

# Búsqueda de alternativas sustentables para el control podredumbres emergentes de la postcosecha de pera

Lutz M. Cecilia<sup>1</sup>, Sosa M. Cristina<sup>1</sup> y Colodner A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Fitopatología, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Comahue. Km 11,5 Ruta 151, Cinco Saltos, Río Negro.<sup>2</sup> Departamento Postcosecha, INTA Estación Experimental Alto Valle, Km 1190 Ruta Nacional 22, Allen, Río Negro.

## RESUMEN

Nuevas estrategias para el control de *Alternaria-Cladosporium*, principales patógenos postcosecha de los cultivares de pera Bosc, fueron evaluadas. Bellis® y la combinación Cyprodinil con Fludioxonil (fungicidas de bajo riesgo para la salud y el ambiente), fueron evaluados heridas en condiciones de laboratorio, mientras que en condiciones semicomerciales: a) en línea de empaque con posterior conservación frigorífica (4 meses, -1/0°C-95%HR) y b) aplicaciones precosecha (30 días previos) de Bellis® y Myclobutanil, con conservación en cámara frigorífica luego de cosecha.

En heridas inoculadas en laboratorio, ambos fungicidas redujeron la incidencia de *Alternaria sp.* al 50%, mientras que la de *C. herbarum* a más del 85%. Aplicados en línea de empaque, mostraron alta eficacia en la disminución de *Alternaria* (91-98%) y *Cladosporium* (98-95%) en fruta inoculada y conservada -1/0°C durante 4 meses. En el control de la incidencia natural, Bellis® y la combinación Cyprodinil con Fludioxonil, redujeron significativamente las enfermedades ocasionadas por *Alternaria-Cladosporium*, *B. cinerea* y *P. expansum*; Bellis® se destaca por la mayor reducción de incidencia de *Alternaria-Cladosporium*.

Los tratamientos precosecha presentaron diferencias significativas en la incidencia natural e inducida (en heridas artificiales) de las enfermedades postcosecha luego del almacenamiento. Bellis® fue el único tratamiento que redujo significativamente la incidencia natural de *Alternaria-Cladosporium* (44,6%).

**PALABRAS CLAVES:** *Alternaria – Cladosporium*; Bellis®; Cyprodinil con Fludioxonil; Myclobutanil; aplicaciones pre y postcosecha.

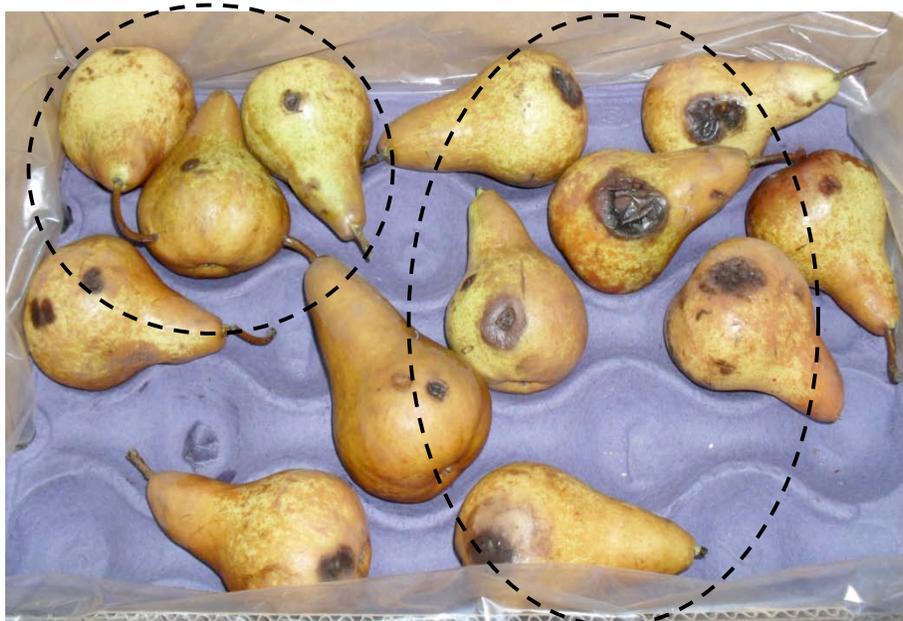
## INTRODUCCIÓN

En los valles irrigados del norte de la Patagonia, en las provincias de Río Negro y Neuquén, se concentra la mayor producción de peras de la Argentina. A nivel mundial, la región ocupa un el primer lugar en el sector exportador de este “commodities”, con aproximadamente medio millón de toneladas (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca - Secretaria de Fruticultura, 2013). Los cultivares predominantes son “William’s”, “Packham’s Triumph” y “Beurre D’Anjou”. Los cultivares de pera Bosc, “Beurrè Bosc” y “Golden Russet Bosc”, ocupan el sexto lugar en la superficie productiva del Alto Valle de Río Negro y Neuquén y se destinan en su totalidad al mercado exportador (Senasa 2011).

La producción media de estos cultivares ronda entre los 35 - 40 tn/ha, lo cual se traduce regionalmente en unos 30.000.000 millones de Kg. En los empaques regionales se estima que de la producción total, el 80% es fruta en condiciones de embalaje. En general, se utilizan envases de 18,2 Kg., lo que resulta en unas 1.318.682 cajas. En los últimos años, durante el almacenamiento comercial, y particularmente en su etapa final de conservación, las podredumbres ocasionadas por *Alternaria* y *Cladosporium*, se han ido incrementando, y se han identificado a estos patógenos como los agentes responsables de importantes pérdidas en la postcosecha de los cultivares “Beurre Bosc” y “Golden Russet Bosc” (Lutz *et al.*, 2011) (Figura 1). De acuerdo a los empresarios locales, las pérdidas en estas variedades por estos patógenos pueden superar el 50% de los bultos terminados. Esto se traduce en pérdidas económicas, que regionalmente se estima por temporada en unos u\$ 19.000.000.

Las infecciones de *Alternaria* y *Cladosporium* se producen a través de heridas, microaberturas naturales o por daños superficiales de los frutos (Bondoux 1994; Jones 2002; Dobra *et al.*, 2008; Lutz *et al.*, 2011). *Alternaria* puede infectar a los frutos antes o después de la recolección; sin embargo, los frutos inoculados hasta 7 semanas antes de la cosecha no muestran síntomas de podredumbre en el árbol, pero sí durante 2 meses de conservación a 0°C (Jones and Aldwinkle, 2002).

En todas las regiones del mundo, el enfoque tradicional del control de podredumbres de peras ha sido la aplicación de fungicidas en la planta de empaque (Kupferman 1998; Sugar 2002), muy efectivos contra patógenos como *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum* (Dobra *et al.*, 2007); sin embargo, existen numerosos reportes de las mejoras logradas en el control de podredumbres con aplicaciones a campo de cloruro de calcio, del fungicida ziram y de agentes de biocontrol (Sugar *et al.*, 2003).



