

Uso combinado de radiación UV-C y biorecubrimiento de quitosán con aceites esenciales para el control de hongos en papaya Maradol

Alfredo Vázquez-Ovando¹, Humberto López-Hilerio², Miguel Salvador-Figueroa³, Lourdes Adriano-Anaya⁴, Raymundo Rosas-Quijano⁵, Didiana Gálvez-López⁶

Resumen - La antracnosis y pudrición blanda en frutos de papaya provocan deterioro de la calidad, así como grandes pérdidas durante el manejo postcosecha. El uso de estrategias individuales para el control de enfermedades resulta poco eficiente. Por lo anterior, en el presente estudio se evaluó el efecto sinérgico de varias estrategias de control sobre la incidencia de enfermedad causada por la inoculación de esporas de los hongos *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) y *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) en papaya var. Maradol. Se evaluaron tratamientos resultantes de la combinación del uso de biorecubrimientos compuestos elaborados con quitosán (15 g L⁻¹) adicionadas con aceites esenciales (AE) de clavo, tomillo y/o lima (5 ó 10 mL L⁻¹ de cada AE) y tres dosis de irradiación UV-C (0.97 kJ·m⁻², 2 kJ·m⁻² y 2.88 kJ·m⁻²), aplicados a las 12, 24 y 48 h post-inoculación de esporas de los fitopatógenos. El tratamiento donde se combinó el biorecubrimiento adicionado con 10 mL L⁻¹ de AE de clavo y 10 mL L⁻¹ de AE de tomillo y una dosis de irradiación UV-C de 2.88 kJ m⁻² (B1T92) aplicado a las 24 h post-inoculación de esporas, logró mantener la incidencia de enfermedad (para ambos hongos evaluados) a valores menores de 25% durante nueve días de almacenamiento a temperatura de 28 ± 3 °C y 80% de HR. Este mismo tratamiento redujo la velocidad específica de la enfermedad, con valores de 0.549 y 0.029 d⁻¹ para *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*, respectivamente. Otros tratamientos (B2T62, B1T34, B1T34, B1T94) presentaron actividad antifúngica (valores promedio de incidencia de 35% durante todo el almacenamiento) para *R. stolonifer*. Los resultados de este trabajo demuestran que el efecto sinérgico del uso de biorecubrimientos de quitosán con aceites esenciales y energía UV-C controla el desarrollo de hongos causantes de antracnosis y pudrición blanda en frutos de papaya Maradol.

Términos para indexación: *Colletotrichum gloeosporioides*; *Rhizopus stolonifer*; sinergismo; incidencia de enfermedad; velocidad específica de infección.

Combination of uv-c radiation and chitosan films enriched with essential oils for fungi control in papaya 'Maradol'

Abstract - Anthracnose and soft rot cause deterioration of quality as well as large losses during post-harvest handling of papaya fruits. The single strategies for disease control is little efficient. We analyzed the effect of to integrate control strategies on the incidence of disease caused by the inoculation of spores of the fungi *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) and *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) into papaya (*Carica papaya* L.) 'Maradol'. The following treatments were evaluated: a combination of the use of composite films made with chitosan (15 g L⁻¹) enriched with clove, thyme and / or lime essential oils, (EO) (5 or 10 mL L⁻¹ of each EO) and three irradiation UV-C doses (0.97 kJ·m⁻², 2 kJ·m⁻² y 2.88 kJ·m⁻²), applied at 12, 24, and 48 h post-inoculation of phytopathogens spores. The treatment where combined coating with 10 mL L⁻¹ of clove EO and 10 mL L⁻¹ of thyme EO and a UV-C irradiation at dose of 2.88 kJ m⁻² (B1T92) applied at 24 h post-inoculation was able to maintain the disease incidence lower than 25% (for both fungi) during nine days of storage at tropical room conditions (28 ± 3 °C and 80% RH). The same treatment reduced the specific rate of the disease, with values of 0.549 and 0.029 d⁻¹ for *C. gloeosporioides* and *R. stolonifer*, respectively. Other treatments (B2T62, B1T34, B1T34, and B1T94) had antifungal activity (mean values of incidence of 35% throughout storage) for *R. stolonifer*. These results demonstrate that the synergistic effect of the use of biofilms enriched with EO and UV-C irradiation controls the development of fungi causing anthracnose and soft rot in Maradol papaya fruits.

Index terms: *Colletotrichum gloeosporioides*; *Rhizopus stolonifer*; synergist effect; disease incidence; apparent infection rate

Corresponding author:

jose.vazquez@unach.mx

Received: April 26, 2017.

Accepted : August 29, 2017.

Copyright: All the contents of this journal, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution License.



¹Dr. en Ciencias Biológicas. Instituto de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas. Tapachula, Chiapas, México. Correo-e: jose.vazquez@unach.mx

²Ingeniero Biotecnólogo. Instituto de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas. México Correo-e: humberto2407@outlook.com

³Dr. en Biotecnología. Instituto de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas. México Correo-e: msalvad@hotmail.com

⁴Dra. en Agricultura Tropical. Instituto de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas, México. Correo-e: maria.adriano@unach.mx

⁵Dr. en Biotecnología de Plantas. Instituto de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas. México Correo-e: rrquijano@yahoo.fr

⁶Dra. en Biotecnología Agroalimentaria. Instituto de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas. México Correo-e: didiana.galvez@unach.mx

Introducción

Los consumidores son cada vez más exigentes respecto a la calidad de los productos que adquieren como alimentos, es así que, actualmente se prefieren productos menos procesados (frescos), producidos bajo esquemas orgánicos y, en la medida de lo posible sin el uso de conservadores sintéticos (USALL et al., 2016). Entre los productos frescos se encuentran las frutas tropicales y específicamente la papaya (*Carica papaya* L.), la cual, dada su fisiología (climática) y susceptibilidad a patógenos, se somete a estrictos estándares de producción y manejo postcosecha para garantizar la inocuidad y calidad requerida por el consumidor. Desafortunadamente estas medidas no siempre son las más sustentables o seguras. El consumo de papaya aporta beneficios a la salud por ser rica en azúcares, fibra y betacarotenos, además por contener papaína, enzima que ayuda a digerir los alimentos, entre otras propiedades (HAMZAH et al., 2013), lo que la vuelve una fruta atractiva tanto en el comercio local, como en el nacional e internacional. En México, el volumen de producción ha ido incrementándose de manera paulatina, pasando de 250,000 toneladas a principios de la década de los noventa, a alrededor de 800,000 toneladas en la actual década (FAO, 2013).

La principal amenaza de la papaya en postcosecha, al igual que muchos otros cultivos tropicales, son los hongos fitopatógenos, pues dañan su integridad y demeritan la calidad final (PALAVECINO-RUIZ et al., 2016). Entre los principales hongos fitopatógenos que afectan a la papaya se encuentran los pertenecientes a los géneros *Colletotrichum* spp. y *Rhizopus* spp., los cuales son causantes de antracnosis y pudrición blanda, respectivamente (LI et al., 2013). Para eliminar o minimizar la presencia y/o desarrollo de estos y otros agentes fitopatógenos se emplean diversas tecnologías postcosecha. Por mencionar solo algunas figura la refrigeración, que retarda el desarrollo de los patógenos (MUHAMMAD et al., 2011), aplicación de fungicidas sintéticos (PAGANI et al., 2014), el uso de irradiación gamma; irradiación con luz ultravioleta sobre todo de onda corta UV-C (SYAMALADEVI et al., 2014), aplicación de recubrimientos comestibles basados en polímeros, y de éstos los elaborados con quitosán ya sea solos o combinados con aceites esenciales (PERDONES et al., 2016; SALVADOR-FIGUEROA et al., 2017) se han popularizado por sus beneficios en el control de patógenos. La búsqueda de estrategias no dependientes del frío (refrigeración) que a pequeña escala resulta muy costosa, ni del uso fungicidas sintéticos cuya sobreexposición puede generar problemas de resistencia en los patógenos, además de bioacumulación en humanos, animales y el ambiente, hace voltear hacia otras tecnologías menos convencionales que puedan mejorar la calidad postcosecha de papaya.

