

Geotrichum spp. y Rhizopus spp., enfermedades emergentes en fruta de hueso. ¿Qué sabemos de ellas?

Carla Casals, Pilar Plaza, Laura Vilanova, María Sisquella, Rosario Torres, Neus Teixidó. IRTA, Programa Postcollita, Edifici Fruitcentre, Parc Científic i Tecnològic Agroalimentari de Lleida (PCiTAL)

Un nuevo escenario ha aparecido en la postcosecha de fruta de hueso en algunas zonas productoras de Lleida y Extremadura. *Geotrichum* spp. y *Rhizopus* spp., patógenos considerados minoritarios hasta hace unos años, han incrementado su presencia debido a distintos factores. Por un lado, las altas temperaturas debidas al cambio climático, y por el otro lado, la elevada eficacia de las estrategias de control de *Monilinia* spp., que han eliminado su principal competidor, han propiciado su expansión en la zona. Por ello, el grupo de Patología y el Servicio Técnico, ambos del Programa de Postcosecha del IRTA, han iniciado recientemente dos proyectos de investigación para conocer en profundidad la epidemiología y ecofisiología de ambas enfermedades. El conocimiento de estas enfermedades nos permitirá diseñar las estrategias de control más eficaces para reducir la incidencia de estas enfermedades, tanto en campo como en postcosecha.

Introducción

Durante los últimos años, se han dedicado muchos recursos a estudiar la epidemiología de la podredumbre parda, causada por *Monilinia* spp., y a evaluar las estrategias de control y/o las prácticas culturales que minimicen el riesgo de infección. De hecho, hay numerosos formulados químicos registrados para su aplicación en precosecha, con elevada eficacia frente *Monilinia* spp, y dos materias activas autorizadas de uso en postcosecha (fludioxonil y pirimetanil), para controlar y evitar la proliferación de este patógeno en la etapa final de comercialización. Sin embargo, en los últimos 5-6 años, las podredumbres causadas por *Rhizopus* spp. y *Geotrichum candidum*, hasta entonces testimonial, ha irrumpido con fuerza en determinadas zonas de producción de fruta de hueso.



Para el caso de *G. candidum*, en los controles de recepción realizados en empresas frutícolas de la zona del Valle del Ebro (en el Sur de Lleida), en los cuales se incuban muestras de fruta de diferentes partidas a su llegada a la central, se han registrado incidencias que varían entre el 1 y el 4 %, cuando antes del 2016 esta enfermedad prácticamente ni se registraba por su baja incidencia. De hecho, en algún caso concreto y en años en que las condiciones climáticas han sido muy favorables para este patógeno, la podredumbre ácida ha llegado a tener una afectación en postcosecha similar a la causada por *Monilinia* spp., que suele presentar una afectación sostenida a lo largo de los años, en este mismo tipo de controles. También en otras zonas productoras como California¹ y Pakistán² se ha reportado un aumento en la incidencia de esta enfermedad en la última década.

En relación con *Rhizopus* spp., a lo largo de las publicaciones que existen a nivel internacional, se clasifica como uno de los principales patógenos que afectan en postcosecha de fruta de hueso, junto a *Monilinia* spp., o en segundo lugar³⁻⁶. Taheri y col. (2018)⁷ indicaron que se trata de una enfermedad impredecible y que puede ocasionar importantes pérdidas, implicando a envíos de partidas de fruta enteras. En nuestras condiciones, en la zona productora de Lleida, se observa claramente que la presencia de frutos afectados por *Rhizopus* spp. tiene tendencia a incrementarse pasando de valores del 1,6 % en el 2015 a 5,5 % en el 2020 (Figura 1). En la Figura 1, también se puede observar como la presencia de frutos afectados por *Monilinia* spp. está relativamente establecida, oscilando entre el 1 % y el 8,5 %, siendo en años más secos la incidencia inferior y en años con condiciones climatológicas favorables, mayor.