**Figura 1.** Peras Beurre Bosc con 5 meses de almacenamiento comercial con podredumbres de *C. herbarum* (grupo izquierda) y *Alternaria sp.* (Grupo de la derecha)

Se ha demostrado que dentro del grupo de los benzimidazoles, el benomyl es un fungicida selectivo para *Cladosporium* (Sugar y Power, 1986) y que el thiabendazol, ampliamente usado en la región presenta serios problemas de resistencia en *Penicillium expansum* y *Botrytis cinerea*, además de ser inefectivo frente a *Alternaria* sp. (Jones and Aldwinkle, 1990; Robiglio *et al.*, 2011).

Boscalid, Pyraclostrobin, Fludioxonil y Cyprodinil son nuevos principios activos de bajo riesgo para la salud y el ambiente que se están evaluando en los últimos años para su utilización en el control de estos patógenos de postcosecha en fruta de pepita, uva de mesa, arándanos y frutilla (Everet *et al.*, 2007; Serey *et al.*, 2007; Sallato *et al.*, 2007; Sugar, 2011). Entre ellos, el fludioxonil inhibió a *Alternaria* sp. aislado desde lesiones de peras (Sugar, no publicado).

Combinaciones de estos principios se encuentran en formulados comerciales, que actualmente están disponibles para ser utilizados sobre distintos cultivos.

La mezcla de Pyraclostrobin y Boscalid (Bellis®, BASF) se indica para el control de enfermedades de campo en frambuesa y frutales de pepita, ya que reduce las podredumbres de postcosecha producidas por *Gloeosporium*, *Alternaria*, *Botrytis* y *Penicillium* en peras y manzanas (Sugar 2011; Basf 2012; Xiao and Boal 2009). Pristine®, es una formulación de pyraclostrobin y boscalid, y fue registrado en los Estados Unidos en 2005 para su uso precosecha en frutos de pomáceas (Xiao and Boal 2009). El pyraclostrobin pertenece a la clase QoI de los fungicidas, y el Boscalid es un nuevo principio activo de amplio espectro, que pertenece a la clase carboxamide.

En Argentina, de comprobarse la eficacia de estos nuevos fungicidas sobre *Alternaria* sp. y *Cladosporium* sp. en peras, se podría establecer una estrategia a implementar para el control de estos patógenos de importancia creciente en los cultivares de pera Bosc.

En este sentido, en un estudio previo se evaluó “*in vitro*” el efecto de Bellis® y la combinación de Cyprodinil con Fludioxonil sobre la germinación de conidios y el crecimiento micelial de *Alternaria* y *Cladosporium*. Bellis® inhibió el crecimiento micelial de *Alternaria* sp. hasta un 96% a 100 ppm y no presentó diferencias en la inhibición de germinación de conidios entre 10 ppm y 100 ppm (97% y 100%, respectivamente) (Lutz *et al.*, 2012). La combinación de Cyprodinil con Fludioxonil, a las 10ppm inhibió el 100% de crecimiento micelial y el 97% de germinación de conidios de *Alternaria* sp. (Lutz *et al.*, 2012). Bellis®, desde 1ppm de concentración inhibió el 100% de crecimiento micelial mientras que a 0,1 ppm inhibió el 98% de la germinación de conidios de *C. herbarum*, Cyprodinil y Fludioxonil, en ningún caso alcanzó el 100% de inhibición de crecimiento micelial ni de germinación de conidios; y presentó una EC<sub>50</sub> más alta en relación al Bellis®. Así, Bellis® fue más eficaz en el control de *C. herbarum*; mientras que la combinación de Cyprodinil con Fludioxonil, lo fue para *Alternaria* sp. (Lutz *et al.*, 2012).

Aplicaciones previas a la cosecha de los fungicidas benomyl (Ben-Arie and Guelfat-Reich, 1973), cyprodinil (Sholberg *et al.*, 2003), pyraclostrobin con boscalid (Xiao and Boal, 2009), y ziram (Sugar *et al.*, 2003; Xiao and Boal, 2009) han demostrado ser beneficiosas al reducir la incidencia de podredumbres postcosecha causadas por varios hongos en fruta de pepita. La aplicación precosecha de este tipo de fungicidas, protegería las heridas y los tejidos circundantes de la fruta, luego de producirse la cosecha, por la acción directa

sobre los patógenos presentes en la superficie de los frutos, o por su acción por la penetración en la cutícula y tejidos subcuticulares (Sugar and Basile 2011).

En la situación de postcosecha, los fungicidas se aplican a menudo para controlar las infecciones de patógenos que se establecen en los tejidos superficiales del producto o para proteger contra infecciones que se pueden producir en el almacenamiento y la manipulación. En el caso de infecciones a campo quiescentes presentes al momento de cosecha, los fungicidas deben ser capaces de penetrar en el sitio de infección para ser efectivos. Los fungicidas sistémicos generalmente se usan con este propósito, aunque no está bien documentado cómo penetran profundamente.

Teniendo en cuenta los antecedentes bibliográficos y dada la creciente importancia de las podredumbres causadas por *Alternaria* sp. y *Cladosporium* en peras de conservación mediana y larga, surge la necesidad de contar con una estrategia eficiente de control de estos patógenos.

## **OBJETIVOS**

- Evaluar el potencial de los fungicidas Bellis® (Pyraclostrobin 12,8% w/w y Boscalid 25,2% w/w) y la combinación de Cyprodinil con fludioxonil como alternativas a los fungicidas tradicionales e inefectivos para el control de podredumbres postcosecha ocasionadas por *Alternaria* sp. y *Cladosporium herbarum* en los cultivares de pera Bosc, a escala de laboratorio y semicomercial.
- Evaluar el potencial de los fungicidas Bellis® (Pyraclostrobin 12,8% w/w y Boscalid 25,2% w/w), Myclobutanil, y la combinación de ambos, en aplicaciones a campo en precosecha, como una nueva estrategia de manejo pre y postcosecha, en el control de las podredumbres postcosecha de peras cultivar Bosc, ocasionadas por *Alternaria* sp. y *Cladosporium herbarum*, a escala semicomercial campo.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **1. Material vegetal**

Los ensayos a escala laboratorio y semicomercial se desarrollaron en frutos del cultivar Beurré Bosc y Golden Russet Bosc, cosechados con madurez fisiológica y conservados en cámara frigorífica (-1/0°C - 95% HR) hasta el momento de su uso. La firmeza promedio de la fruta fue de 11,42 lb y los sólidos solubles de 16,1%. A campo, se realizaron aplicaciones en un monte comercial de Golden Russet Bosc sobre pie franco, de producción convencional.

### **2. Patógenos, condiciones de cultivo y preparación de inóculo**

Los aislamientos de *Alternaria* sp. 1083 y *Cladosporium herbarum* 1084 de la colección de cultivos del Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Comahue, provenientes de podredumbres de pera Golden Russet Bosc y seleccionados por su alta virulencia fueron utilizados en los ensayos. Los

aislamientos se conservaron en glicerol al 20% a -20°C hasta el momento de su utilización.