Así, aunque el uso de la energía UV-C no es reciente y se ha enfocado en el control de bacterias patógenas que crecen en alimentos (USALL et al., 2016), en la última década se ha incrementado su uso, bien de manera individual (SYAMALADEVI et al., 2014) o combinada con otras estrategias (ZHANG et al., 2013) para controlar la presencia de hongos fitopatógenos. Se reportan los efectos de su uso en mango (SRIPONG et al., 2015; TERAÑO et al., 2015), pera (SYAMALADEVI et al., 2014), fresas (JANISIEWICZ et al., 2016) y otros (USALL et al., 2016). Otra estrategia que ha demostrado eficacia para controlar el desarrollo de hongos en frutos es la aplicación de biorecubrimientos. Tezotto-Uliana et al. (2014) demostraron que la aplicación de quitosán tanto en pre como en postcosecha resultó efectiva para reducir la incidencia de hongos y mejorar los atributos de calidad de frambuesas. Otros trabajos reportan el uso de recubrimientos de quitosán de manera combinada, por ejemplo, Yu et al. (2012) emplearon biopelículas de quitosán combinado con una levadura y lograron controlar el desarrollo del moho azul en peras. De manera similar Perdones et al. (2016) adicionaron aceites esenciales de albahaca o tomillo a los recubrimientos de quitosán y lograron aumentar el efecto antifúngico contra *Botrytis cinerea*, logrando mejorar la calidad de frutas de fresa.

Dado que los mecanismos de control de patógenos de la radiación UV-C y del uso de recubrimientos es diferente, el uso combinado de estas estrategias puede potenciar el efecto antifúngico. Además, a la fecha no se cuenta con reportes del uso de energía UV-C y biopelículas de quitosán adicionadas con aceites esenciales de clavo, tomillo y/o lima como estrategias de manera sinérgica para la reducción de antracnosis en frutas de papaya. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto antifúngico de biorecubrimientos de quitosán adicionadas con aceites esenciales de clavo, tomillo y lima, sobre la incidencia y velocidad 'específica' de la enfermedad causada por hongos fitopatógenos en frutas de *C. papaya* L. previamente irradiadas con radiación UV-C.

Materiales y métodos

Reactivos

Se utilizó quitosán con 85% de desacetilación y PM = 340.33 g mol⁻¹, ácido acético glacial, Tween® 20 y agar dextrosa papa (ADP) todos de la marca Sigma-Aldrich®. Aceites esenciales de clavo (*Eugenia caryophyllata*), lima (*Citrus aurantifolia*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) de la marca Mayer®. Todas las sustancias químicas empleadas fueron de grado reactivo.

Frutos

Se obtuvieron frutos de *C. papaya* L. var. Maradol procedentes del ejido Álvaro Obregón del municipio de Tapachula, Chiapas, México 14°54'37.8"N 92°20'13.3"O. Para la etapa de aseptización se emplearon 72 frutos en estado de madurez fisiológica, libres de daños visuales. Para la etapa de evaluación del efecto antifúngico de los tratamientos se emplearon 96 frutos en las mismas condiciones de calidad y madurez.

Aseptización de frutos

Para reducir y/o eliminar la presencia de formas viables de hongos previos a la evaluación, se emplearon 72 frutos. Después de lavar todos los frutos con agua corriente y jabón neutro, se dividieron en tres grupos de 24 frutos cada uno y se aplicó a cada grupo las siguientes condiciones: 1) inmersión en 125 ppm de hipoclorito de sodio durante 5 min, 2) alcohol etílico al 70% durante 5 min y 3) solución de plata coloidal (Microdyn®, 0.5 mL·L⁻¹) durante 10 min. Posteriormente los frutos fueron almacenados en un cuarto cerrado a temperatura ambiente (28 ± 3 °C) y cada 24 h se inspeccionaron visualmente durante 10 d para detectar la presencia de daño por hongos (pudrición). A partir de estos datos se calculó la incidencia de enfermedad (IDE) considerando el número de frutos que presentaron síntomas entre el total de frutos para cada condición.

Aislamiento, identificación y preparación de suspensión de esporas

Siguiendo el procedimiento descrito por Zahid et al. (2012), se prepararon las soluciones de esporas. Para esto, se obtuvieron frutos de papaya con síntomas de antracnosis y pudrición blanda colectados en campo, a los cuales se tomaron muestras del micelio maduro. Posteriormente se transfirió el micelio a cajas de Petri con agar dextrosa papa (ADP) y se incubaron a 25 ± 2 °C hasta por 16 d. Los hongos aislados fueron identificados a nivel de género según procedimientos establecidos por Barnett y Hunter (1972). Posteriormente se tomaron fragmentos de micelio aislado y se sembraron en medio ADP, se dejaron desarrollar las cepas por incubación de 7 d mantenidas a 25 ± 2 °C. Cuando se observó presencia de esporas se tomaron muestras y se analizaron microscópicamente la morfología de hifas, micelios, apresorios y esporas, esto para identificar a nivel de especie basado en los procedimientos antes citados. Para verificar la identidad de los hongos se realizaron los postulados de Koch y verificó la presencia de los hongos fitopatógenos *Colletotrichum gloeosporioides* y *Rhizopus stolonifer*. Las cepas puras fueron inoculadas en botellas Roux conteniendo medio ADP y se incubaron a 25 ± 2 °C

hasta observar la presencia de esporas (en promedio 8 d). Se empleó solución Ringer para recuperar las esporas de las botellas Roux, a partir de esta solución se realizaron diluciones y resiembras consecutivas en placas de Petri con medio ADP hasta obtener un cultivo monospórico. A partir de este cultivo se tomó nuevamente un fragmento de micelio y se realizó el mismo procedimiento en botellas Roux hasta la esporulación. Estando presente las esporas se recuperaron nuevamente en solución Ringer a la cual se le cuantificó la concentración de esporas por recuento en cámara de Neubauer. Se obtuvo finalmente dos soluciones con una concentración de 4.1 x 10⁶ esporas mL⁻¹ para el hongo *C. gloeosporioides* y 4.2 x 10⁶ esporas mL⁻¹ del hongo *R. stolonifer*.

Inoculación de esporas en frutas de papaya

Con base en los resultados de la etapa de aseptización, 96 frutos fueron sumergidos durante 5 min en 125 ppm de hipoclorito de sodio. Posteriormente, fueron secados con toallas de papel y se inocularon con suspensión de esporas siguiendo el procedimiento descrito por Wang et al. (2014). A cada uno de los frutos se dibujó una línea por toda la región transversal del fruto y en una de las dos caras se dibujaron de manera aleatoria 10 círculos de 5 mm de diámetro cada uno (20 círculos en total por fruto). En cada uno de los diez puntos de una cara se inocularon 4.1 x 10⁵ esporas del hongo *Colletotrichum gloeosporioides*; mientras que en cada uno de los 10 puntos de la cara contraria se inocularon 4.2 x 10⁵ esporas del hongo *Rhizopus stolonifer*. Posteriormente, todos los frutos fueron almacenados a 28 ± 3 °C en un área con 80% de HR hasta completar los tiempos para ser tratados (12, 24 o 48 h post-inoculación).

