeckera apiculata* for the biological control of postharvest diseases of citrus. *Annals of Microbiology*, 56(1), 13-17. doi:10.1007/BF03174963.
- Long, C. A., Deng, B. X., & Deng, X. (2007). Commercial testing of *Kloeckera apiculata*, isolate 34-9, for biological control of postharvest diseases of citrus fruit. *Annals of Microbiology*, 57(2), 203-207. doi:10.1007/BF03175208.
- Magan, N., Medina, A., & Aldred, D. (2011). Possible climate-change effects on mycotoxin contamination of food crops pre- and postharvest. *Plant Pathology*, 60(1), 150-163. doi:10.1111/j.1365-3059.2010.02412.x.
- Mari, M., Neri, F., & Bertolini, P. (2007). Novel approaches to prevent and control postharvest diseases of fruits. *Stewart Postharvest Review*, 3(6), 4 doi:10.2212/spr.2007.6.4.
- Marquina, D., Santos, A., & Peinado, J. (2002). Biology of killer yeasts. *International Microbiology*, 5(2), 65-71. doi:10.1007/s10123-002-0066-z.
- Martins, G., Vallance, J., Mercier, A., Albertin, W., Stamatopoulos, P., Rey, P., ... Masneuf-Pomarède, I. (2014). Influence of the farming system on the epiphytic yeasts and yeast-like fungi colonizing grape berries during the ripening process. *International Journal of Food Microbiology*, 177, 21-28. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.002.
- Mason, D., & Dennis, C. (1978). *Post-harvest spoilage of Scottish raspberries in relation to pre-harvest fungicide sprays*. Londres, Reino Unido: Horticultural Research.
- Massart, S., Martinez-Medina, M., & Jijakli, M. H. (2015). Biological control in the microbiome era: Challenges and opportunities. *Biological Control*, 89, 98-108. doi:10.1016/j.biocontrol.2015.06.003.
- Mikani, A., Etebarian, H. R., Sholberg, P. L., Gorman, D. T., Stokes, S., & Alizadeh, A. (2008). Biological control of apple gray mold caused by *Botrytis mali* with *Pseudomonas fluorescens* strains. *Postharvest Biology and Technology*, 48(1), 107-112. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.09.020.
- Montesinos-Herrero, C., del Río, M.Á., Pastor, C., Brunetti, O., & Palou, L. (2009). Evaluation of brief potassium sorbate dips to control postharvest *Penicillium* decay on major citrus species and cultivars. *Postharvest Biology and Technology*, 52(1), 117-125. doi:10.1016/j.postharvbio.2008.09.012.
- Morales, H., Sanchis, V., Usall, J., Ramos, A. J., & Marín, S. (2008). Effect of biocontrol agents *Candida sake* and *Pantoea agglomerans* on *Penicillium expansum* growth and patulin accumulation in apples. *International Journal of Food Microbiology*, 122(1-2), 61-67. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.056.
- National Research Council (NRC). (1987). *Management of technology: The hidden competitive advantage*. Washington, EE. UU.: National Research Council, The National Academies Press.
- Nunes, C., Teixido, N., Usall, J., & Viñas, I. (2001). Biological control of major postharvest diseases on pear fruit with antagonistic bacteria *Pantoea agglomerans* (CPA-2). *Acta Horticulturae*, 553, 403-404. doi:10.17660/ActaHortic.2001.553.92.
- Nunes, C., Usall, J., Teixidó, N., Fons, E., & Viñas, I. (2002). Postharvest biological control by *Pantoea agglomerans* (CPA-2) on Golden Delicious apples. *Journal Applied Microbiology*, 92(2), 247-255. doi:10.1046/j.1365-2672.2002.01524.x.
- Nunes, C., Usall, J., Teixido, N., Torres, R., & Viñas, I. (2002). Control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* on apples and pears with a combination of *Candida sake* (CPA-1) and *Pantoea agglomerans*. *Journal of Food Protection*, 65(1), 178-184.