Para la producción de inóculo, de los cultivos conservados se transfirieron alícuotas a placas de Petri con agar papa dextrosa (APD) o agar extracto de malta (AEM), para *Alternaria* y *Cladosporium*, respectivamente y se incubaron a 22°±2°C por 7 - 10 días. *Alternaria sp.* se cultivó con alternancia de periodos de luz y oscuridad de 12 horas; mientras que *C. herbarum* se incubó 10 días en oscuridad.

Suspensiones de conidios fueron preparadas en agua destilada estéril, con ajuste en cámara de Neubauer a 1x10<sup>6</sup> conidios/mL.

### 3. Fungicidas

#### 3.1 Escala laboratorio y semicomercial

Los ingredientes activos utilizados en ensayos postcosecha a escala de laboratorio y semicomercial: Pyraclostrobin combinado con Boscalid y Cyprodinil con Fludioxonil (Tabla 1).

#### 3.2 Escala campo

Los ingredientes activos utilizados a campo, fueron Pyraclostrobin combinado con Boscalid, y Myclobutanil (Tabla 1).

**Tabla 1.** Principios activos, tipo de formulación y grupo químico de cada uno de los fungicidas utilizados.

Ingredientes activos	Formulación	Familia <sup>1</sup>
Pyraclostrobin 12,8% w/w + Boscalid 25,2% w/w	Granulos dispersables	Estrobidulina + Carboximida
Cyprodinil 37,5 w/w + Fludioxonil 25% w/w	Granulos dispersables	Anilinopirimida + Fenilpirrol
Fludioxonil 20,4% w/w	Suspensión concentrada	Fenilpirrol
Myclobutanil 40% w/w	Polvo mojable	Triazol

<sup>1</sup>Modo de acción en el proceso de biosíntesis del hongo. Anilinopirimidas: inhiben la síntesis de metionina y la secreción de enzimas hidrolíticas. Carboximida: inhibe la succinato deshidrogenasa en el proceso de respiración. Estrobidulina: Actúa en el sitio de unión quinónico en el complejo de citocromo bcl y la quinona, en la membrana mitocondrial. Fenilpirrol: inhibe la síntesis de histidin quinasa. Triazoles: Inhibidores de la síntesis de ergosterol.

### 4. Evaluación de la eficacia de los fungicidas aplicados en postcosecha

La eficacia preventiva de las formulaciones comerciales de Bellis® y de la combinación de Cyprodinil con Fludioxonil, en frutos del cultivar Golden Russet Bosc, fue evaluada en aplicaciones postcosecha, a escala de laboratorio y semicomercial.

#### 4.1 Ensayos a escala laboratorio

Frutos sanos, heridos artificialmente fueron tratados por inmersión con cada fungicida y posteriormente inoculados con una suspensión ajustada de cada patógeno. Las concentraciones evaluadas fueron 0, 1, 10 y 100 ppm.

Los frutos fueron lavados con agua y detergente, enjuagados, secados a temperatura ambiente y luego desinfectados superficialmente con alcohol 70% (v/v). Se realizaron 3 heridas (de 3 mm de diámetro y 3 de profundidad) por fruto en la región ecuatorial y posteriormente fueron sumergidos durante 1 minuto en las soluciones de cada concentración de fungicida. Los frutos, fueron secados al aire y las heridas inoculadas con discos de micelio (de 3 mm) de cada hongo, e incubados en bolsas de polietileno a 22±2°C. A los 7-10 días, se evaluó la incidencia y severidad de las podredumbres generadas. La incidencia de cada enfermedad, fue determinada de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\% \text{ Incidencia} = 100 \times \frac{\sum \text{frutos con podredumbre}}{\sum \text{frutos evaluados}} - \frac{\sum \text{frutos con podredumbre}}{\sum \text{frutos evaluados}} \times 100$$

El porcentaje de reducción de la podredumbre se determinó como:

$$\% \text{ Reducción podredumbre} = 100 \times \frac{\text{frutos control} - \text{frutos con podredumbre}}{\text{frutos control}}$$

Diez frutos por cada concentración, con tres replicas fueron utilizados.

#### 4.2 Ensayos a escala semicomercial

Los experimentos a esta escala, se desarrollaron en línea experimental de procesamiento de fruta (Figura 2), con la aplicación de los fungicidas por pulverización. Para este ensayo se utilizaron frutos del cultivar Golden Russet Bosc sin tratamientos de fungicidas postcosecha que estuvieron almacenados en cajones de 20 Kg durante dos meses en cámara frigorífica.



**Figura 2.** Línea experimental de procesamiento de fruta. a. Sector de ingreso, lavado y secado de la fruta. b. Sector de aplicación de fungicidas.

Los fungicidas Bellis® y la combinación de Cyprodinil con Fludioxonil, fueron preparados en 50 L de agua, y asperjados a través de 3 conductos (espaciados cada 20 cm), con 3 boquillas de pulverización cada uno. Bellis® fue aplicado a una concentración de 0,6 gr/L,

mientras que la combinación de Cyprodinil con Fludioxonil 1 gr/L. Las concentraciones evaluadas corresponden a los valores medios de las recomendaciones comerciales de cada producto, en analogía al hospedero<sup>1</sup> y patógeno. La fruta luego de tratada fue conservada en las condiciones de almacenamiento comercial (-1°/0° C - 95% HR) por 4 meses.

#### **4.2.1 Efecto sobre fruta herida e inoculada**

Frutos sanos, fueron heridos artificialmente (3 mm de diámetro x 3 de profundidad) en la zona ecuatorial, ingresados a la línea de procesamiento y pulverizados con la solución de fungicida o agua (Testigo). Luego de la pulverización, los frutos fueron secados al aire e inoculados con 10 µL de una suspensión ajustada de  $1 \times 10^6$  conidios/mL de cada patógeno. La fruta tratada e inoculada fue embalada en cajas de cartón con bolsas de polietileno y almacenada en cámara frigorífica durante 4 meses. Veinte frutos, con tres replicas, fueron utilizados. La incidencia y severidad de cada una de las enfermedades y tratamiento, fue determinada utilizando la misma metodología detallada anteriormente.

#### **4.2.2 Efecto en la incidencia natural de las enfermedades**

Frutos sanos sin daños visibles y sin heridas artificiales fueron tratados utilizando la misma metodología descrita en el ítem anterior. La pulverización de la fruta con agua fue utilizada como testigo. La fruta tratada fue embalada en bolsas de polietileno, en cajas de cartón y almacenada en la cámara frigorífica. Cuarenta frutos, con tres replicas, fueron utilizados para cada tratamiento. Después de 4 meses de almacenamiento se evaluó el tipo e incidencia de cada podredumbre. Cuando las podredumbres resultaban dudosas, los frutos afectados se llevaron a laboratorio para realizar los aislamientos e identificación correspondiente.