INCIDENCIA DE PATÓGENOS EN POSTCOSECHA

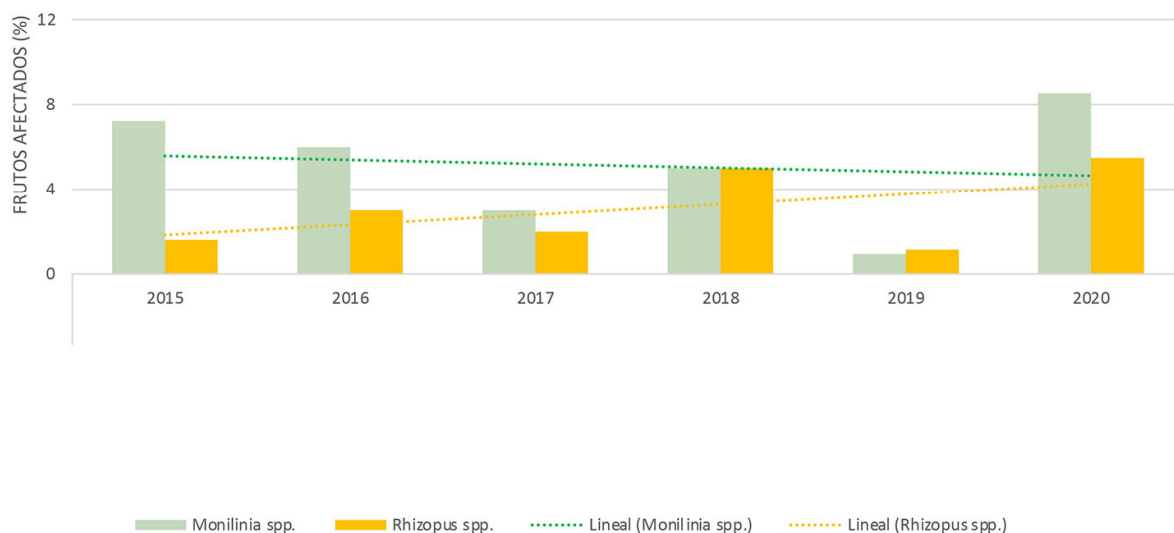


Fig. 1. Incidencia de frutos afectados por *Monilinia* spp. y *Rhizopus* spp. en los últimos 6 años en muestreos representativos de la zona productora de Lleida, y realizados en el marco del Programa Fruit.Net.

La morfología de los síntomas que causan *Geotrichum* spp. y *Rhizopus* spp. en fruto, permiten identificarlos de manera clara y diferenciarlos del principal patógeno que afecta a la fruta de hueso, *Monilinia* spp. En la Foto 1, se pueden observar los síntomas de cada uno de estos patógenos. De izquierda a derecha: *Monilinia* spp. caracterizada por manchas de color marrón, que rápidamente evolucionan y se cubren de esporas, que según la especie pueden ser más o menos abundantes; *Rhizopus* spp. que produce una podredumbre de desarrollo rápido de color marrón, acuosa, blanda y con descomposición interna del fruto.

Con el desarrollo de la podredumbre aparece una masa micelar de color blanco con unos esporangios globulares que con el tiempo adquieren un color negro. Finalmente, *Geotrichum candidum* causa una podredumbre blanda, parda, acuosa y con olor agrio. A medida que avanza la enfermedad, se forma una capa blanquecina de crecimiento micelar sobre la superficie del fruto, produciendo un exudado que hace que la piel se desintegre y a partir de aquí se infecten los frutos adyacentes.



Foto 1. Frutos afectados por *Monilinia spp.*, *Rhizopus spp.* y *Geotrichum candidum*, de izquierda a derecha.