- Nunes, C., Usall, J., Manso, T., Torres, R., Olmo, M., & García, J. M. (2007). Effect of high temperature treatments on growth of *Penicillium* spp. and their development on 'Valencia' oranges. *Food Science and Technology International*, 13(1), 63-68. doi:10.1177/1082013207075601.
- Nunes, C. A. (2012). Biological control of postharvest diseases of fruit. *European Journal of Plant Pathology*, 133(1), 181-196. doi:10.1007/s10658-011-9919-7.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2015a). *Iniciativa mundial sobre la reducción de la pérdida y el desperdicio de alimentos*. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i4068s.pdf>.

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2015b). *Pérdidas y desperdicios de alimentos en América Latina y el Caribe*. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i5504s.pdf>.
- Palou, L. (2011). Control integrado no contaminante de enfermedades de poscosecha (CINCEP): nuevo paradigma para el sector español de los cítricos. *Levante Agrícola*, (406), 173-183.
- Palou, L., Smilanick, J., & Droby, S. (2008). Alternatives to conventional fungicides for the control of citrus postharvest green and blue molds. *Stewart Postharvest Review*, 4(2), 1-16.
- Park, M. H., & Kim, J. G. (2015). Low-dose UV-C irradiation reduces the microbial population and preserves antioxidant levels in peeled garlic (*Allium sativum* L.) during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 100, 109-112. doi:10.1016/j.postharvbio.2014.09.013.
- Perez, M. F., Contreras, L., Garnica, N. M., Fernández-Zenoff, M. V., Farías, M. E., Sepulveda, M., ... Dib, J. R. (2016). Native killer yeasts as biocontrol agents of postharvest fungal diseases in lemons. *PLoS ONE*, 11(10), e0165590. doi:10.1371/journal.pone.0165590.
- Prusky, D., Alkan, N., Mengiste, T., & Fluhr, R. (2013). Quiescent and necrotrophic lifestyle choice during postharvest disease development. *Annual Review of Phytopathology*, 51, 155-176. doi:10.1146/annurev-phyto-082712-102349.
- Pusey, P. L. (1989). Use of *Bacillus subtilis* and related organisms as biofungicides. *Pesticide Science*, 27(2), 133-140. doi:10.1002/ps.2780270204.
- Pusey, P. L., & Wilson, C. L. (1984). Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis*. *Plant Diseases*, 68(9), 753-756. doi:10.1094/PD-69-753.
- Qin, G. Z., & Tian, S. P. (2004). Biocontrol of postharvest diseases of jujube fruit by *Cryptococcus laurentii* combined with a low doses of fungicides under different storage conditions. *Plant Disease*, 88(5), 497-501.
- Ray, R. C., Swain, M. R., Panda, S. H., & Lata. (2011). Microbial control of postharvest diseases of fruits, vegetables, roots, and tubers. En A. Singh, N. Parmar, & R. C. Kuhad (Eds.), *Bioaugmentation, Biostimulation and Biocontrol* (pp. 311-355). Berlín, Alemania: Springer. doi:10.1007/978-3-642-19769-7_13.
- Saravanakumar, D., Spadaro, D., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2009). Detection of enzymatic activity and partial sequence of a chitinase gene in *Metschnikowia pulcherrima* strain MACH1 used as post-harvest biocontrol agent. *European Journal of Plant Pathology*, 123(2), 183-193. doi:10.1007/s10658-008-9355-5.
- Schena, L., Nigro, F., Pentimone, I., Ligorio, A., & Ippolito, A. (2003). Control of postharvest rots of sweet cherries and table grapes with endophytic isolates of *Aureobasidium pullulans*. *Postharvest Biology Technology*, 30(3), 209-220. doi:10.1016/S0925-5214(03)00111-X.