Tratamientos y aplicación

Para probar el efecto antifúngico, se evaluó bajo un diseño factorial tipo AxBxC (2x3x3) la combinación de tres factores, los cuales fueron; factor A: dos tipos de recubrimientos basados en quitosán denominados B1 (15 g L⁻¹ de quitosán + 10 mL L⁻¹ de aceite esencial de clavo + 10 mL L⁻¹ de aceite esencial de tomillo) y B2 (15 g L⁻¹ de quitosán + 5 mL L⁻¹ de aceite esencial de clavo + 5 mL L⁻¹ de aceite esencial de lima); factor B: tres dosis de irradiación UV-C denominados T3 (0.97 kJ m⁻²), T6 (2 kJ m⁻²) y T9 (2.88 kJ m⁻²); y factor C: tres tiempos de aplicación de los tratamientos posteriores a la inoculación de esporas denominados 1 (12 h), 2 (24 h) y 4 (48 h). Esta combinación da un total de 18 tratamientos a los cuales se adicionó un testigo positivo (también a tres tiempos de inoculación) usando 5 g L⁻¹ del fungicida sintético Mancozeb® y un testigo absoluto (sin ningún tratamiento) para dar un total de 22 tratamientos (Tabla 1). Cada tratamiento contenía cuatro replicas.

Elaboración de soluciones de los biorecubrimientos

Para elaborar las soluciones de los biorecubrimientos se siguió el procedimiento descrito por Binsi et al. (2013). Se disolvió quitosán (15 g L^{-1}) de bajo peso molecular en una solución acuosa de ácido acético glacial (10 mL L^{-1}) mediante agitación magnética a $45 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 h. Pasado este tiempo, la solución se dejó enfriar a temperatura ambiente y se adicionaron 5 mL L^{-1} de Tween 20[®], luego se mantuvo en agitación por 2 h para su homogenización. Con esta solución como base se prepararon 2 tipos de recubrimientos (SALVADOR-FIGUEROA et al., 2017); el recubrimiento 1 (B1) conteniendo 10 mL L^{-1} de aceite esencial de clavo y 10 mL L^{-1} de aceite esencial de tomillo; mientras el recubrimiento 2 (B2) contenía 5 mL L^{-1} de aceite esencial de clavo y 5 mL L^{-1} de aceite esencial de lima. Ambas soluciones, después de adicionar los aceites esenciales se sometieron a ultrasonificación durante 5 min empleando el sonicador Ultrasonic Processor[®] VCX 500 (500 W, 20 kHz), punta de 13 mm, amplitud de 60%; 50 s de sonicación y 10 s de inactividad, logrando la microemulsión característica para la aplicación a las frutas.

Aplicación de recubrimientos

De los frutos previamente inoculados con esporas de hongos fitopatógenos, de manera aleatoria se eligieron

32 frutos. Estos fueron divididos en ocho grupos de cuatro frutos cada uno, también elegidos de forma aleatoria. Exactamente 12 h después de inocular esporas, a cada uno de los ocho grupos, se aplicó los ocho tratamientos correspondientes (B1T31, B1T61, B1T91, B2T31, B2T61, B2T91, Mancozeb[®] y Testigo). De manera similar se procedió con otros 32 frutos después de 24 h de inocular esporas (B1T32, B1T62, B1T92, B2T32, B2T62, B2T92, Mancozeb[®] y Testigo) y así 48 h posteriores a la inoculación, el último grupo de 32 frutos (B1T34, B1T64, B1T94, B2T34, B2T64, B2T94, Mancozeb[®] y Testigo), (Tabla 1). Para cada tiempo de inoculación se estableció un Testigo, siendo tres tratamientos de este tipo con un total 12 frutos. Para la aplicación de los tratamientos, los cuatro frutos de cada grupo fueron expuestos a dosis de irradiación UV-C correspondiente, posteriormente las soluciones de quitosán conteniendo los aceites esenciales se aplicaron manualmente a los frutos con la ayuda de una brocha de poliuretano y se dejaron secar a temperatura ambiente. Para el tratamiento con fungicida sintético, la solución de Mancozeb[®] fue aplicada a los frutos con el uso de brocha de poliuretano. Cada tratamiento contenía cuatro replicas. Después de la aplicación de los tratamientos, todos los frutos fueron almacenados a mismas condiciones que se encontraban inicialmente ($28 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ y 80% de HR) hasta por nueve días.

Tabla 1 - Tratamientos evaluados para hacia la aplicación de biopelículas adicionadas con aceites esenciales en frutos de papaya previamente irradiadas con energía UV-C.

Código de tratamiento	Tipo de biorecubrimiento	Dosis de energía UV-C (kJ m^{-2})	Tiempo de aplicación posterior a la inoculación (h)
B1T31	Quitosán + 10 mL L^{-1} AEC + 10 mL L^{-1} AET	0.97	12
B1T32	Quitosán + 10 mL L^{-1} AEC + 10 mL L^{-1} AET	0.97	24
B1T34	Quitosán + 10 mL L^{-1} AEC + 10 mL L^{-1} AET	0.97	48
B1T61	Quitosán + 10 mL L^{-1} AEC + 10 mL L^{-1} AET	2.0	12
B1T62	Quitosán + 10 mL L^{-1} AEC + 10 mL L^{-1} AET	2.0	24
B1T64	Quitosán + 10 mL L^{-1} AEC + 10 mL L^{-1} AET	2.0	48
B1T91	Quitosán + 10 mL L^{-1} AEC + 10 mL L^{-1} AET	2.88	12
B1T92	Quitosán + 10 mL L^{-1} AEC + 10 mL L^{-1} AET	2.88	24
B1T94	Quitosán + 10 mL L^{-1} AEC + 10 mL L^{-1} AET	2.88	48
B2T31	Quitosán + 5 mL L^{-1} AEC + 5 mL L^{-1} AEL	0.97	12
B2T32	Quitosán + 5 mL L^{-1} AEC + 5 mL L^{-1} AEL	0.97	24
B2T34	Quitosán + 5 mL L^{-1} AEC + 5 mL L^{-1} AEL	0.97	48
B2T61	Quitosán + 5 mL L^{-1} AEC + 5 mL L^{-1} AEL	2.0	12
B2T62	Quitosán + 5 mL L^{-1} AEC + 5 mL L^{-1} AEL	2.0	24
B2T64	Quitosán + 5 mL L^{-1} AEC + 5 mL L^{-1} AEL	2.0	48
B2T91	Quitosán + 5 mL L^{-1} AEC + 5 mL L^{-1} AEL	2.88	12
B2T92	Quitosán + 5 mL L^{-1} AEC + 5 mL L^{-1} AEL	2.88	24
B2T94	Quitosán + 5 mL L^{-1} AEC + 5 mL L^{-1} AEL	2.88	48
Mancozeb [®] 1	-----	-----	12
Mancozeb [®] 2	-----	-----	24
Mancozeb [®] 4	-----	-----	48
Testigo	-----	-----	-----

AEC= aceite esencial de clavo, AET= aceite esencial de tomillo, AEL= aceite esencial de lima

Exposición a energía UV-C

Se utilizó como fuente de energía UV-C (λ 200-280 nm) lámpara germicida Marca Sankyo Denki Modelo G15T8. Las frutas fueron sometidas a la radiación UV-C, según el procedimiento descrito por Pinheiro et al. (2016), con modificaciones. Para lograr las tres dosis preestablecidas de energía, los frutos se expusieron frente a la lámpara durante 3 min ($0.97 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$), 6 min ($2 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$) y 9 min ($2.88 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$) respectivamente. La fuente de energía se mantuvo a 30 cm de distancia de las frutas y los frutos fueron rotados tres veces (en función del tiempo total) para exponer a la luz UV-C toda la superficie de los frutos.

Presencia de hongos

Se cuantificó la incidencia de enfermedad de hongos (IDE %) realizando modificaciones al procedimiento sugerido por Bosquez-Molina et al. (2010). Se registró el número de puntos inoculados que mostraron signos de la enfermedad divididos entre el total de puntos inoculados por fruto y por hongo (diez) multiplicado por 100. Se consideró a cada fruto como una repetición y se consideraron cuatro repeticiones por tratamiento.