Cabe indicar que para el caso de *G. candidum*, existe una dificultad para su identificación, ya que no es muy habitual encontrar frutos con la enfermedad totalmente desarrollada en el árbol ni en la recepción de la fruta al almacén. A menudo, los síntomas iniciales afectan solamente la epidermis del fruto, que se puede llegar a confundir con ataques de insectos o con frutos pelados por efecto del calor o roces con los envases durante el transporte. Este efecto lo provocan los enzimas pectinolíticos (endo-poligalacturonasa (PG; poli [1,4- α -D-galacturonida] glicanohidrolasa) que el patógeno es capaz de segregar y que aumentan la capacidad de infectar durante la conservación y/o confección, ya que fácilmente contaminan las líneas de confección⁸. Por ello es imprescindible la formación de los técnicos y del personal de campo y de central, especialmente de los que vayan a realizar tareas de control de calidad para que sepan identificar correctamente esta podredumbre.

Ante este nuevo escenario de dos enfermedades emergentes, será imprescindible estudiarlas para abordar aspectos como las fuentes de inóculo, la presencia y distribución del patógeno en campo y en central, así como sus condiciones ambientales óptimas y limitantes del crecimiento. Toda la información generada nos ayudará a diseñar estrategias de control eficaces.

Inóculo en campo, ¿dónde?

Para determinar la presencia y ubicación del inóculo en campo se seleccionaron 4 parcelas de nectarina con histórico de la podredumbre ácida, 3 de nectarina 'Nectadiva', 'Red Pearl' y 'Nectatinto', y una de paraguayano 'ASF 07-98'. Para el caso de *Rhizopus spp.*, las fincas seleccionadas, también con histórico de enfermedad, fueron de las variedades 'Extreme Red', 'Nectadiva', 'Big Top', 'Nectatinto', 'Plane Star' y 'Flat red'. En todos los casos, en el período próximo a la cosecha se muestrearon tierra, hojas de los árboles y frutos sanos.

Los resultados indicaron presencia de *G. candidum* en las muestras de tierra, de hojas y frutos en las 4 fincas analizadas. En estudios similares realizados en California⁹, los resultados obtenidos fueron similares. También detectaron población de *G. candidum* en el 95 % de las muestras de tierra que analizaron, en el 39% de los frutos y en el 37% de las hojas. En nuestros estudios, la incidencia de podredumbre ácida en la fruta sana muestreada

fue del 0,8, 3 y 4,3 % en 'Nectatinto', 'Nectadiva' y 'ASF 07-98', respectivamente, no detectándose afectación de esta enfermedad en la parcela de nectarina Red Pearl.

En el estudio anterior, se evaluó una gran cantidad de frutos con síntomas de la podredumbre ácida, que junto a la experiencia de los últimos años del grupo de Patología junto al Servicio Técnico del Programa de Postcosecha del IRTA, se ha evidenciado que la podredumbre ácida no siempre evoluciona hacia una misma morfología. En algunos casos, el micelio blanco tiene un aspecto mucoso, más propio de una levadura que de un moho, en otros casos, la podredumbre desintegra por completo el fruto y también se pueden observar diferencias en el perfil aromático de la podredumbre, pudiéndose diferenciar olor a ácido, a frutos cítricos, a piña, etc. Además, después de numerosos aislamientos procedentes de frutos con síntomas diversos de la podredumbre ácida, se identificó como organismos causantes de esta enfermedad levaduras (en solitario o conjuntamente con *G. candidum*) que fueron identificadas a nivel molecular como *Pichia kluyveri* y *P. kudriavzevii*. Otros autores también habían identificado previamente diferentes microorganismos como responsables de la podredumbre ácida en fruta de hueso, como *Issatchenkia scutulata* y *Kloeckera apiculata*. Estos resultados implican un nuevo reto, distinto al planteado inicialmente, ya que será necesario ampliar los estudios de epidemiología y ecofisiología a todos los microorganismos implicados en la podredumbre ácida en nuestra zona para poder diseñar con éxito las estrategias de control.