- Seethapathy, P., Gurudevan, T., Subramanian, K. S., & Kuppasamy, P. (2016). Bacterial antagonists and hexanal-induced systemic resistance of mango fruits against *Lasiodiplodia theobromae* causing stem-end rot. *Journal of Plant Interactions*, 11(1), 158-166. doi:10.1080/17429145.2016.1252068.
- Selitreffnikoff, C. P. (2001). Antifungal Proteins. *Applied Environmental Microbiology*, 67(7), 2883-2894. doi:10.1128/aem.67.7.2883-2894.2001.
- Sharma, R. R., Singh, D., & Singh, R. (2009). Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. *Biological Control*, 50(3), 205-221. doi:10.1016/j.biocontrol.2009.05.001.
- Sivakumar, D., Wilson Wijeratnam R. S., Marikar, F. M. M. T., Abeysekere M., & Wijesundera R. L. C. (2001). Antagonistic effect of *Trichoderma harzianum* on post harvest pathogens of rambutans. *Acta Horticulturae*, 553, 389-392. doi:10.17660/ActaHortic.2001.553.88.
- Sivakumar, D., Wilson Wijeratnam, R. S., Abeysekere, M., & Wijesundera R. L. C. (2002). Combined effect of generally regarded as safe (GRAS) compounds and *Trichoderma harzianum* on the control of postharvest diseases of rambutan. *Phytoparasitica*, 30(1), 43-51. doi:10.1007/BF02983969.
- Sivakumar, D., Wilson Wijeratnam, R. S., Wijesundera, R. L. C., Marikar, F. M. T., & Abeysekere, M. (2000). Antagonistic effect of *Trichoderma harzianum* on postharvest pathogens of rambutan (*Nephelium lappaceum*). *Phytoparasitica*, 28(3), 240-247. doi:10.1007/BF02981802.
- Smilanick, J. L., & Denis-Arrue, R. (1992). Control of green mold of lemons with *Pseudomonas* species. *Plant Disease*, 76(5), 481-485. doi:10.1094/PD-76-0481.
- Spadaro, D., & Droby, S. (2016). Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: The importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. *Trends in Food Science & Technology*, 47, 39-49. doi:10.1016/j.tifs.2015.11.003.
- Spadaro, D., Vola, R., Piano, S., & Gullino, M. L. (2002). Mechanisms of action and efficacy of four isolates of the yeast *Metschnikowia pulcherrima* active against postharvest pathogens on apples. *Postharvest Biology and Technology*, 24(2), 123-134. doi:10.1016/S0925-5214(01)00172-7.
- Spadaro, D., & Gullino, M. L. (2004). State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. *International Journal of Food Microbiology*, 91(2), 185-194. doi:10.1016/s0168-1605(03)00380-5.
- Spadaro, D., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2004). Control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* on apple combining a biocontrol agent with hot water dipping and acibenzolar-S-methyl, baking soda, or ethanol

- application. *Postharvest Biology and Technology*, 33(2), 141-151. doi:10.1016/j.postharvbio.2004.02.002.
- Syamaladevi, R. M., Lupien, S. L., Bhunia, K., Sablani, S. S., Dugan, F., Rasco, B., Killinger, et al. (2014). UV-C light inactivation kinetics of *Penicillium expansum* on pear surfaces: Influence on physicochemical and sensory quality during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 87, 27-32. doi:10.1016/j.postharvbio.2013.08.005.
- Takesako, K., Ikai, K., Haruna, F., Endo, M., Shimanaka, K., Sono, E., Nakamura, T., et al. (1991). Aureobasidins, new antifungal antibiotics. Taxonomy, fermentation, isolation, and properties. *The Journal of Antibiotics (Tokyo)*, 44(9), 919-924. doi:10.7164/antibiotics.44.919.
- Terao, D., De Carvalho Campos, J. S., Benato, E. A., & Hashimoto, J. M. (2015). Alternative strategy on control of postharvest diseases of mango (*Mangifera indica* L.) by use of low dose of ultraviolet-c irradiation. *Food Engineering Reviews*, 7(2), 171-175. doi:10.1007/s12393-014-9089-4.