Análisis de datos

Los datos obtenidos de la IDE fueron sometidos a análisis de varianza por día de muestreo y cuando se encontraron diferencias entre medias se analizaron mediante la prueba del rango múltiple de Duncan a un nivel $P < 0.05$ (ONG Y ALI, 2015) utilizando el programa estadístico Infostat Profesional© v2011. Los datos de la incidencia fueron transformados usando la fórmula de

transformación logística $\text{Ln} = y(1-y)^{-1}$ para *Colletotrichum gloeosporioides* y $\text{Ln} = 1(1-y)^{-1}$ para *Rhizopus sotolonifer*, posteriormente graficados contra el tiempo de muestreo. A partir de la ecuación de la recta se estimó el valor de la pendiente y se consideró como la velocidad específica (VE) de la incidencia de enfermedad con unidades en d^{-1} (MCKAY et al., 2014).

Resultados

Aseptización de frutos

En la Tabla 2 se muestran los valores de IDE producida por hongos fitopatógenos en frutos durante la etapa de aseptización. Durante los primeros 3 d de almacenamiento, no se presentó síntomas de infección visible en los frutos de ninguno de los tratamientos; sin embargo, a partir del cuarto día aparecieron síntomas de antracnosis y/o pudrición blanda en los frutos tratados con alcohol etílico al 70%. Los frutos tratados con 125 ppm de hipoclorito de sodio se mantuvieron sin signos de infección durante 6 d, pero al día siete la infección fue más severa que al inicio de los otros dos tratamientos (16.66% vs 8.33%). Cuando se empleó $0.5 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ de plata coloidal, los valores de IDE se mantuvieron en cero por 5 días de almacenamiento y al iniciar los síntomas (día seis) 2/24 de los frutos presentaron la enfermedad. Al término del almacenamiento (día 10) la incidencia fue de 33.3% en todos los tratamientos.

Tabla 2 - Valores de incidencia de enfermedad en frutos de papaya con tres tratamientos de aseptización. Frutos almacenados a 28°C y 80% de HR durante 10 días.

Tiempo de almacenamiento (días)	Incidencia de enfermedad (%)		
	Hipoclorito de sodio (125 ppm)	Alcohol etílico (70% v v ⁻¹)	Plata coloidal (0.5 mL L ⁻¹)
0	0	0	0
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	8.3	0
5	0	16.6	0
6	0	16.6	8.3
7	16.6	33.3	8.3
8	33.3	33.3	25
9	33.3	33.3	25
10	33.3	33.3	33.3

IDE en frutos de papaya inoculados con *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer*

En las Figuras 1, 2 y 3 se muestran los valores de IDE en frutos de papaya, provocada por los hongos *C. gloeosporioides* (Figuras 1A, 2A y 3A) y por *R. stolonifer* (Figuras 1B, 2B y 3B) con tratamientos aplicados a las 12 h (Figura 1), 24 h (Figura 2) y 48 h (Figura 3) después de la inoculación de esporas. De manera general la presencia de signos de la infección aparecieron en el cuarto día de almacenamiento.

Para los frutos que se trataron a las 12 h posteriores a la inoculación, los tratamientos de Mancozeb® y Testigo tuvieron los valores más bajos de IDE (5%) el día que aparecieron los síntomas (cuarto día de almacenamiento); sin embargo para el día cinco fueron los tratamientos B2T61 y Testigo los que presentaron menor IDE del hongo *C. gloeosporioides* (Figura 1A), siendo solamente el tratamiento Testigo significativamente diferente del resto de tratamientos. A excepción de los días 5 y 6 post-inoculación, para los demás días no se encontró diferencias estadísticas entre tratamientos ($P > 0.05$).

Los tratamientos aplicados a las 12 h de la inoculación de esporas mostraron un ligero efecto sobre IDE, producida por *R. stolonifer*, puesto que la aparición del daño ocurrió al cuarto día de almacenamiento solo para dos tratamientos y con valores por debajo del 10% de IDE. De todos los tratamientos, donde se aplicó la biopelícula de quitosán conteniendo aceites esenciales de clavo y lima combinado con UV-C dosis de 2 kJ m^{-2} (B2T61) mantuvo el menor valor de IDE hasta el final del almacenamiento, con 67.5% contra los demás tratamientos que mostraron 70-100% de IDE. Contrario a lo que ocurrió con *C. gloeosporioides*, la aplicación del fungicida sintético mantuvo una IDE de 0% hasta el séptimo día de almacenamiento siendo estos días diferente ($P < 0.05$) de otros tratamientos, sin embargo, la presencia de síntomas fue observada el día ocho y la IDE alcanzando 57.5% al final del almacenamiento (Figura 1B), siendo para este día estadísticamente igual ($P > 0.05$) a los demás tratamientos.

Del mismo modo, cuando los tratamientos antifúngicos se practicaron 24 h después de la inoculación de esporas, la presencia de daño por *C. gloeosporioides* se observó al cuarto día de almacenamiento en cinco de los ocho tratamientos (Figura 2A) con valores de IDE 2.5% (Mancozeb®) hasta 22.5% (B1T32) con diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos. El tratamiento de biorecubrimiento de clavo-tomillo y dosis de UV-C de 2.88 kJ m^{-2} (B1T92) exhibió potencial inhibidor de germinación de las esporas o del desarrollo del micelio pues aún el día 7 solo se contaba con un valor de 10% para IDE. Sin embargo, este retraso en IDE no se prolongó más allá del día 8, donde la IDE se duplicó y alcanzó el 25% al final del almacenamiento. Este mismo tratamiento fue estadísticamente diferente ($P < 0.05$) de otros tratamientos

para varios de los días evaluados (Figura 2A).

En la figura 2B se presentan valores de IDE causada por *R. stolonifer*. Se observó daño visible (2.5-30%) al cuarto día en los frutos de cuatro tratamientos. En contraste, tres tratamientos postcosecha mostraron efectividad para el control de la germinación de conidios, al igual que los frutos no tratados. Dos tratamientos mostraron eficiencia para reducir la IDE. El tratamiento donde se aplicó biorecubrimiento conteniendo aceites esenciales de clavo-tomillo combinado con dosis de 2 kJ m^{-2} de UV-C (B2T62) controló la aparición de signos de la enfermedad (0% de IDE) hasta el día 5 y para el final del almacenamiento la IDE fue de 10%, siendo estadísticamente diferente ($P < 0.05$) de los demás tratamientos (excepto B1T92 y B2T62) los días 8 y 9 de evaluación. De manera similar el tratamiento B1T92 mantuvo la IDE en valores de 0% hasta el día seis y con valores de 15% para el día final de la evaluación (Figura 2B).

En la Figura 3 se presentan los valores (promedio) para IDE en frutos tratados a las 48 h posteriores a la inoculación de esporas. El daño inicial causado por *C. gloeosporioides* apareció el cuarto día de almacenamiento en tres tratamientos (Figura 3A), siendo la IDE de 2.5% en el tratamiento B1T94, 30% en el testigo y 10% en los frutos tratados con Mancozeb®. A pesar de que el tratamiento B1T94 mostró menores valores de IDE (10% al quinto día), el aumento fue gradual con el transcurso del tiempo y al final del almacenamiento la IDE fue de 65%. Para todos los demás tratamientos, la IDE fue $> 77.5\%$ hacia el día final del almacenamiento, siendo estadísticamente iguales ($P > 0.05$) todos los tratamientos.

Cuando se evaluó el efecto de los tratamientos sobre la IDE causada por *R. stolonifer*, se observó la menor incidencia durante todo el estudio en los tratamientos que fueron recubiertos con la biopelícula 1 (B1, compuesta de quitosán y adicionada con aceite esencial de tomillo y lima), independientemente de la dosis de radiación UV-C, pues los tres tratamientos recubiertos con esta película (B1T34, B1T64 y B1T94) mantuvieron durante todo el estudio valores de IDE menores a 52.5% (Figura 3B).