### **5. Evaluación de la eficacia de aplicaciones precosecha sobre el control de las enfermedades postcosecha**

Los experimentos a campo se desarrollaron durante la temporada 2012 - 2013, en una plantación de pera del cultivar Golden Russett Bosc sobre pie franco, ubicada en el Valle Medio del Río Negro. La plantación de 9 años, presenta conducción en espaldera de 3,85 m x 2 m y manejo convencional en el control de adversidades bióticas. Las condiciones climáticas que se presentaron entre el momento de aplicación y la cosecha se muestran en el Figura 3.

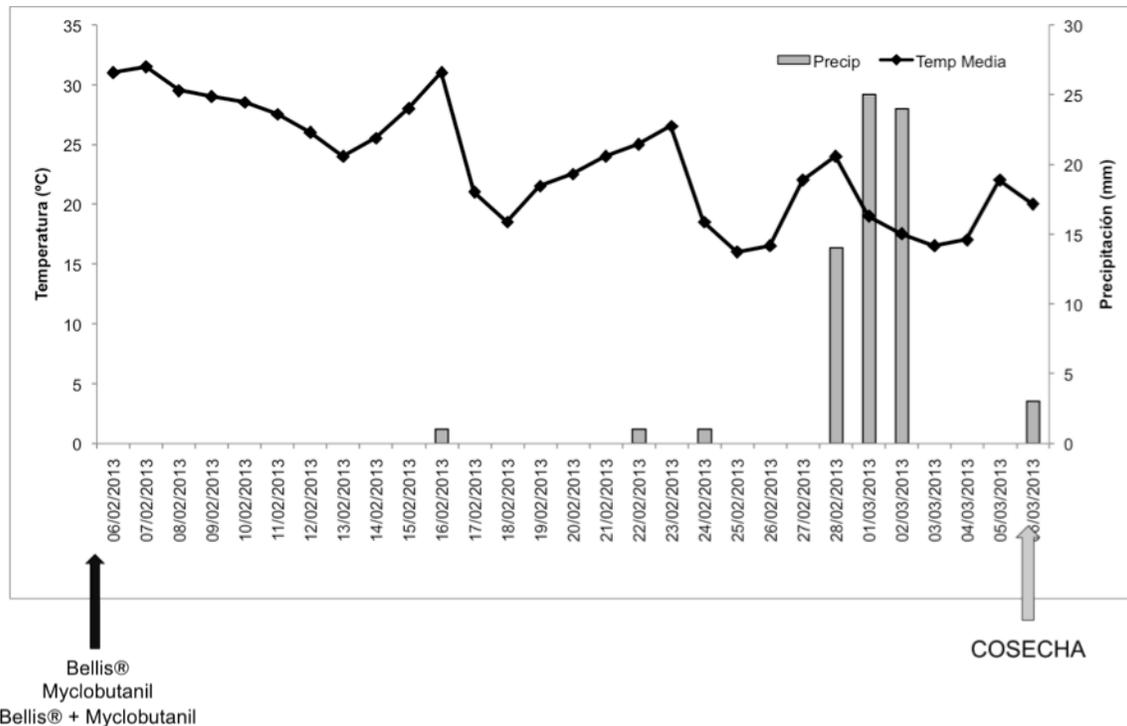
Las aplicaciones se realizaron con pulverizadora (Pazima de 2300 L), 30 días previos a la cosecha, respetando los tiempos de carencia de los fungicidas. Cada tratamiento se aplicó a 7 hileras de 53 plantas cada una. Los tratamientos fueron:

1. Testigo. Aplicación de agua sin fungicidas

---

<sup>1</sup> Ninguno de los fungicidas evaluados tiene registro para el uso en frutales de pepita, ni para tratamientos postcosecha en argentina.

2. Bellis®. Dosis de aplicación 36 gr/100L.
3. Myclobutanil. Dosis de aplicación 15 gr/100 L.
4. Bellis® combinado con Myclobutanil.



**Figura 3.** Temperaturas media (línea llena) y precipitaciones registradas (barras grises) durante el periodo comprendido entre las aplicaciones de los fungicidas, cosecha programada y cosecha efectiva.

La fruta con madurez fisiológica correspondiente a las 5 filas centrales de cada uno de los tratamientos, se cosechó de forma manual y almacenó en cámara frigorífica (-1/0°C - 95% HR) en cajones de cosecha de entre 360 y 420 kg., o cajas de cartón, para su posterior evaluación.

### 5.1 Incidencia natural de las enfermedades postcosecha

La incidencia natural de las enfermedades de la fruta contenida en los cajones de cosecha, se valuó a los 60 días de almacenamiento en frío. En aquellos frutos, en los que las podredumbres resultaban de etiología dudosa, se realizaron los aislamientos para la determinación del patógeno.

### 5.2 Incidencia de las enfermedades postcosecha en heridas artificiales

Frutos inmediatamente luego de cosechados, sin ser lavados ni desinfectados, fueron heridos artificialmente. La incidencia de podredumbres causadas por los patógenos presentes en la microflora natural de la superficie de la fruta fue evaluada. Las heridas

realizaron con elemento punzante de 3 mm x 3 mm, esterilizado con alcohol 70%. Se realizaron 5 heridas por fruto, con 20 frutos por cada tratamiento. Los frutos heridos fueron colocados en bandejas, y éstas en cajas de cartón con bolsas de polietileno. Las cajas fueron almacenadas en cámara de frío comercial (-1/0°C). La incidencia natural de las enfermedades en las heridas realizadas fue evaluada a los 60 días de almacenamiento.

Al igual que lo planteado anteriormente, cuando la identidad de los agentes causales por su sintomatología fue dudosa o incierta, los frutos fueron llevados al laboratorio para su aislamiento e identificación.

## **6. Análisis estadístico**

La severidad, fue determinada como diámetro de lesión en mm. A los resultados obtenidos se les aplicó el análisis de varianza one-way (ANOVA) y el Test de Tukey para comparar las medias. La normalidad de los datos y la homocedasticidad de las varianzas se evaluaron por los test de Lilliefors y Bartlett respectivamente. La incidencia de cada enfermedad fue expresada como porcentaje de heridas infectadas, con respecto al total; los resultados fueron analizados utilizando el modelo lineal general (GLM) del Sistema de Análisis Estadístico (INFOSTAT, versión 9.1. 2004).