- Tian, S., Fan, Q., Xu, Y., & Liu H. (2002). Biocontrol efficacy of antagonist yeasts to gray mold and blue mold on apples and pears in controlled atmospheres. *Plant Disease*, 86(8), 848-853. doi:10.1094/PDIS.2002.86.8.848.
- Tian, S., Qin, G., & Xu, Y. (2005). Synergistic effects of combining biocontrol agents with silicon against postharvest diseases of jujube fruit. *Journal of Food Protection*, 68(3), 544-550.
- Torres, R., Teixidó, N., Viñas, I., Mari, M., Casalini, L., Giraud, M., & Usall J. (2006). Efficacy of *Candida sake* CPA-1 formulation for controlling *Penicillium expansum* decay on pome fruit from different Mediterranean regions. *Journal of Food Protection*, 69(11), 2703-2711. doi:10.4315/0362-028X-69.11.2703.
- Tronsmo, A., & Dennis, C. (1977). The use of *Trichoderma* species to control strawberry fruit rots. *Netherlands journal of plant pathology*, 83(Supl. 1), 449. doi:10.1007/bf03041462.
- Usall, J., Teixido, N., Torres, R., Ochoa de Eribe, X., & Viñas I. (2001). Pilot tests of *Candida sake* (CPA-1) applications to control postharvest blue mold on apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 21(2), 147-156. doi:10.1016/S0925-5214(00)00131-9.
- Valencia-Chamorro, S. A., Palou, L., Del Rio, M. A., & Perez-Gago, M. B., (2011). Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables: a review. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 51(9), 872-900. doi:10.1080/10408398.2010.485705.
- Wang, X., Li, G., Jiang, D., & Huang, H. C. (2009). Screening of plant epiphytic yeasts for biocontrol of bacterial fruit blotch (*Acidovorax avenae* subsp. *citruilli*) of hami melon. *Biological Control*, 50(2), 164-171. doi:10.1016/j.biocontrol.2009.03.009.
- Weir, B. S., Johnston, P. R., & Damm, U. (2012). The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology*, 73(1), 115-180. doi:10.3114/sim0011.
- Wilson, C. L., & El-Ghaouth, A. (2002). Patent EUA 6423310. Biological coating with a protective and curative effect for the control of postharvest decay. Washington, EE. UU.: Oficina de Patentes y Marcas de EUA.
- Wilson, C. L., & Pusey, P. (1985). Potential for biological control of postharvest plant diseases. *Plant Diseases*, 69(5), 375-378. doi:10.1094/PD-69-375.
- Wilson, C. L., & Wisniewski, M. E. (1989). Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: An emerging technology. *Annual Review of Phytopathology*, 27, 425-441. doi:10.1146/annurev.py.27.090189.002233.
- Wilson, C. L., & Wisniewski, M. E. (1994). *Biological control of postharvest diseases: theory and practice*. Madison, EE. UU.: CRC PRESS.
- Wilson, C. L., Wisniewski, M. E., Droby, S., & Chalutz, E. (1993). A selection strategy for microbial antagonists to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Scientia Horticulturae*, 53(3), 183-189. doi:10.1016/0304-4238(93)90066-Y.
- Wisniewski, M., Biles, C., Droby, S., McLaughlin, R., Wilson, C., & Chalutz, E. (1991). Mode of action of

- the postharvest biocontrol yeast, *Pichia guilliermondii*. I. Characterization of attachment to *Botrytis cinerea*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 39(4), 245-258. doi:10.1016/0885-5765(91)90033-E.
- Wisniewski, M., Droby, S., Norelli, J., Liu, J., & Schena, L. (2016). Alternative management technologies for postharvest disease control: The journey from simplicity to complexity. *Postharvest Biology and Technology*, 122, 3-10. doi:10.1016/j.postharvbio.2016.05.012.