Velocidad específica (VE) de IDE

En la Tabla 3 se presentan los resultados de la velocidad específica de IDE causada por *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer* en frutos de papaya tratados a las 12, 24 y 48 h después de la inoculación de esporas y almacenados a $28 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ y 80% de HR. De manera general se puede ver que los tratamientos aplicados a las 24 h después de la inoculación con esporas presentaron valores de menor magnitud en la VE con respecto a los mismos tratamientos aplicados tanto a las 12 h como a las 48 h. Los valores de la VE en esta condición se encontraron en algunos tratamientos por debajo de los presentados para los tratados con el fungicida sintético y con el testigo absoluto.

También en concordancia con lo observado para las IDE, los tratamientos con menores IDE correspondieron con los de menor velocidad (VE). Así, el tratamiento

B1T92 tuvo la menor VE de IDE para *C. gloeosporioides* y este mismo tratamiento junto con el tratamiento B2T62 presentaron los valores más bajos en la VE de IDE para *R. stolonifer*.

Tabla 3 - Velocidad específica de la incidencia de enfermedad causada por *Colletotrichum gloeosporioides* y *Rizhopus stolonifer* en frutos de papaya Maradol tratados con diferentes estrategias. Para detalles de los tratamientos ver Tabla 1.

Tratamiento	Velocidad específica (d ⁻¹)	
	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Rizhopus stolonifer</i>
B1T31	1.252	0.682
B1T61	1.086	0.518
B1T91	0.786	0.228
B2T31	1.098	0.455
B2T61	0.798	0.291
B2T91	0.872	0.347
B1T32	0.956	0.666
B1T62	1.047	0.357
B1T92	0.549	0.029
B2T32	0.610	0.395
B2T62	0.554	0.027
B2T92	0.654	0.179
B1T34	1.248	0.103
B1T64	1.100	0.107
B1T94	0.833	0.168
B2T34	0.907	0.507
B2T64	1.680	0.613
B2T94	1.352	0.586
Mancozeb [®] 1	1.056	0.568
Mancozeb [®] 2	0.829	0.249
Mancozeb [®] 4	0.708	0.293
Testigo*	0.976	0.441

*Para este tratamiento, los valores se obtuvieron como el promedio de las tres condiciones de tiempo post-inoculación evaluadas (12, 24 y 48 h)

Discusión

El uso de hipoclorito de sodio como sanitizante de los frutos ha sido ampliamente documentado. El tratamiento donde se aplicó hipoclorito de sodio (125 ppm) fue seleccionado para ser empleado en la etapa posterior, con el criterio que logró mantener niveles menores (0%) en IDE durante los primeros 6 días de almacenamiento, la ausencia de efectos adversos en los frutos y el mínimo costo de su implementación incluso a gran escala. El uso de una menor concentración a la reportada para la mayoría de los frutales (150-250 ppm de hipoclorito de sodio); se debió al posible daño por la susceptibilidad que los frutos de papaya presentan por el efecto prolongado de dosis por arriba de 130 ppm (DUAN et al., 2016). En esta etapa del estudio, aunque no se evaluaron parámetros de calidad o textura en los frutos, se observó que los frutos tratados con alcohol al 70% presentaron signos de daño por el tratamiento, después de nueve días de almacenamiento, la

epidermis de los frutos se mostró ligeramente deshidratada (rugosa) y con una coloración opaca no característica de los frutos de papaya en la postcosecha. A diferencia de otros vegetales con piel más resistente donde el etanol no produce daños (MANI-LÓPEZ et al., 2016), por las características texturales de las papayas, es posible que los frutos perdieran parcialmente la cubierta cerosa (XIE et al., 2008) y con esto se desestabilizaran células epidérmicas por efecto de la concentración de alcohol utilizada, descartado así este método de sanitización.

Los resultados de esta etapa demuestran que ninguno de los tratamientos utilizados, logró impedir la presencia del patógeno al 100% al final del almacenamiento. Lo anterior puede tener varias posibles explicaciones: a) Que los agentes asepticantes no lograron inactivar la totalidad de las esporas del hongo de la epidermis del fruto y una vez transcurrido el periodo de adaptación al hospedante (etapa de quiescencia), las esporas iniciaron la germinación (TIAN et al., 2016); b) que las soluciones

aseptizantes no lograron penetrar la epidermis del fruto y posiblemente las esporas de los hongos, ya se encontraban en proceso de adaptación a la epidermis (penetración de apresorios en estomas o grietas naturales) y solo iniciada la maduración sensorial de los frutos se completó la aparición de los signos de enfermedad (GARCÍA-BENITEZ et al., 2016); y c) que los frutos pudieran haber sido aseptizados de manera eficiente con el tratamiento, pero durante el almacenamiento se re-infectaron con esporas del ambiente (USALL et al., 2016).

Con excepción del tratamiento codificado como B1T92 que exhibió la menor IDE y la menor VE, el comportamiento de la IDE durante los 9 días de almacenamiento fue similar para los demás tratamientos independientemente de si se realizaron 12 h (Figura 1A), 24 h (Figura 2A) o 48 h (Figura 3A) después de la inoculación, lo que pone de manifiesto la limitada capacidad de los tratamientos mencionados para contrarrestar la IDE causada por el hongo *C. gloeosporioides* a condiciones ambientales del trópico húmedo. Esto es contrario con los reportes de la disminución de síntomas de antracnosis en frutos de mango cuando se empleó de manera combinada energía UV-C y tratamiento hidrotérmico (SRIPONG et al., 2015) y aunque los tratamientos no son equivalentes pueden indicar mayor resistencia del hongo que infecta a papaya Maradol a factores físicos como tratamiento antifúngico.

En varios de los tratamientos evaluados en el presente estudio se observaron mayores valores de IDE comparados incluso con el tratamiento testigo (sin ningún tratamiento) sobre todo cuando los tratamientos se practicaron después de 12 h (Figura 1) y 24 h (Figura 2). Esta respuesta inusual hace pensar que los tratamientos aplicados en esos lapsos de tiempo pudieron incluso ejercer un efecto positivo sobre la germinación de esporas, ya que al recubrir los frutos pudo haberse creado un microambiente con acumulación de volátiles inducidos por la radiación UV-C, como los cuales argumentaron Droby et al., (2008). Existen reportes de que cuando se emplean dosis de UV-C (2, 4 y 6 kJ m⁻²), puede lograrse un efecto indeseable, pues se desactivan en el fruto mecanismos de defensa a patógenos, los cuales a su vez se comportan con mayor agresividad y perjudican rápidamente la epidermis de los frutos (ZHANG et al., 2013). Algo como esto podría explicar la poca efectividad de los tratamientos contra el hongo *C. gloeosporioides* donde se observó mayor IDE y VE en los primeros 5 días de evaluación.

Por el contrario, los resultados obtenidos con los tratamientos que mostraron eficiencia para el control de *R. stolonifer* (B1T92, B2T62, B1T34, B1T64, B1T94) podrían sugerir inducción de proteínas de resistencia a enfermedades por parte de los frutos debido a los recubrimientos con aceites esenciales y las dosis de UV-C empleadas (USALL et al., 2016) o, incremento en la producción de enzimas que participan en la defensa contra patógenos como fenilalanina-amonio-liasa (PAL), peroxidasa (POD), quitinasa (CHI) y β -1,3-glucanasa

(GLU) como se ha reportado ocurre en otras frutas que son irradiadas con energía UV-C (SRIPONG et al., 2015). Lo común en la mayoría de estos tratamientos (excepto B2T62) es sin embargo, la biopelícula 1, lo que también está demostrando el efecto sinérgico de la combinación sobre la IDE. El uso de quitosán como recubrimiento combinado con aceite esencial de tomillo ha mostrado efectividad contra la antracnosis de aguacate (BILL et al., 2014), y el mecanismo propuesto también sugiere incremento en la actividad enzimática de CHI y GLU. El uso del recubrimiento también pudo ser el responsable de la reducción en la VE de la incidencia de la enfermedad observada en estos tratamientos, pues modifica el microambiente de desarrollo de los patógenos.