## **RESULTADOS**

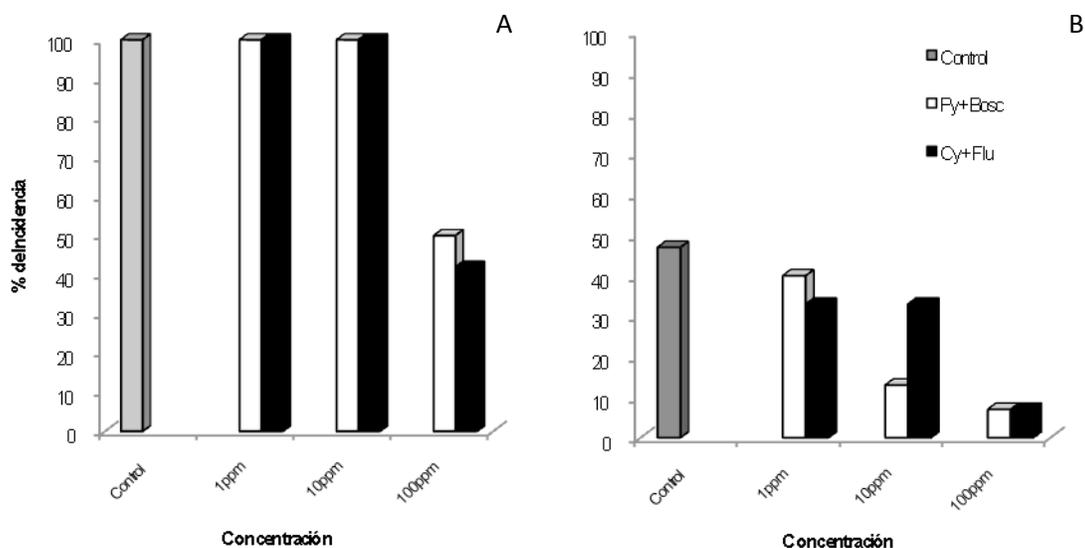
A través de ensayos en frutos, a escala de laboratorio, semicomercial y a campo, se evaluó la eficacia preventiva de los fungicidas con distintas estrategias de manejo (pre – postcosecha), sobre las principales enfermedades post - cosecha del cultivo de pera Golden Russet Bosc.

### **1. Evaluación de la eficacia de los fungicidas aplicados en postcosecha**

#### **1.1 Ensayos a escala laboratorio**

La eficacia preventiva fue evaluada en frutos heridos los cuales fueron inmersos en la solución de cada fungicida, y posteriormente inoculados con *Alternaria sp.* y *C. herbarum*. Los resultados muestran que el comportamiento varió considerablemente de acuerdo al fungicida y al agente patógeno (Figura 2).

Bellis® a los 7 días de incubación de los frutos a 22<sup>o</sup>± 2°C, redujo la incidencia de *Alternaria sp.* en un 50% y la severidad como diámetro de podredumbre en un 49%, con 100 ppm. Para *C. herbarum*, la incidencia a los 10 días, mostró diferencias significativas con respecto al testigo (0 ppm) y 1 ppm. Los tratamientos con 10 y 100 ppm, redujeron la incidencia de la enfermedad en un 72 y 85% respectivamente. La severidad a las tres concentraciones evaluadas, no mostró diferencias significativas (Tabla 2). La inhibición obtenida para *C. herbarum*, coincide con lo reportado por otros autores en evaluaciones de pre y post infecciones (Serey *et al.*, 2007).



**Figura 3.** Incidencia de *Alternaria sp.* (A) y *Cladosporium herbarum* (B) en frutos de pera “Golden Russet Bosc” a los 7 y 10 días a 22°±2°C, tratados con las distintas concentraciones de fungicidas.

Tanto Bellis® como Cyprodinil combinado con Fludioxonil, a 100 ppm lograron reducir la incidencia de *Alternaria sp.* al 50% (Figura 3), mientras que la incidencia de *C. herbarum* (Figura 2), se redujo en más de un 85%. En todas las concentraciones evaluadas de las dos combinaciones de principios activos, se observaron diferencias significativas en la severidad de las podredumbres con respecto al testigo (Tabla 2).

**Tabla 2.** Severidad (diámetro en mm) de las podredumbres en fruta tratada con Bellis® y Cyprodinil con Fludioxonil.

Patógeno	Principios activos*	Control	1 ppm	10 ppm	100 ppm
<i>Alternaria sp.</i> <sup>1</sup>	Py + Bosc	35,41d	29,92bc	24,00ab	18,00a
	Cy + Flu	35,41c	32,17c	23,42b	3,80a
<i>C. herbarum</i> <sup>2</sup>	Py + Bosc	19,29b	7,00a	7,00a	7,00a
	Cy + Flu	19,29c	11,00b	2,00a	2,00a

<sup>1</sup> Evaluado a los 7 días a 22°±2°C. <sup>2</sup> Evaluado a los 10 días a 22°±2°C \* Py + Bosc: Pyraclostrobin con Boscalid. Cy + Flu: Cyprodinil con Fludioxonil. Los diámetros medios seguidos por letras iguales dentro de una fila, no presentan diferencias significativas de acuerdo a Test de Tukey (p = 0,05).

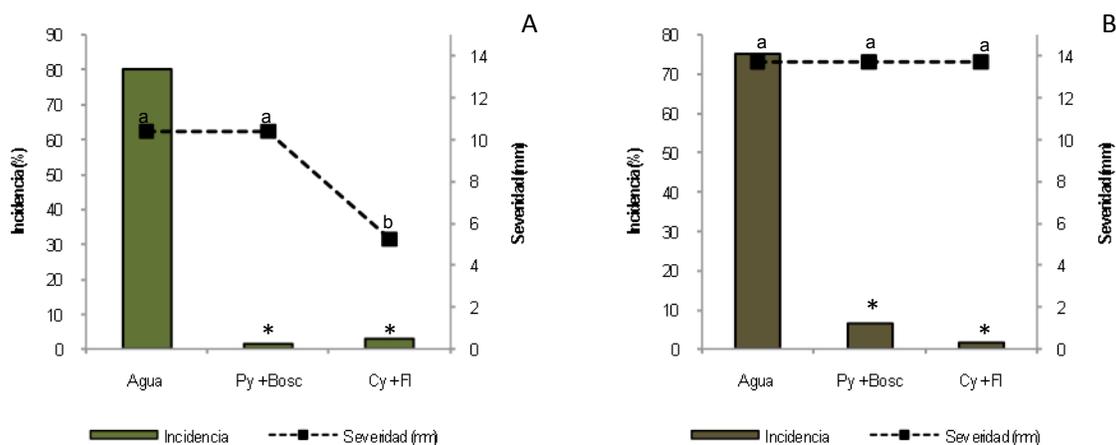
## 1.2 Ensayos a escala semicomercial

### 1.2.1 Efecto de los fungicidas sobre fruta herida e inoculada

La eficacia preventiva de Bellis® (utilizado a 0,6 gr/L) y la combinación de Cyprodinil con Fludioxonil (1 gr/L), fue evaluada en condiciones semicomerciales, con aplicación por

pulverización en la línea, posterior inoculación con cada patógeno a evaluar, y almacenamiento de la fruta en cámara frigorífica durante 4 meses. La incidencia y la severidad de cada patógeno se muestran en la Figura 4.

Los dos fungicidas redujeron significativamente la incidencia de las enfermedades ocasionadas por ambos patógenos en relación al testigo (agua), a las dosis en las cuales se evaluaron, mostrando un efecto protector en las heridas inoculadas. Bellis®, con respecto al testigo, redujo la incidencia de *C. herbarum* en más de un 98%, mientras que la de *Alternaria sp.*, en un 91% (Figura 4A y 4B); la combinación de Cyprodinil con fludioxonil, lo hizo en un 95% y 98%, respectivamente (Figura 4A y 4B).