- Wisniewski, M., Wilson, C., Droby, S., Chalutz, E., El-Ghaouth, A., & Stevens, C. (2007). Postharvest biocontrol: new concepts and applications. En C. Vincent, M. S. Goettel, & L. George (Eds.), *Biological control: a global perspective: case studies from around the world* (p. 262-273). Boca Ratón, EE. UU.: CAB International.
- Wisniewski, M., Wilson, C., & Hershberger, W., (1989). Characterization of inhibition of *Rhizopus stolonifer* germination and growth by *Enterobacter cloacae*. *Canadian Journal of Botany*, 67(8), 2317-2323. doi:10.1139/b89-296.
- Wu, F., & Khlangwiset, P. (2010). Health economic impacts and cost-effectiveness of aflatoxin-reduction strategies in Africa: case studies in biocontrol and post-harvest interventions. *Food additives and contaminants Part A*, 27(4), 496-509. doi:10.1080/19440040903437865.
- Yang, D. M., Bi, Y., Chen, X. R., Ge, Y. H., & Zhao, J. (2006). Biological control of postharvest diseases with *Bacillus subtilis* (B1 strain) on muskmelons (*Cucumis melo* L. cv. Yindi). *Acta Horticulturae*, 712, 735-740. doi:10.17660/ActaHortic.2006.712.94.
- Yao, H. J., & Tian, S. P. (2005). Effects of a biocontrol agent and methyl jasmonate on postharvest diseases of peach fruit and the possible mechanisms involved. *Journal of Applied Microbiology*, 98(4), 941-950. doi:10.1111/j.1365-2672.2004.02531.x.
- Zhang, H., Zheng, X., Fu, C., & Xi, Y. (2003). Biological control of blue mold rot of pear by *Cryptococcus laurentii*. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 78(6), 888-893. doi:10.1080/14620316.2003.11511714.
- Zhang, H., Zheng, X., Fu, C., & Xi, Y. (2005). Postharvest biological control of gray mold rot of pear with *Cryptococcus laurentii*. *Postharvest Biology and Technology*, 35(1), 79-86. doi:10.1016/j.postharvbio.2004.03.011.
- Zhang, H., Wang, L., Dong, Y., Jiang, S., Cao, J., & Meng, R. (2007). Postharvest biological control of gray mold decay of strawberry with *Rhodotorula glutinis*. *Biological Control*, 40(2), 287-292. doi:10.1016/j.biocontrol.2006.10.008.
- Zhang, H., Zheng, X., Wang, L., Li, S., & Liu, R. (2007). Effect of antagonist in combination with hot water dips on postharvest *Rhizopus* rot of strawberries. *Journal of Food Engineering*, 78(1), 281-287. doi:10.1016/j.jfoodeng.2005.09.027.
- Zhang, H., Zheng, X., & Yu, T. (2007). Biological control of postharvest diseases of peach with *Cryptococcus laurentii*. *Food Control*, 18(4), 287-291. doi:10.1016/j.foodcont.2005.10.007.
- Zhang H, Ma, L., Wang, L., Jiang, S., Dong, Y., & Zheng X. (2008) Biocontrol of gray mold decay in peach fruit by integration of antagonistic yeast with salicylic acid and their effects on postharvest quality parameters. *Biological Control*, 47(1), 60-65. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.06.012.
- Zhang, H., Wang, L., Ma, L., Dong, Y., Jiang, S., Xu, B., & Zheng, X. (2009). Biocontrol of major postharvest pathogens on apple using *Rhodotorula glutinis* and its effects on postharvest quality parameters. *Biological Control*, 48(1), 79-83. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.09.004.
- Zhao, Y., Shao, X. F., Tu, K., & Chen, J. K. (2007). Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* B10 on the diseases of postharvest strawberry. *International Journal of Fruit Science*, 24(3), 339-343.
- Zhou, T., Northover, J., & Schneider, K. E. (1999). Biological control of postharvest diseases of peach with phyllosphere isolates of *Pseudomonas syringae*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 21(4), 375-381. doi:10.1080/07060669909501174.