Para el caso de *Rhizopus* spp., también se determinó presencia del patógeno en los 6 campos evaluados, en todos los muestreos; tierra, hojas y frutos. Se detectó incidencia de enfermedad en los frutos sanos muestreados del suelo de todos los campos, después de 7 días a 20 °C, y osciló entre el 20 y el 60 %. Para el caso de los frutos sanos muestreados de los árboles, solo se determinó presencia de enfermedad en dos campos 'Extreme Red' y 'Nectadiva' con incidencias de frutos afectados del 30 y 4 %, respectivamente.

Inóculo en postcosecha, ¿dónde?

Que se haya encontrado inóculo de *Geotrichum* spp. y *Rhizopus* spp. en la superficie de los frutos, en hojas y en la tierra de las fincas implica que, con mucha probabilidad, estos van a llegar a la central frutícola y contaminarán los envases, el agua del volcador de palots, el agua del hydrocooler, etc. Además, aunque no es habitual encontrar frutos ya afectados por estos patógenos en la recepción de las partidas, sí que en determinados casos en los que exista un retraso en la puesta en frío podrán aparecer frutos afectados que, además, contaminarán las distintas superficies de la línea de confección. Para el caso de *Geotrichum* spp., esta contaminación ya se evidenció en los resultados publicados por Yaghmour y col. (2012)¹. En relación con *Rhizopus* spp., se conoce que a 25 °C, la tasa de progreso de la severidad oscila entre 0,30 y 0,49 días⁻¹ ⁶. Estos estudios confirman la necesidad de enfriar la fruta lo más rápido posible, y monitorizar y conocer en qué zonas de la central sobrevive el inóculo de *G. candidum* y *Rhizopus* spp., con el fin de implementar los protocolos de limpieza y desinfección más adecuados para minimizar esta fuente de inóculo.

La presencia de inóculo en las centrales hortofrutícolas se estudió en 2 empresas de la zona de Lleida en diferentes puntos de la central: en el agua (volcado de palots y hydrocooler), en el ambiente (de las cámaras de conservación y de expedición), en las superficies de las líneas de confección (tapices de la zona sucia y de la zona limpia en las mesas de encajado final) y en los palots conteniendo fruta en el momento de su volcado a la línea de confección.



Los resultados indicaron que los principales puntos donde se detecta población de *G. candidum* fueron las superficies de las líneas de confección y, en menor grado, en los palots. El agua de las balsas de vaciado de palots o del hydrocooler, siempre y cuando estuviera correctamente desinfectada con un nivel de cloro activo suficiente no presentó contaminación por este hongo. Del mismo modo, y como también habían ya descrito otros autores^{1,10}, no se encontraron esporas en el ambiente de las cámaras de conservación ni de expedición, sugiriendo que los conidios no se transmiten por el aire. Cabe decir que, tanto en las superficies de las líneas de confección como en los palots de campo, también se detectó crecimiento de levaduras con una morfología muy similar a las que se aislaron de frutos con podredumbre ácida y se identificaron como *Pichia* spp. Sin embargo, en este caso no se comprobó a nivel molecular.

Rhizopus spp. fue altamente detectado en todas las zonas evaluadas y también ambientes, indicando el riesgo de infecciones en postcosecha causado por este patógeno¹¹.

Condiciones óptimas de desarrollo

A diferencia de *Monilinia* spp., *G. candidum* y *Rhizopus* spp. tienen su óptimo de crecimiento a 30 °C. A su vez, cabe indicar que mientras *G. candidum* requiere actividad de agua (aw) del 0.99, *Rhizopus* spp. crecería mejor a humedades relativas del 80 %.

Es interesante destacar la exigencia de *G. candidum* en relación con la actividad de agua (0,99 aw), que apoya la hipótesis de que, en los últimos años, y especialmente en aquellos veranos con olas de calor y episodios de lluvias y/o pedrisco, la incidencia de podredumbre ácida, haya visto aumentada su incidencia de forma alarmante.