El fungicida sintético empleado en el presente estudio (Mancozeb®) no fue eficiente para controlar al hongo fitopatógeno *C. gloeosporioides* bajo ninguna de las condiciones evaluadas y mostró eficiencia parcial para el control del hongo *R. stolonifer* cuando se aplicó a las 12 h posteriores a la inoculación de esporas (Figura 1B). A pesar de que algunos reportes aún sugieren el uso de este pesticida (SANTAMARÍA-BASULTO et al., 2011), previamente se ha reportado la baja eficiencia de este mismo fungicida contra hongos fitopatógenos en papaya (SALVADOR-FIGUEROA et al., 2017) y se argumenta la posible presencia de mecanismos de resistencia de estos fitopatógenos. Esta posibilidad es la más sólida puesto que el mecanismo de acción de este ditiocarbamato no sistémico está dirigido hacia la interrupción del metabolismo de los lípidos, la respiración y la producción de ATP por parte del hongo.

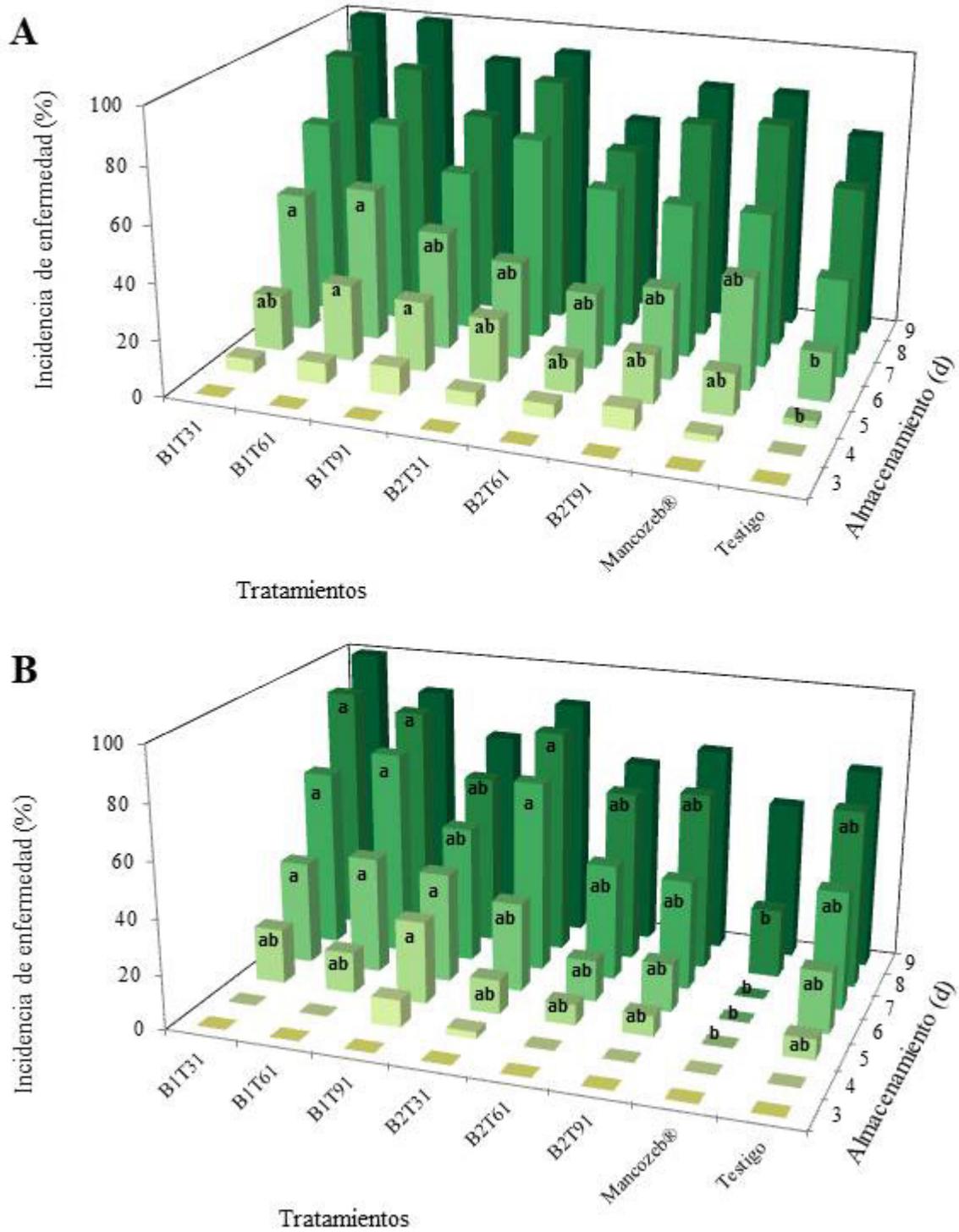


Figura 1 - Incidencia de enfermedad (IDE) causada por *C. gloeosporioides* (A) y *R. stolonifer* (B) en frutos de papaya tratados bajo diferentes procesos 12 h después de la inoculación con esporas. Letras diferentes por día denotan diferencia significativa (prueba de Duncan, $P < 0.05$). Los días donde no se encontró diferencia estadística no tienen letras.

