



FACULTAD DE  
CIENCIAS  
AGRARIAS

El Boletín Electrónico de la Facultad de Ciencias Agrarias (FCA), Universidad Nacional del Comahue (UNCO), es una publicación electrónica que se edita periódicamente y se distribuye por correo electrónico a los suscriptores.

<http://sites.google.com/site/boletinfaunco/>

Para suscribirse al boletín debe enviar un correo electrónico especificando nombre y apellido, organización y casilla de correo en la que desea recibir la publicación a: [inscripcionesboletinfa@gmail.com](mailto:inscripcionesboletinfa@gmail.com)

Las noticias y artículos técnicos contenidos en cada número son responsabilidad de sus autores y no reflejan necesariamente la opinión de la editorial. Pueden ser reproducidos mencionando autor, fecha, volumen y número del Boletín.

**Coordinación General:** Secretaría de Extensión Universitaria de la FCA, Adriana Bünzli. **Comité Editorial:** María Cristina Aruani, Norma Barnes, Sergio Behmer, Juan Carlos Forquera, Pablo D. Reeb, Andrés Venturino.

Facultad de Ciencias  
Agrarias, UNCO Ruta 151,  
km 12,5. (8303)  
Cinco Saltos, Río Negro,  
Patagonia, Argentina.  
Tel: +54-299-4980124.  
Fax: +54-299-4982200

# LEVADURAS NATIVAS: POTENCIALES BIOCONTROLADORAS DE PODREDUMBRES POSTCOSECHA EN PERA

Andrea Robiglio<sup>2</sup>, M. Cristina Sosa<sup>1,3</sup>, M. Cecilia Lutz<sup>1,2,3</sup>, Christian A. Lopes<sup>2,3</sup> y  
Marcela P. Sangorrín<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>-Laboratorio de Fitopatología, Facultad de Ciencias Agrarias, <sup>2</sup>- Laboratorio de Microbiología y Biotecnología, Facultad de Ingeniería, <sup>3</sup>- Instituto Multidisciplinario de Investigación y Desarrollo de la Patagonia Norte (IDEPA, CONICET-UNComahue) \*sangorrinmarcela@conicet.gov.ar

## INTRODUCCIÓN

En Argentina, así como en otros países del mundo, el control de las enfermedades en postcosecha se ha basado en la utilización de fungicidas de síntesis; sin embargo, en la actualidad, existen pocos principios activos eficientes y con registro en el país para su uso. En este sentido, el control biológico se plantea como una alternativa promisorio y factible de ser incorporada en el sistema de producción orgánica e integrada.

En la búsqueda de microorganismos capaces de controlar a los patógenos, se han seleccionado levaduras como Agentes de Control Biológico (ACB) de las enfermedades de poscosecha en citrus, frutos de pepita y frutillas. Sin embargo, sólo unos pocos ACB se formularon comercialmente, como ASPIRE (*Candida oleophila* I-182USA), YIELD PLUS (*Cryptococcus albidus*, Sud África), SHEMER (*Metschnikowia fructicola* Israel), BONIPROPECT (*Aureobasidium pullulans*, Alemania) y CANDIFRUIT (*Candida sake*, España). Estos productos carecen de registro en Argentina.

El ambiente confinado y las condiciones ambientales controladas en la cámara frigorífica durante la poscosecha favorecen el éxito de la aplicación de microorganismos con capacidad de biocontrol. Esta aplicación puede hacerse directamente sobre la fruta en la línea de empaque como sprays o por inmersión. De esta manera se protege la superficie completa del fruto, con sus posibles heridas; estas últimas constituyen la principal vía de ingreso de los patógenos.

Los ACBs aislados de frutos de las áreas geográficas donde deberán actuar presentan mejor adaptación y capacidad de biocontrol

(antagonismo) que los ACBs de otros orígenes y se consideran más adecuados para el desarrollo de programas de control de patógenos de postcosecha en frío (Pimienta, 2009). Por lo tanto en este trabajo se planteó como objetivo:

- **Comparar la actividad antagonica de levaduras seleccionadas nativas de pera y de vino del Alto Valle de Río Negro y Neuquén con la levadura comercial *Cryptococcus albidus* (YIELDPLUS) frente a los principales patógenos de pera en poscosecha.**

### PRIMER ENSAYO DE BIOCONTROL EN FRUTOS DE PERAS

Se evaluó el biocontrol de 9 levaduras para cada patógeno en heridas de frutos de pera var. Packham's Triumph y Beurre D'anjou, de un empaque con manejo de transición (período de paso de un sistema de producción convencional con uso de productos químicos de síntesis-) a un sistema de producción orgánico.