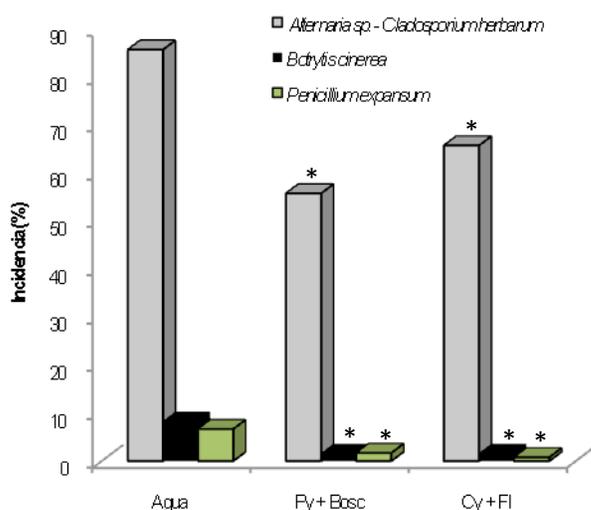
**Figura 4.** Incidencia (%) y severidad (mm) de *C. herbarum* (A) y *Alternaria sp.* (B) en fruta herida artificialmente, tratada en línea semicomercial con los fungicidas, inoculada y conservada 4 meses en cámara frigorífica (-1°/0° C - 95% HR).

Estos resultados muestran una notoria reducción en la incidencia y severidad de las dos enfermedades, demostrando una eficacia alta y significativa de ambas combinaciones de principios activos. Si se comparan estos resultados con los obtenidos a escala laboratorio, probablemente sean mejores debido a las condiciones de incubación (temperatura y humedad relativa) y dosis utilizadas. Es sabido que la conservación a bajas temperaturas es una de las principales herramientas para reducir el deterioro postcosecha, ya que disminuye la actividad de las enzimas que degradan los componentes celulares y de los microorganismos responsables del deterioro de la fruta; conjuntamente con el parámetro humedad relativa, preservan la calidad de la fruta. En lo que respecta a las dosis utilizadas en esta evaluación a escala semicomercial, debemos destacar que ninguno de los dos productos presenta recomendaciones para aplicaciones en postcosecha en la Argentina y las dosis seleccionadas en este trabajo fueron por analogía de cultivos y patógenos a controlar; es así, que las dosis intermedias evaluadas, resultaron efectivas. Sin embargo, en este mismo sentido, para establecer las dosis a utilizar, mayores estudios serían necesarios para este uso particular, realizando las consideraciones necesarias por la posible generación de resistencia de los patógenos, fundamentalmente para *Alternaria*. Con respecto a este último, Avenot *et al.*, (2008) reporta para los principios activos pyraclostrobin y boscalid, y para la formulación Pristine® (BASF, Estados

Unidos) una alta frecuencia de resistencia en aislamientos de *Alternaria alternata* en pistacho.

### 1.2.2 Eficacia de control en la incidencia natural de podredumbres postcosecha

La eficacia de las aplicaciones de fungicidas en postcosecha sobre la incidencia natural de las enfermedades en peras cv Golden Russet Bosc (sin herir), fue evaluada luego de 4 meses de almacenamiento comercial. Las podredumbres predominantes en el tratamiento testigo (agua) fueron las ocasionadas por el complejo *Alternaria - Cladosporium*, con una incidencia del 85%, seguidas en importancia por *B. cinerea* con el 8,5% y finalmente la ocasionadas por *P. expansum* con 6,7% (Figura 5). Estos resultados, si bien corresponden a una escala reducida (n=120 frutos), indican la importancia de las podredumbres generadas por *Alternaria sp.* y *Cladosporium herbarum*. Tanto Bellis® como la combinación de Cyprodinil con Fludioxonil redujeron todas las podredumbres en el mismo nivel, con una leve superioridad de Bellis® sobre *Alternaria-Cladosporium* (35%) (Figura 5). Para las podredumbres originadas por *B. cinerea* y *P. expansum*, ya existen reportes en manzana (Errampalli *et al.*, 2006; Sholberg *et al.*, 2005), nectarines (Adaskaveg *et al.*, 2010) y frutillas (Sallato *et al.*, 2007) sobre la efectividad postcosecha de los principios activos (usados individualmente) y las combinaciones de los mismos.



**Figura 5.** Incidencia (%) natural de podredumbres postcosecha en fruta tratada y conservada 4 meses en cámara frigorífica (-1°C - 95% HR).

La incidencia de natural de *Alternaria - Cladosporium* sin la aplicación de los fungicidas (testigo), fue de la misma magnitud a la obtenida en el experimento anterior, en el cual los frutos fueron inoculados. Esta situación, podría ser explicada por la presencia de infecciones latentes que se producen durante el periodo de crecimiento del fruto (Li *et al.*, 2007; Prusky *et al.*, 1981; Prusky *et al.*, 1983). Como patógeno de postcosecha, se ha descrito que *Alternaria spp.* tiene mecanismos de infección complejos, y produce la infección de la frutas en diferentes períodos (Li *et al.*, 2007), por ejemplo: *A. alternata* infecta frutos de caqui en la etapa de desarrollo inicial (Prusky *et al.*, 1981), mientras que en frutos de mango aparece 2 semanas después de la caída de pétalos (Prusky *et al.*, 1983). El momento de la infección y las condiciones ambientales en las que se produjeron, afectarían la efectividad postcosecha de los fungicidas evaluados.

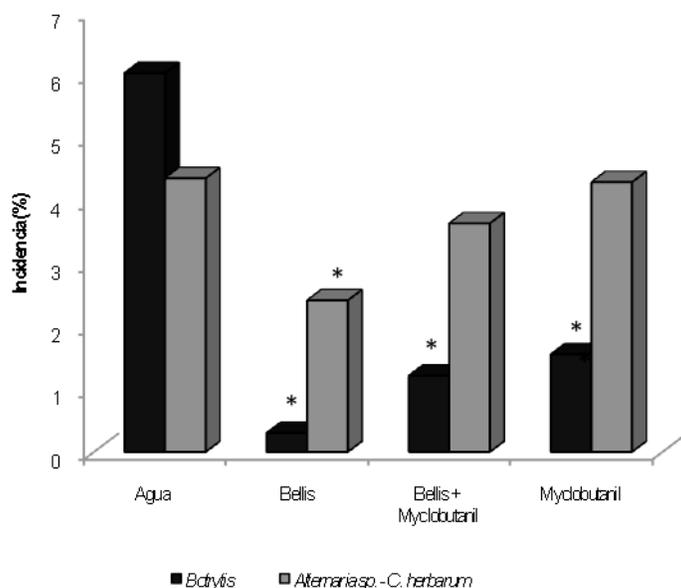
Considerando estos aspectos, y en relación a la efectividad de los principios activos evaluados, la aplicación en precosecha de estos fungicidas sistémicos protegería de las infecciones latentes y de las que se producen en el momento de cosecha.