Esta exigencia en cuanto a la actividad de agua nos ayudará a dirigir la investigación hacia prácticas culturales que favorezcan la ventilación de las zonas interiores del árbol (podas de verano, por ejemplo) o en la evaluación de tratamientos con productos con cierta capacidad secante que puedan modificar las condiciones de humedad que este patógeno necesita para germinar y crecer.

Al quedar patente en los ensayos previos que otros microorganismos diferentes de *G. candidum* también estaban involucrados en el desarrollo de la podredumbre ácida, se realizaron los estudios de ecofisiología con una de las levaduras identificadas, *Pichia kluyveri*. En este caso, su velocidad de crecimiento fue mucho menor a la observada con *G. candidum*, y mostró un crecimiento muy similar en el rango de temperatura entre 20 y 35 °C y en el rango de aw de entre 0,95 y 0,99. Este resultado indica que este patógeno podría llegar a ser especialmente importante en infecciones que se pudieran dar en la central, donde las condiciones de temperatura son más suaves y con menor humedad relativa, como

por ejemplo en las líneas de confección donde se ha comprobado que realmente sobreviven las esporas de ambos patógenos.

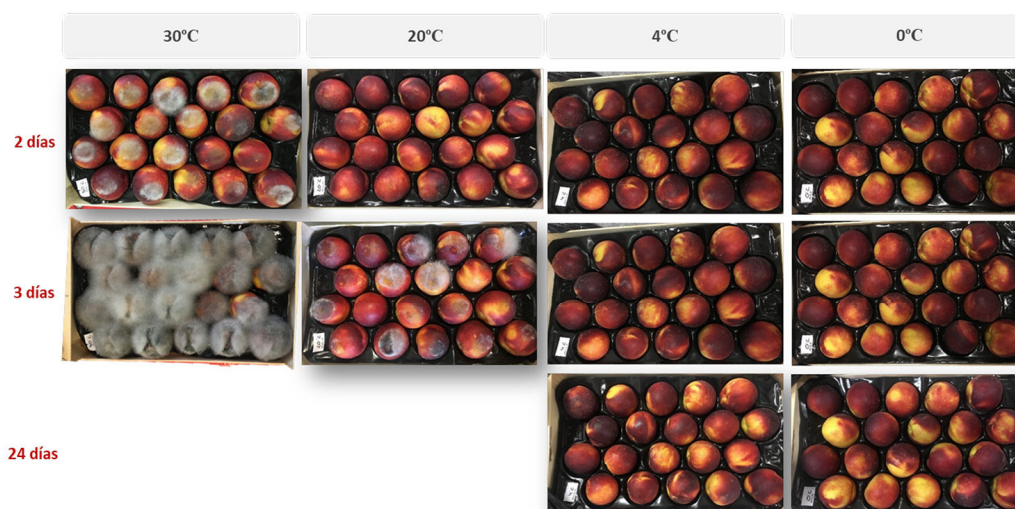


Foto 2. Frutos inoculados con *Rhizopus* spp. y conservados a 30, 20, 4 y 0 °C de izquierda a derecha, durante 2, 3 y 24 días de arriba a abajo.

Para el caso de *Rhizopus* spp. es importante destacar que en frutos inoculados con este patógeno y conservados hasta 24 días a 4 y 0 °C no se desarrolló la enfermedad (Foto 2). Estudios posteriores demostraron que, aunque esta fruta se someta, después de la conservación en frío, a condiciones de vida útil (20 °C), la enfermedad ya no se desarrollaría.

Conclusiones

En los últimos años, debido al cambio climático o a las estrategias de control de *Monilinia* spp. en fruta de hueso, cada vez más eficaces, se ha evidenciado un incremento de los frutos afectados por *Geotrichum* spp. y *Rhizopus* spp. No se trata de enfermedades nuevas, pero sí de enfermedades con incidencias mayores, con las consecuentes pérdidas económicas que ello implica al sector productor. *Monilinia* spp., principal patógeno que afecta a la fruta de hueso hasta el momento, está estudiado en profundidad, tanto su epidemiología en campo como en postcosecha, lo que nos ha permitido diseñar y aplicar en campo y postcosecha, estrategias de control efectivas. No obstante, ahora es el momento de *Geotrichum* spp. y *Rhizopus* spp, patógenos más desconocidos, para los que se han focalizado importantes esfuerzos en su estudio. En este artículo ya se ha descrito información básica de ambos, y se continuará investigando para poder aportar soluciones y controlar dichas enfermedades.