➡ Las levaduras empleadas en el bioensayo fueron:

- \* 6 especies nativas de pera que crecieron en frío *in vitro* y produjeron toxinas *killer*,
- \* 4 especies nativas de vino (de colección del Laboratorio NPCC), productoras *killer*.
- \* 1 cepa comercial de *Cryptococcus albidus* (YIELDPLUS, Anchor Yeast, Sud Africa).

➡ Los patógenos empleados en el bioensayo fueron: *Penicillium expansum* AP13 y *Botrytis cinerea* AB2 seleccionados por su virulencia y resistencia a fungicidas (Vol. 2: 6).



Para la evaluación se inoculó cada herida en el fruto con la levadura ( $1 \times 10^6$  cel/ml) y luego de 1 hora con el patógeno *P. expansum* AP13 ( $1 \times 10^2$  conidios/ml) o *B. cinerea* AB2 ( $1 \times 10^4$  conidios/ml). La fruta se colocó en bandejas de cartón envueltas en bolsas de polietileno y en las condiciones ambientales de conservación ( $-1/0^\circ\text{C}$  y 95%HR). Se inocularon 3 frutos por tratamiento con 3 repeticiones.

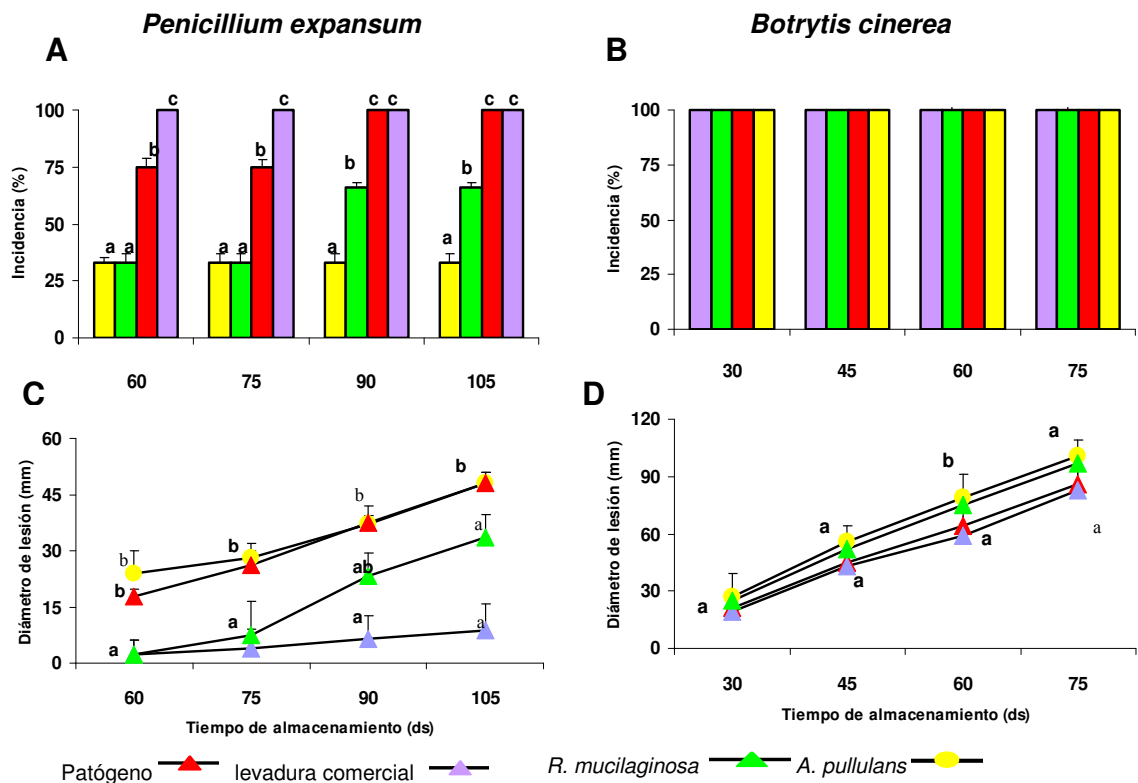
La capacidad biocontroladora de cada levadura se evaluó a los 30 y 60 días hasta final de la conservación de la fruta, a través de la **incidencia (% de heridas enfermas/total inoculadas)** y la **severidad (diámetro de podredumbre)**. En base a la podredumbre se calculó el **porcentaje de inhibición de podredumbre (PI)**.