## 2. Efecto de las aplicaciones precosecha sobre la incidencia de las enfermedades postcosecha

Aplicaciones a campo 30 días antes de cosecha, se realizaron con Bellis®, Myclobutanil y la combinación de ambos, con el objetivo de determinar el efecto de dichos fungicidas sobre las enfermedades postcosecha del cultivar Golden Russet Bosc, fundamentalmente las ocasionadas por el complejo *Alternaria - Cladosporium*.

### 2.1 Efecto en la incidencia natural de las podredumbres postcosecha

La incidencia natural de las enfermedades en fruta sin herir, para cada uno de los tratamientos evaluados, se muestra en la Figura 6. La determinación de la incidencia se estableció después de 2 meses de almacenamiento frigorífico, donde la fruta se encontraba en cajones de cosecha de entre 360 y 420 Kg. Las enfermedades encontradas fueron las originadas por *B. cinerea* (6,04%) y por el complejo *Alternaria - Cladosporium* (4,36%).



**Figura 6.** Efecto de los tratamientos a campo en la Incidencia (%) natural de las podredumbres postcosecha en pera Golden Russet Bosc en cajones de cosecha luego de 2 meses de almacenamiento frigorífico.

Bellis® fue el único tratamiento que tuvo diferencias significativas con respecto al tratamiento con agua en la incidencia de *Alternaria - Cladosporium*. Este fungicida redujo la incidencia en 44,6%, mientras que la aplicación de Myclobutanil 1,4%, y la combinación 16,5%. La baja eficacia de los tratamientos precosecha frente a estos dos patógenos en relación a la reducción de incidencia por *Botrytis cinerea*, podría estar relacionada con que el desarrollo micelial y la penetración en el tejido, haya sido mayor a la capacidad de

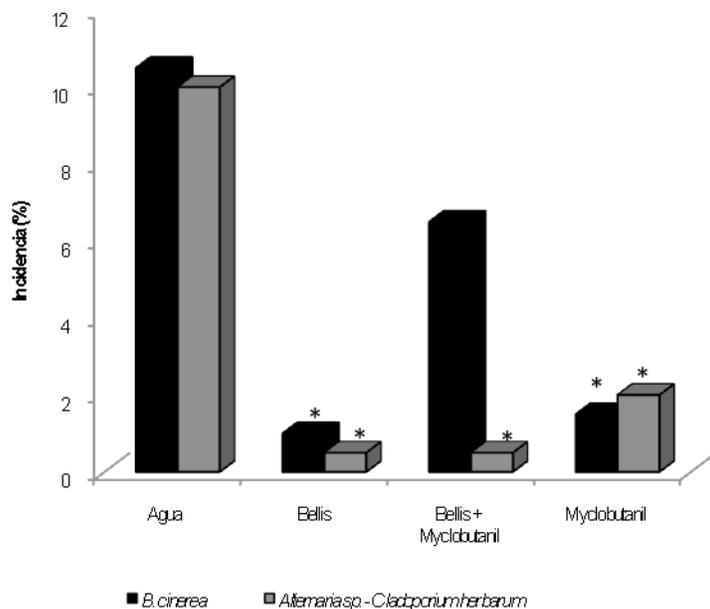
inhibición de los fungicidas utilizados en este estudio (Sugar y Basile 2011). Sería oportuno evaluar diferentes momentos de aplicación de los fungicidas, para establecer el momento óptimo para el control de estos patógenos.

Bellis®, Myclobutanil y la combinación de ambos, redujeron significativamente la incidencia de *B. cinerea* en un 95%, 74% y 80%, con respecto al testigo solo tratado con agua. De los tres tratamientos, Bellis® es el que alcanzó la mayor reducción de este patógeno; estos resultados, coinciden con los obtenidos aplicando Pristine® (BASF, Estados Unidos) en peras Bosc dos semanas antes de cosecha (Kim *et al.*, 2010; Xiao *et al.*, 2009), para el control postcosecha de este patógeno.

## 2.2 Eficacia en el control de las podredumbres en heridas artificiales

La incidencia natural de las enfermedades en frutas heridas al momento de la cosecha y almacenada en cámara frigorífica durante 2 meses, se presenta en la Figura 7.

Cuando la fruta fue herida, en presencia de inoculo natural las aplicaciones precosecha redujeron significativamente las podredumbres postcosecha con respecto al tratamiento control, Bellis® 92,7% y Myclobutanil 83%. Al igual que en el experimento anterior, pero con mayor incidencia, las podredumbres encontradas fueron las ocasionadas por *B. cinerea* y por *Alternaria - Cladosporium*. Estos resultados indican la colonización de las heridas por estos patógenos a partir de la microflora natural presente sobre la superficie de la fruta en el momento de cosecha.



**Figura 7.** Efecto de los tratamientos a campo en la incidencia (%) de las podredumbres postcosecha de peras Golden Russet Bosc. Los frutos fueron artificialmente heridos en la cosecha y almacenados por dos meses en cámara frigorífica.

Los resultados de las aplicaciones precosecha muestran un efecto protector de las heridas producidas en el momento de cosecha, evitando el desarrollo de las infecciones ocasionadas por estos patógenos. Bellis® y Myclobutanil, si bien no presentan diferencias significativas entre sí sobre el control de los dos tipos de podredumbres, al igual que en el

experimento anterior, se observa un mejor efecto con Bellis®. La combinación (Bellis® con Myclobutanil) sobre las podredumbres generadas por *Alternaria - Cladosporium*, presenta los mismos resultados que Bellis® utilizado de manera individual, mientras que en el control de *B. cinerea*, se produciría un efecto antagónico de los compuestos, reduciendo la eficacia del control.

## CONCLUSIONES

En este trabajo se evalúan fungicidas con nuevos principios activos considerados de bajo impacto para el ambiente y la salud, sobre el control de las principales podredumbres postcosecha por *Alternaria* y *Cladosporium* de las peras Bosc. Los resultados obtenidos a escala semicomercial fueron promisorios no solo para el control de estos patógenos, sino también para *B. cinerea*.

Teniendo en cuenta la epidemiología de las podredumbres, se plantea por primera vez en la región la aplicación de tratamientos antifúngicos precosecha, como estrategia para reducir la incidencia de las enfermedades en postcosecha.

Si bien son necesarios más estudios a campo, para evaluar el momento más oportuno de aplicación, e incorporar otros cultivares de pera con problemática similar, los resultados de efectividad obtenidos en los tratamientos propuestos, son importantes ya que de ellos se vislumbra una estrategia de manejo fácilmente adoptable por tratarse de una tecnología amigable para el sector productivo.

De repetirse los resultados con Bellis® en futuros ensayos a escala, será necesario contar con el registro de uso pre y postcosecha para el control de estas enfermedades en el cultivo de pera.

El uso de Bellis® ya sea en línea de empaque o a campo, podría estar incluido en los programas de manejo integrado de plagas, con rotaciones adecuadas de principios activos para evitar el desarrollo de resistencia de los patógenos.