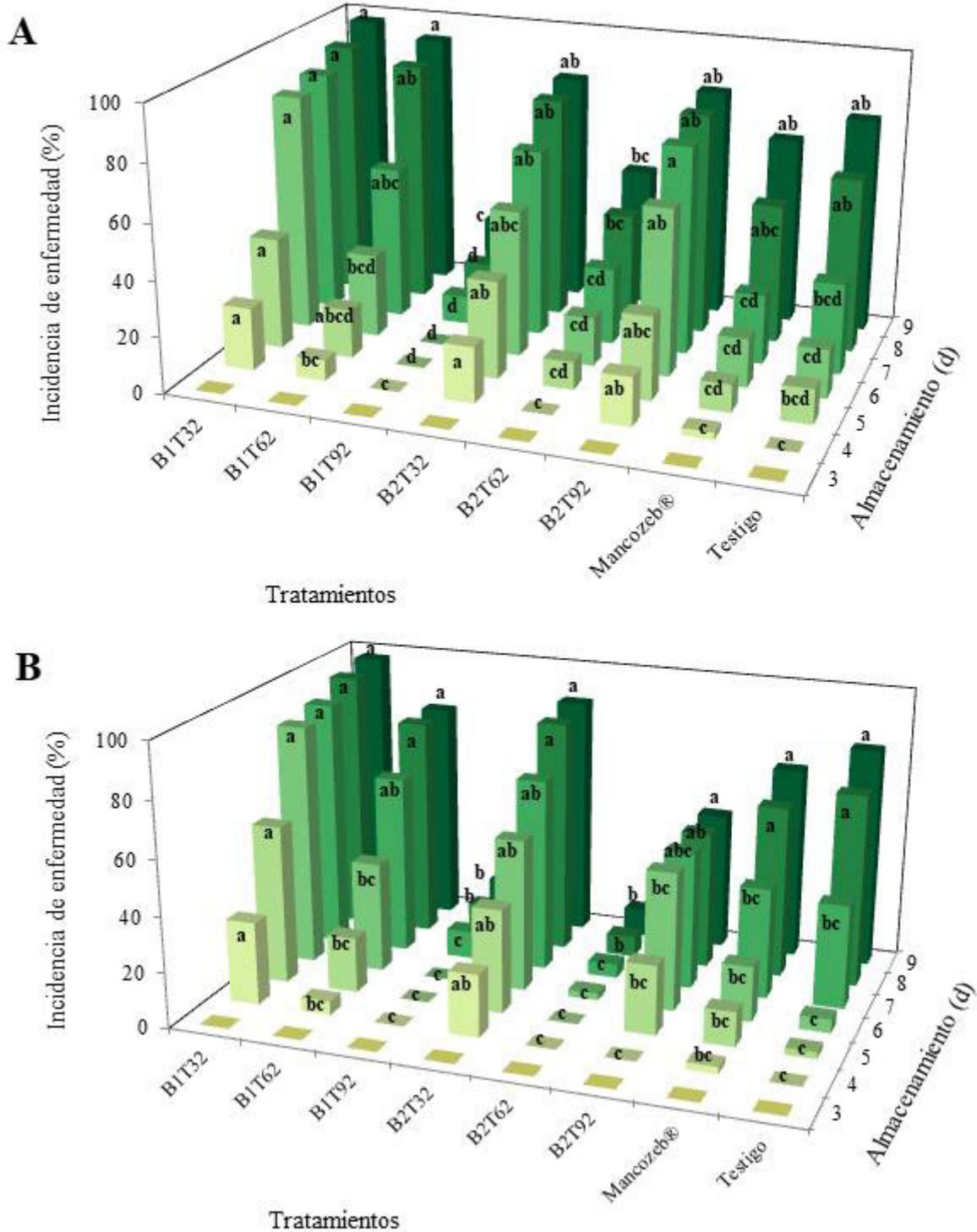


Figura 2 - Incidencia de enfermedad (IDE) causada por *C. gloeosporioides* (A) y *R. stolonifer* (B) en frutos de papaya tratados bajo diferentes procesos 24 h después de la inoculación con esporas. Letras diferentes por día denotan diferencia significativa (prueba de Duncan, $P < 0.05$). Los días donde no se encontró diferencia estadística no tienen letras.

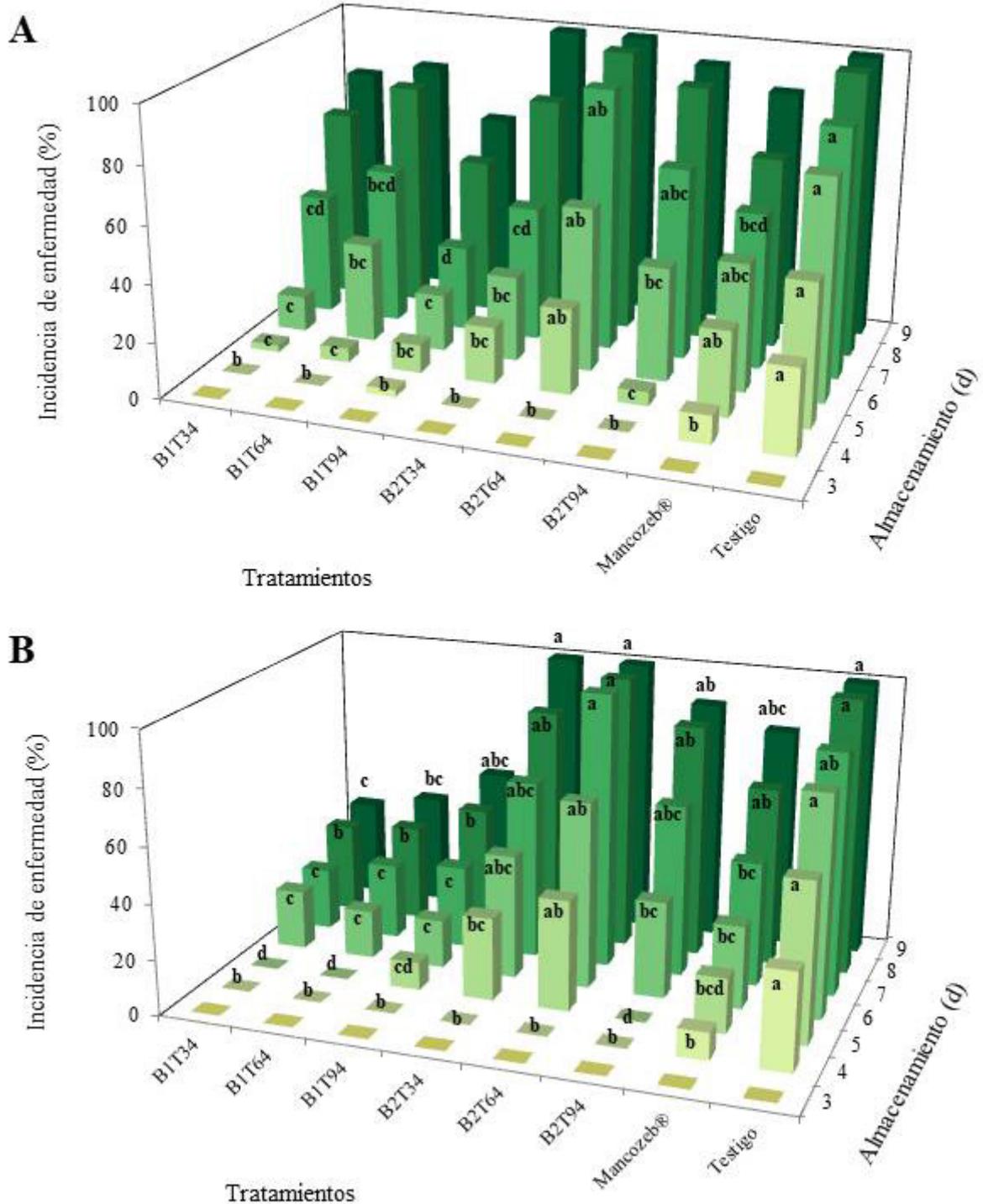


Figura 3 - Incidencia de enfermedad (IDE) causada por *C. gloeosporioides* (A) y *R. stolonifer* (B) en frutos de papaya tratados bajo diferentes procesos 48 h después de la inoculación con esporas. Letras diferentes por día denotan diferencia significativa (prueba de Duncan, $P < 0.05$). Los días donde no se encontró diferencia estadística no tienen letras.

Conclusión

Se encontró efecto antifúngico de biorecubrimientos de quitosán adicionados con aceites esenciales y aplicación de irradiación UV-C. El tratamiento BIT92 consistente biopelícula de quitosán + aceites esenciales de clavo (10 mL L⁻¹) y tomillo (10 mL L⁻¹) + dosis de irradiación UV-C (2.88 kJ m⁻²) aplicados a las 24 h después de inocular esporas de hongos resultó el más eficiente para contrarrestar la IDE, con valores de 25% en *C. gloeosporioides* y 15% en *R. stolonifer* al final del almacenamiento; así como reducir la VE de IDE. Por lo tanto, la aplicación de energía UV-C en combinación con el uso de recubrimientos de quitosán adicionadas con aceites esenciales, puede contribuir en eliminar pérdidas posteriores a la cosecha, así como reducir el uso de fungicidas sintéticos en el control de esta enfermedad en papaya variedad Maradol.

References

BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. St Paul: Burgess Publishing, 1972. 218p.

BILL, M.; SIVAKUMAR, D.; KORSTEN, L.; THOMPSON, A.K. The efficacy of combined application of edible coatings and thyme oil in inducing resistance components in avocado (*Persea americana* Mill.) against anthracnose during post-harvest storage. **Crop Protection**, Oxford, v.64, p.159-167, 2014.

BINSI, R.; RAVISHANKAR, C.N.; SRINIVASA, G. Development and characterization of an edible composite film based on chitosan and virgin coconut oil with improved moisture sorption properties. **Journal of Food Science**, Champaign, v.78, n.4, p.E526-534, 2013.

BOSQUEZ-MOLINA, E.; RONQUILLO, E.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; VERDE-CALVO J.R.; MORALES-LOPEZ J. Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.57 p.132-137, 2010.