- Las levaduras controlaron la incidencia y severidad de ambos patógenos en diferentes porcentajes (Tabla 1).

**Tabla 1. Efecto de los tratamientos biológicos sobre las podredumbres.**

Fuente del antagonista	Aislamiento de Levadura	<i>P. expansum</i> (60 días)			<i>B. cinerea</i> (30 días)		
		Incidencia	Severidad (cm)	P.I. %	Incidencia	Severidad (cm)	P.I. %
Superficie de Peras	<i>Aureobasidium pullulans</i>	33	3 ± 5	88	100	21 ± 4	0
	<i>Cryptococcus albidus</i>	100	22 ± 2	8	100	28 ± 1	0
	<i>Cryptococcus difluens</i>	100	9 ± 3	66	100	27 ± 2	18
	<i>Pichia membranifaciens</i>	100	19 ± 1	20	100	22 ± 0,5	11
	<i>Pichia philogaea</i>	100	15 ± 4	38	100	24 ± .5	30
	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	33	3 ± 5	88	100	19 ± 4	18
Nativas de Vino	<i>Hanseniaspora uvarum</i> NPCC1096	100	11 ± 0,8	55	100	22 ± 3	18
	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> NPCC 1123	100	15 ± 0,4	38	100	22 ± 2	19
	<i>Torulaspota delbrueckii</i> NPCC 1049	100	15 ± 1	38	100	32 ± 3	0
	<i>Wickerhamomyces.anomala</i> NPCC 1024	100	8 ± 0,7	66	100	24 ± 1	11
Comercial	<i>Cryptococcus albidus</i>	100	17 ± 0,2	30	100	24 ± 2	11
Control sin levaduras		100	24 ± 0,6	-	100	27 ± 0,2	-

- Las heridas que sólo se inocularon con el patógeno presentaron enfermedad, mientras que las que fueron inoculadas sólo con levaduras no presentaron síntomas de podredumbre.
- Los antagonistas más efectivos contra *P. expansum* fueron aislados de superficie de peras.
- A. pullulans* y *R. mucilaginosa* redujeron la incidencia a un 33% y presentaron un alto porcentaje de reducción de podredumbre (88%) después de 60 días.
- Las levaduras de colección y la comercial, no bajaron la incidencia de *P. expansum*, pero mostraron 50% y 30% de reducción de podredumbre respectivamente.
- Ninguna levadura redujo la incidencia de *B. cinerea* en las condiciones ensayadas.
- A. pullulans* fue la única levadura que mantuvo la incidencia de *P. expansum* en 33% hasta los 105 días.