Agradecimientos

Parte de los resultados presentados en este artículo se enmarcan en el Programa Fruit.Net y en los Grupos Operativos del 'Departament d'Acció Climàtica, Alimentació i Agenda Rural' de Catalunya, financiado por el 'Fons Europeu Agrícola de Desenvolupament Rural': 'GEOPEACH' Caracterización y control de la podredumbre ácida causada por *Geotrichum* spp. en melocotonero en la zona del Baix Segre y 'GOMORI' control de *Monilinia* spp. y *Rhizopus* spp. en fruta de hueso mediante nuevas estrategias que no impliquen residuos en el momento de la cosecha.

Bibliografía

1. Yaghmour, M. A., Bostock, R. M., Adaskaveg, J. E. & Michailides, T. J. Propiconazole sensitivity in populations of *Geotrichum candidum*, the cause of sour rot of peach and nectarine, in California. *Plant Dis.* 96, 752–758 (2012).

2. Hameed, A. et al. First report of *Geotrichum candidum* causing postharvest sour rot of carrot in Punjab, Pakistan. *J. Plant Pathol.* 101, 763 (2019).
3. Mari, M., Gregori, R. & Donati, I. Postharvest control of *Monilinia laxa* and *Rhizopus stolonifer* in stone fruit by peracetic acid. *Postharvest Biol. Technol.* 33, 319–325 (2004).
4. Yang, X. & Jiang, X. Antifungal activity and mechanism of tea polyphenols against *Rhizopus stolonifer*. *Biotechnol. Lett.* 37, 1463–1472 (2015).
5. Baggio, J.S., Gonçalves, F.P., Lourenço, S.S. Tanaka, F.A.O. Pascholati, S.F. & Amorim, L. Direct penetration of *Rhizopus stolonifer* into stone fruits causing rhizopus rot. *Plant Pathol.* 65, 633-642 (2016).
6. Baggio J.S., Hau, B., Amorin, L. Spatiotemporal analyses of rhizopus rot progress in peach fruit inoculated with *Rhizopus stolonifer*. *Plant Pathol.* 66, 1452-1462 (2017).
7. Taheri, P., Ndam, L. M. & Fujii, Y. Alternative approach to management of *Rhizopus* rot of peach (*Prunus persica* L.) using the essential oil of *Thymus vulgaris* (L.). *Mycosphere* 9, 510–517 (2018).
8. Nakamura, M., Nakamura, K. & Iwai, H. Establishment of heterologous expression of polygalacturonase S63PG1 from nonpathogenic isolate S63 of *Geotrichum candidum*. *J. Gen. Plant Pathol.* 75, 276–280 (2009).
9. Yaghmour, M. A., Bostock, R. M., Morgan, D. P. & Michailides, T. J. Biology and sources of inoculum of *Geotrichum candidum* causing sour rot of peach and nectarine fruit in California. *Plant Dis.* 96, 204–210 (2012).
10. McKay, A. H., Förster, H. & Adaskaveg, J. E. Distinguishing *Galactomyces citri-aurantii* from *G. geotrichum* and characterizing population structure of the two postharvest sour rot pathogens of fruit crops in California. *Phytopathology* 102, 528–538 (2012).
11. Bernat, M., Segarra, J., Casals, C., Torres, R., Teixidó, N., Usall, J. Identification of fungal population in the environment and on surfaces of stone fruit packinghouses. *Eur. Plant Pathol.* 45, 723-731 (2011).