## BIBLIOGRAFIA

- Adaskaveg J. E., Förster H., Gubler W. D., Teviotdale B. L. and Thompson D. F. 2010. Reduced-risk fungicides help manage brown rot and other fungal diseases of stone fruit. *California Agriculture* 59 (2): 109 - 114
- Avenot H., Morgan D. P. and Michailides T. J. 2008. Resistance to pyraclostrobin, boscalid and multiple resistance to Pristine® (pyraclostrobin + boscalid) fungicide in *Alternaria alternata* causing *alternaria* late blight of pistachios in California. *Plant Pathology* 57: 135 - 140
- Basf Technical Company. 2012. Product Manual Ireland 2012
- Ben-Arie R. and Guelfat-Reich S., 1973. Preharvest and postharvest applications of benzimidazoles for control of storage decay of pears. *HortScience* 8: 181 - 183
- Bondoux P. 1994. Enfermedades de conservación de frutos de pepita, peras y manzanas. Ed Mundi-Prensa. Madrid España.
- Dobra A., Rossini M., Sosa C. y Barnes N. 2007 Enfermedades de Postcosecha de las frutas de pepita. En: Sozzi, G.O. (ed.) Árboles frutales: Ecofisiología, Cultivo y

- Aprovechamiento. 1ª ed. Buenos Aires. Ed. Fac. Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Pags. 587-615. ISBN 950-29-0974-7. CDD 635.977
- Dobra A., Sosa M.C. and Dussi M.C. 2008. Low Incidence of Fungal and Bacterial Diseases in the Pear Production of North Patagonia, Argentina. Proceedings of the Tenth International. Pear Symposium. Acta Horticulturae N° 800. Ed: Webster-Oliveira ISHS. ISBN: 978 90 6605 611 4 ISSN 0567-7572. 907 - 912
- Errampalli D., Brubacher N. R. and De Eil J. R. 2006. Sensitivity of *Penicillium expansum* to diphenylamine and thiabendazole and postharvest control of blue mold with fludioxonil in 'McIntosh' apples. Postharv. Biol. Technol. 39: 101 - 107. [ethylenecontrol.com/technical/uc406.htm](http://ethylenecontrol.com/technical/uc406.htm)
- Everett K. R. and Timudo Torrevilla O. E. 2007. "In vitro" fungicide testing for control of avocado fruit rots. New Zealand Plant Protection 60: 99 - 103. <http://www.agricenter.bsf.ie>
- Jones A. L. and Aldwinckle H. S. 2002. Plagas y enfermedades del manzano y del peral. The american Phytopathological Society. Ed. Mundi - Prensa. Madrid
- Kim, Y. K., and Xiao, C. L. 2010. Resistance to pyraclostrobin and boscalid in populations of *Botrytis cinerea* from stored apples in Washington State. Plant Disease 94: 604 - 612.
- Kupferman E. A. 1998. Postharvest applied chemicals to pears: A survey of pear packers in Washington, Oregon, and California. Tree Fruit Postharvest J. 9: 3 - 24.
- Li Y. C., Bi Y. and An L. Z. 2007. Occurrence and Latent Infection of *Alternaria* Rot of Pinguoli Pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd. cv. Pinguoli) Fruits in Gansu, China. J. Phytopathology 155: 56 - 60.
- Lutz C., Dobra A. y Sosa C. 2011. Determinación de la etiología de la podredumbre de postcosecha en peras de las variedades "Beurre bosc" y "Golden Russet Bosc". Informe Técnico, 6p. Universidad Nacional del Comahue (no publicado).
- Lutz M.C., Sosa M.C. y Dobra A. 2012 Estudio de la eficacia del fungicida Bellis® en el control de *Cladosporium herbarum* y *Alternaria sp.* patógenos emergentes de poscosecha en pera Top Ciencia 2012 - Basf
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca – Secretaría de Fruticultura, 2013. Propuestas para una Fruticultura Sustentable. Disponible online: <http://riocoloradonoticias.com.ar/wp-content/uploads/2013/03/Documento-FRUTICULTURA-4.02.13-Consolidado.pdf>
- Prusky D., Ben-Arie R. and Guelfat-Reich S. 1981. Etiology and histology of *Alternaria* rot of persimmon fruits. Phytopathology 71: 1124 - 1128
- Prusky D., Fuchs Y. and Yanko U. 1983. Assessment of latent infections as a basis for the control of postharvest disease of mango. Plant Disease 67: 816 - 817
- Robiglio A., Sosa M.C., Lutz M.C., Lopes C.A. and Sangorrín M.P. 2011. Yeast Biocontrol of Fungal Spoilage of Pears Stored at Low Temperature. International Journal of Food Microbiology 147: 211 - 216

- Sallato B. V., Torres R., Zoffoli J.P and Latorre B.A. 2007. Effect of boscalid on postharvest decay of strawberry caused by *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer*. Spanish Journal of Agricultural Research 5 (1): 67 - 78
- Senasa, Centro Regional Patagonia Norte. 2011. Disponible online: <http://www.senasa.gob.ar/seccion.php?in=11>
- Serey R. A., Torres R. and Latorre B.A. 2007. Pre and post-infection activity of new fungicides against *Botrytis cinerea* and other fungi causing decay of table grapes. Ciencia e Investigación Agraria 34 (3): 215 - 224.
- Sholberg P. L., Bedford K., and Stokes S. 2005. Sensitivity of *Penicillium* spp. and *Botrytis cinerea* to pyrimethanil and its control of blue and grey mold of stored apples. Crop Prot. 24: 127 - 134.
- Sholberg, P. L., Bedford, K. E., and Stokes, S. 2003. Effect of preharvest application of cyprodinil on postharvest decay of apples caused by *Botrytis cinerea*. Plant Disease 87: 1067 -1071.
- Sugar D. 2002. Management of postharvest diseases. Chapter 9 in: Fruit Quality and its Biological Basis. M. Knee, ed. Sheffield Academic Press, Sheffield, UK.
- Sugar D. 2011. Advances in Postharvest Management of Pears. Acta Hort. (ISHS) 909:673-678 [http://www.actahort.org/books/909/909\\_82.htm](http://www.actahort.org/books/909/909_82.htm)
- Sugar D. and Basille R. 2011. Orchard calcium and fungicide treatments mitigate effects of delayed postharvest fungicide applications for control of postharvest decay of pear fruit. Postharvest Biology and Technology 60: 52 - 56
- Sugar D. and Powers K. 1986. Interactions among fungi causing postharvest decay of pear. Plant Disease 70: 1132 - 1134
- Sugar D., Benbow J. M., Powers K. A. and Basile S. R. 2003. Effects of sequential calcium chloride, ziram, and yeast orchard sprays on postharvest decay of pear. Plant Disease 87: 1260 - 1262.
- Xiao C. L. and Boal R. J. 2009. Preharvest application of a boscalid and pyraclostrobin mixture to control postharvest gray mold and blue mold in apples. Plant Disease 93: 185 - 189.