DROBY, S.; EICK, A.; MACARISIN, D.; COHEN, L.; RAFAEL, G.; STANGE, R.; MCCOLUM G.; DUDAI, N.; NASSER, A.; WISNIEWSKI, M.; SHAPIRA, R. Role of citrus volatiles in host recognition, germination and growth of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.49 p.386-396, 2008.

DUAN, X.; JING, G.; FAN F.; TAO, N. Control of postharvest Green and blue molds of citrus fruit by application of sodium dehydroacetate. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.113 p.13-19, 2016.

FAO - Food and Agriculture Organization. **FAOSTAT online statistical service**. Disponible em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acceso em: 11 ago. 2016.

GARCIA-BENITEZ, C.; MELGAREJO, P.; DE CAL, A.; FONTANIELLA, B. Microscopic analyses of latent and visible *Monilinia fructicola* infections in nectarines. **PLoS One**, San Francisco, v.11, n.8, p.e0160675, 2016.

HAMZAH, H.M.; OSMAN, A.; TAN, C.P.; GHAZALI, F.M. Carrageenan as an alternative coating for papaya (*Carica papaya* L. cv. Eksotika). **Postharvest Biology and Technology** Amsterdam, v.75, p.142-146, 2013.

JANISIEWICZ, W.J.; TAKEDA, F.; GLENN, D.M.; CAMP, M.J.; JURICK, W.M. Dark period following UV-C treatment enhances killing of *Botrytis cinerea* conidia and controls gray mold of strawberries. **Phytopathology**, Saint Paul, v.106, n. 4, p.386-394, 2016.

LI, X.; ZHU, X.; ZHAO, N.; FU, D.; LI, J.; CHEN, W.; CHEN, W. Effects of hot water treatment on anthracnose disease in papaya fruit and its possible mechanism. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.86, p.437-446, 2013.

MANI-LÓPEZ, E.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. Effect of different sanitizers on the microbial load and selected quality parameters of “chile de árbol” pepper (*Capsicum frutescens* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.119, p.94-100, 2016.

MCKAY, S.F.; SHTIENBERG, D.; SEDGLEY, M.; SCOTT, E.S. Anthracnose on almond in Australia: disease progress and inoculum sources of *Colletotrichum acutatum*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.139, n.4, p.773-783, 2014.

MUHAMMAD, M.T.; SIJAM, K.; SIDDIQUI, Y. Effect of chitosan coatings on the physico-chemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. **Food Chemistry**, Oxford, v.124, n.2, p.620-626, 2011.

ONG, M.K.; ALI, A. Antifungal action of ozone against *Colletotrichum gloeosporioides* and control of papaya anthracnose. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.100, p.113-119, 2015.

- PAGANI, A.P.S.; DIANESE, A.C.; CAFÉ-FILHO, A.C. Management of wheat blast with synthetic fungicides, partial resistance and silicate and phosphite minerals. **Phytoparasitica**, Dordrecht, v.42, n.5, p.609-617, 2014.
- PALAVECINO-RUIZ, M.D.; ORDÓÑEZ, R.M.; ISLA, M.I.; SAYAGO, J.E. Activity and mode of action of *Parastrephia lepidophylla* ethanolic extracts on phytopathogenic fungus strains of lemon fruit from Argentine Northwest. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.114, p.62-68, 2016.
- PERDONES A., ESCRICHE, I. CHIRALT A. VARGAS M. Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on volatile profile of strawberries during storage. **Food Chemistry**, Oxford, v.197, p.979-986, 2016. Part A
- PINHEIRO, J.C.; ALEGRIA, C.S.; ABREU, M.M.; GONÇALVES, E.M.; SILVA, C.L. Evaluation of alternative preservation treatments (water heat treatment, ultrasounds, thermosonication and uv-c radiation) to improve safety and quality of whole tomato. **Food and Bioprocess Technology**, New York, v.9, n.6, p.924-935, 2016.
- SALVADOR-FIGUEROA, M.; CASTILLO-LÓPEZ, D.; ADRIANO-ANAYA, L.; GÁLVEZ-LÓPEZ, D.; ROSAS-QUIJANO, R.; VÁZQUEZ-OVANDO, A. Chitosan composite films: physicochemical characterization and their use as coating in papaya Maradol stored at room temperature. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, Al Ain, v.29, n.10, p.779-791, 2017.
- SANTAMARÍA-BASULTO, F.; DÍAZ PLAZA, R.; GUTIÉRREZ ALONSO, O.; SANTAMARÍA FERNÁNDEZ, J.; LARQUÉ SAAVEDRA, A. Control of two species of *Colletotrichum* causing anthracnose in Maradol papaya fruits. **Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas**, Texcoco, v.2, n.5, p.631-643, 2011.
- SRIPONG, K.; JITAREERAT, P.; TSUYUMU, S.; UTHAIRATANAKIJ, A.; SRILAONG, V.; WONGSAREE, W.; MA, G.; ZHANG, L.; KATO, M. Combined treatment with hot water and UV-C elicits disease resistance against anthracnose and improves the quality of harvested mangoes. **Crop Protection**, Oxford, v.77, p.1-8, 2015.
- SYAMALADEVI, R.M.; LUPIEN, S.L.; BHUNIA, K.; SABLANI, S.S.; DUGAN, F.; RASCO, B.; KILLINGER, K.; DHINGRA, A.; ROSS, C. UV-C light inactivation kinetics of *Penicillium expansum* on pear surfaces: Influence on physicochemical and sensory quality during storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.87, p.27-32, 2014.
- TERAO, D.; DE CARVALHO, C.J.S.; BENATO, E.A.; HASHIMOTO, J.M. Alternative strategy on control of postharvest diseases of mango (*Mangifera indica* L.) by use of low dose of ultraviolet-C irradiation. **Food Engineering Reviews**, New York, v.7, n.2, p.171-175, 2015.
- TEZOTTO-ULIANA, V.; POSSATI FARGONI, J.; GEERDINK, G.; KLUGE, G.M. Chitosan applications pre- or postharvest prolong raspberry shelf-life quality. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.91, p.72-77, 2014.
- TIAN, S.; TORRES, R.; BALLESTER, A.R.; VILANOVA, L.; LI, B.; GONZÁLEZ-CANDELAS, L. Molecular aspects in pathogen-fruit interactions: Virulence and resistance. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.122, p.11-21, 2016.
- USALL, J.; IPPOLITO, A.; SISQUELLA, M.; NERI, F. Physical treatments to control postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.122, p.30-40, 2016.
- WANG, L.; WU, H.; QIN, G.; MENG, X. Chitosan disrupts *Penicillium expansum* and controls postharvest blue mold of jujube fruit. **Food Control**, Oxford, v.41, p.56-62, 2014.
- XIE, L.; JOYCE, D.C.; IRVING, D.E.; EYRE, J.X. Chlorine demand in cut flower vase solutions. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.47, p.267-270, 2008.
- YU, T.; YU, C.; CHEN, F.; SHENG, K.; ZHOU, T.; ZUNUN, M.; ABUDU, O.; YANG, S.; ZHENG, X. Integrated control of blue mold in pear fruit by combined application of chitosan, a biocontrol yeast and calcium chloride. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.69, p.49-53, 2012.
- ZAHID, N.; ALI, A.; MANICKAM, S.; SIDDIQUI Y.; MAQBOOL, M. Potential of chitosan-loaded nanoemulsions to control different *Colletotrichum* spp. and maintain quality of tropical fruits during cold storage. **Journal of Applied Microbiology**, Hoboken, v.113, n.4, p.925-939, 2012.
- ZHANG, C.; CHEN, K.; WANG, G. Combination of the biocontrol yeast *Cryptococcus laurentii* with UV-C treatment for control of postharvest diseases of tomato fruit. **BioControl**, Dordrecht, v.58, n.2, p.269-281, 2013.