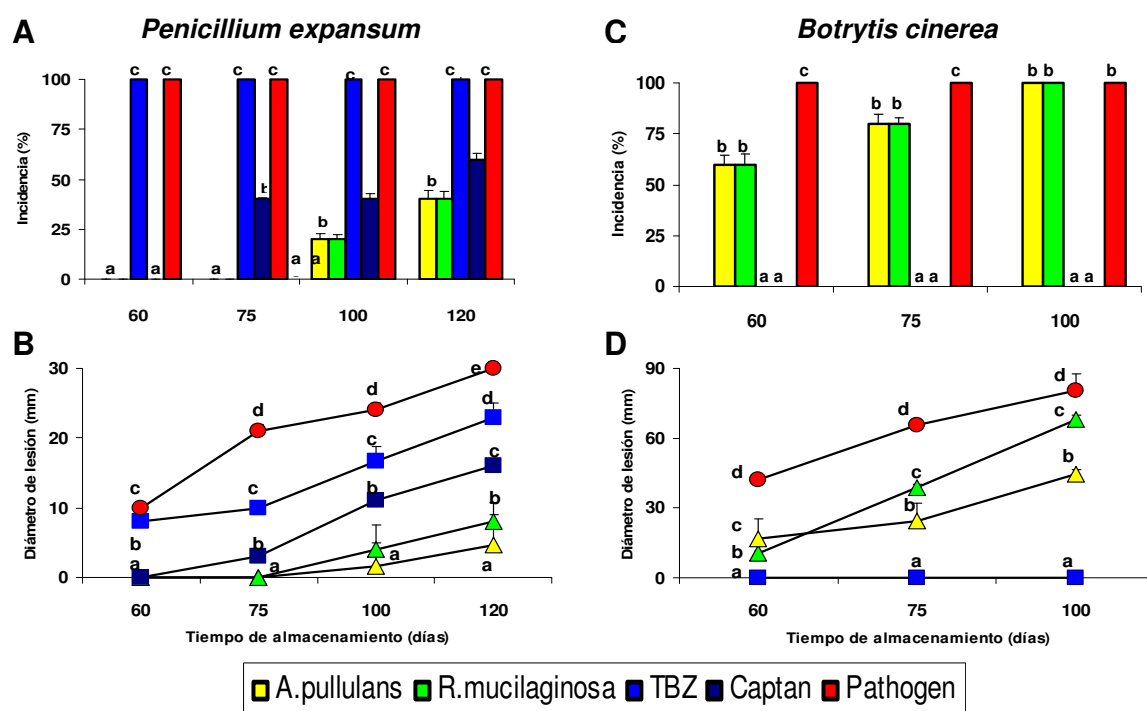


**Figura 1:** Incidencia y diámetro de lesión de *P. expansum* (A y B) y *B. cinerea* (C y D) sobre frutos de pera inoculados y almacenados a  $-1/0^{\circ}\text{C}$  a lo largo del ensayo. Las barras representan el desvío estándar. Las distintas letras en un mismo tiempo son significativamente diferentes  $p=0.05$  (Fisher).

- Las levaduras más efectivas como antagonistas de *P. expansum* fueron las aisladas de superficie de peras de la región en conservación ( $-1/0^{\circ}\text{C}$ ).
- *A. pullulans* y *R. mucilaginosa* controlaron la incidencia a un 33% y lograron el mayor porcentaje de reducción de podredumbre (88%) después de 60 días de incubación.
- *A. pullulans* fue la levadura que mejor inhibió a *P. expansum* a lo largo del tiempo.

## SEGUNDO ENSAYO DE BIOCONTROL EN FRUTOS DE PERAS

Las dos levaduras nativas *A. pullulans* y *R. mucilaginosa* seleccionadas en el primer bioensayo fueron re-evaluadas y comparadas con dos fungicidas de uso en la postcosecha de pera: captan y tiabendazol (Figura 2)



**Figura 2.** Incidencia y diámetro de lesión de *P. expansum* (A y B) y *B. cinerea* (C y D) sobre frutos de pera inoculados y almacenados a  $-1/0^{\circ}\text{C}$ . Valores con la misma letra en un mismo tiempo no son significativamente diferentes  $p=0.05$  (Fisher).

- Los niveles de protección alcanzados en el segundo bioensayo con las levaduras epífitas seleccionadas fueron superiores a los del primer bioensayo.
- *A. pullulans* y *R. mucilaginosa* controlaron completamente la podredumbre por *P. expansum* hasta los 75 días. A los 120 días, la incidencia fue de 40% con las dos levaduras.
- *A. pullulans* mostró mejor antagonismo que *R. mucilaginosa* frente a *B. cinerea* (Fig. 2 D).
- La incidencia de *P. expansum* fue completa cuando se ensayó el fungicida TBZ.
- Captan controló la incidencia de *P. expansum* al 40% a los 75 días, después de 120 días la incidencia llegó al 60% con este fungicida (Fig. 2.A).
- La podredumbre por *B. cinerea* después de 120 días fue controlada completamente por los fungicidas.

**A partir de este primer estudio regional podemos concluir que existen dos levaduras nativas epífitas de peras, *A. pullulans* y *R. mucilaginosa*, que pudieron controlar mejor que la levadura comercial *Cr. albidus* a los patógenos en los ensayos de biocontrol *in vivo*. Estas cepas podrían estar mejor adaptadas al ambiente o al sustrato, por lo cual resultan interesantes como futuras herramientas para biocontrol.**

**Futuras investigaciones permitirán afianzar los datos obtenidos en busca de un antagonista regional para el empleo en control biológico de enfermedades de poscosecha en fruta de pepita**

**Bibliografía:** PIMENTA R., MORAIS P., ROSA C., CORRÊA A. 2009. Utilization of Yeasts in Biological Control Programs. In: Satyanarayana T., Kunze G. (eds.), Yeast Biotech., Diversity and Applications, Sprin. Sc. USALL, J.; TEIXIDÓ N., ABADIAS M., TORRES R., CAÑAMAS T., VIÑAS I. 2010. Improving Formulation of Biocontrol Agents Manipulating Production Process in: Prusky, D. and Gullino, M.L. (eds), Posth. Path., Plant Path. Vol 2 (11): 149-169. WISNIEWSKI M., WILSON C., DROBY S., CHALUTZ E., EL-GHAOUTH A., STEVENS C. 2007. Postharvest Biocontrol: New Concepts and Applications. In: C. Vincent, M.S. Goettel and G. Lazarovits (eds), A Global Perspective, Biol. Cont.: 273pp.