

Microorganismos como biocontroladores de fitopatógenos en post cosecha de cítricos

Cantillo K, Maury S, Rincón K, Vargas G.¹

RESUMEN

En los últimos años, el control biológico de enfermedades en la agricultura ha adquirido gran importancia ante los problemas fitosanitarios ocurridos por el uso indiscriminado de plaguicidas químicos, lo cual ha ocasionado severos problemas de contaminación al medio ambiente y ha generado la resistencia de plagas, así como la presencia de nuevas especies de microorganismos fitopatógenos con mayor virulencia.

El control biológico ofrece un enfoque alternativo para el control de enfermedades en plantas de cítricos, porque no sólo no dejan residuos químicos prohibidos por la mayoría de mercados internacionales, sino que ayudan a eliminar patógenos que muchas veces no pueden ser controlados por químicos.

La mayoría de los agentes biocontroladores son más difíciles de manejar y de aplicar que los antimicrobianos químicos comunes, en especial cuando es necesaria la conjunción de varios factores para que sean eficaces o ecológicamente competentes. Sin embargo, la complejidad del modo de acción de muchos agentes biocontroladores representa una ventaja sobre los productos químicos, puesto que el patógeno tendrá mayor dificultad para desarrollar resistencia hacia ellos.

A pesar de la importancia de los cultivos de cítricos en la economía de Colombia, no se han realizado suficientes estudios al respecto. Por lo tanto, se considera importante enfocarse en investigar más el control de fitopatógenos en postcosecha de cítricos porque es una manera de contribuir a la disminución de las pérdidas y obtención de un producto inocuo, como lo exigen las NTC 4087 y 1264, que establecen los requisitos mínimos de calidad de un fruto libre de enfermedades.

Palabras clave: Biocontrol, hongos, bacterias, levaduras.

Recibido: Septiembre 2018 - Aceptado: Noviembre 2018

¹ Universidad Libre Barranquilla, Programa de Microbiología.

Microorganisms as biocontrollers of phytopathogens in post harvest of citrus

ABSTRACT

In recent years, the biological control of diseases in the agriculture has acquired great importance against the phytosanitary problems caused by the indiscriminate use of chemical pesticides, which has resulted in severe pollution problems to the environment and has generated resistance in pests, as well as the presence of new species of phytopathogenic microorganisms with a greater virulence.

Biological control offers us an alternative approach for disease control in citrus plants because not only do they not leave chemical residues banned by most international markets, they help eliminate pathogens that often cannot be controlled by chemicals.

Most biological control agents are more difficult to handle and apply than common chemical antimicrobials, especially when the combination of several factors is required to be effective or ecologically competent. However, the complexity of the modes of action of many biological control agents represents an advantage over chemicals agents since the pathogen will have greater difficulty in developing resistance to them.

Despite the importance of citrus crops in the Colombian economy, there have not been enough studies on this regard. Thus it is considered important to focus on researching more about the control of postharvest phytopathogens in citrus, because it is a way to contribute to the reduction of losses and obtaining a harmless product, as required by NTC 4087 and 1264, which establish the minimum quality requirements of a disease-free fruit.

Keywords: biocontrol, fungi, bacteria, yeast.

INTRODUCCIÓN

Durante el tiempo que transcurre entre la cosecha de frutas y hortalizas y su consumo, puede producirse pérdida de su calidad debido a cambios físicos, químicos, enzimáticos o microbiológicos¹. En Colombia, las pérdidas en el periodo de postcosecha de los cítricos son elevadas².

Los tratamientos más comunes para el control de estas enfermedades son los fungicidas sintéticos; sin embargo, la aplicación masiva y continuada durante años de materias activas similares genera graves preocupaciones a los consumidores³.

Además de la aparición de cepas resistentes a fungicidas, las actuales exigencias de alimentos inocuos impulsan el uso de medidas de control alternativas con sustancias no contaminantes y de rápida biodegradación, como el uso de antagonistas microbianos⁴ (bacterias, levaduras y hongos), los cuales tienen la capacidad de ejercer un efecto de control biológico sobre diferentes patógenos de interés y se han empleado para controlar diversas enfermedades en frutos y vegetales. En los últimos años, el control biológico ha sido objeto de estudio y ha demostrado ser efectivo en el control de enfermedades postcosecha; la superficie del fruto (fructoplano) y las superficies de las hojas son los mejores lugares para el aislamiento de microorganismos antagonistas⁵.

Para seleccionar a los microorganismos antagonistas, se deben considerar las siguientes características generales: capacidad para colonizar rápidamente la superficie de los frutos y de persistir en ellas de manera efectiva; adquirir los nutrientes

con mayor eficiencia que el patógeno, y capacidad de sobrevivencia bajo diferentes condiciones ambientales. Por otra parte, se deben considerar otras características específicas del microorganismo antagonista, siendo las más importantes su estabilidad genética, efectividad a bajas concentraciones, no exigente en requerimientos nutricionales, capacidad de sobrevivir a las condiciones adversas del medio ambiente, y efectividad para un amplio rango de microorganismos patógenos en una variedad de frutos⁵.

El objetivo de esta revisión es describir los microorganismos controladores de fitopatógenos en postcosecha de cítricos.

DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

En Colombia se estima que las pérdidas en la postcosecha de cítricos oscilan entre el 12% y 25% del total de la producción, donde la manipulación y las condiciones de almacenamiento no son las más adecuadas y se dispone de muy baja tecnología (cítricos asofrucol). A esto se le adiciona el hecho de que existen plagas y enfermedades de importancia económica que han limitado la producción y el acceso a mercados especializados de los productos frutícolas frescos⁶.

Las infecciones que se producen a través de heridas superficiales infligidas durante la cosecha y posterior manipulación son causados, principalmente, por hongos patógenos tales como *Penicillium digitatum* (moho verde), *P. italicum* (moho azul) y *Geotrichum citriaurantii* (Tabla 1), los cuales representan la mayor parte de la decadencia de los cítricos en todo el mundo. La pudrición ácida causada por *Geotrichum citriaurantii*

es la enfermedad de postcosecha de más rápida propagación y puede ser desastroso en frutos almacenados a temperaturas superiores a 10°C. La pudrición ácida es más prevalente en el limón⁷.

Los tratamientos más comunes para el control de estas enfermedades son los fungicidas sintéticos; sin embargo, la aplicación masiva y continuada durante años de materias activas similares (tiabendazol, imazalil, entre otros.) ha generado graves preocupaciones en los consumidores⁸. La aparición de cepas resistentes a fungicidas y las actuales exigencias de alimentos inocuos, impulsan el uso de medidas de control alternativas con sustancias no contaminantes y de rápida biodegradación, como el uso de antagonistas microbianos⁹.

La preocupación por sus posibles efectos nocivos en fruta adquiere especial importancia si tenemos en cuenta que la fruta suele ser consumida en fresco, y la proximidad temporal entre la aplicación de los tratamientos y su consumo¹⁰. Debido al grave problema que representan los residuos de productos químicos para la salud humana, los diferentes estados, en especial los más desarrollados, han establecido una serie de límites máximos de residuos (LMR) bastante restrictivos, en muchos casos por debajo de los recomendados por el *Codex Alimentarius*.

FUNGICIDAS EN LOS CÍTRICOS

Su modo de acción puede ser protectante, si inhiben germinación de esporas, crecimiento de micelio, formación de apresorios y haustorios, o sistemático, si inhibe simultáneamente varias de estas funciones¹³.

La mayoría de los fungicidas protectantes son de acción múltiple, lo cual impide el desarrollo de resistencia a estos productos, ya que es muy difícil que el patógeno pueda bloquear todos los sitios de acción del fungicida. Sin embargo, algunos de los fungicidas protectantes son de acción específica y han generado resistencia. Su selectividad se basa en su baja capacidad de penetración, ya que en el momento en que llegasen a penetrar dentro del huésped serían igualmente tóxicos para la planta y para el patógeno¹⁴.

Además, estos productos pueden contaminar gravemente las aguas subterráneas a causa de las lluvias que arrastran dicho producto de las plantas hacia otros lugares y, por ende, puede afectar negativamente la salud de los animales que ingieran el agua¹⁵.

CONTROL BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS EN CÍTRICOS

El control biológico ofrece un enfoque alternativo para el control de enfermedades en plantas y frutas, aunque los fungicidas sintéticos son los principales controladores de las enfermedades en postcosecha¹⁶. La utilización de microorganismos antagonistas, presentes de forma natural en la superficie del fruto, se está convirtiendo en una alternativa viable en la protección de los frutos contra las enfermedades de postcosecha. Diversos microorganismos han demostrado su eficacia en el control de *P. digitatum* y/o de *P. italicum*, *P. expansum*¹⁷.

Para controlar las enfermedades de postcosecha se puede estimular y manejar antagonistas que ya existen sobre la superficie del fruto, o se puede introducir

artificialmente antagonistas contra los patógenos¹⁸. Se ha demostrado que existen antagonistas naturales en la filosfera y rizosfera de plantas que pueden suprimir el desarrollo de la enfermedad. También se ha sugerido que ciertas poblaciones microbianas existentes sobre la superficie de plantas, pueden estar en realidad bajo el control genético de la planta. Existen tres factores por los que la introducción artificial de antagonistas puede constituir un área productiva. Primero, una de las principales razones del fracaso de los agentes de biocontrol en el pasado ha sido la incapacidad para controlar las condiciones ambientales. Bajo las condiciones de almacenamiento de los productos recolectados, las condiciones ambientales están controladas. Segundo, a menudo es difícil dirigir los agentes de biocontrol hacia los lugares efectivos. Los productos recolectados no presentan este problema ya que las áreas de aplicación de los agentes de biocontrol son más limitadas de lo que puedan ser las plantas completas, por lo que se hace más fácil dirigir tales agentes. Tercero, el alto valor que tienen los productos recolectados puede hacer que la aplicación con los agentes de biocontrol, sea económicamente factible aunque su coste sea superior a los procedimientos habituales.

Todo antagonista en potencia para ser eficaz contra mohos de postcosecha ha de tener la habilidad de colonizar y persistir con comodidad a niveles efectivos, ser compatible con otras prácticas, procesos y productos químicos de postcosecha, ser efectivo a bajas temperaturas, y en algunos casos en condiciones de atmósfera controlada. Además, el organismo ha de ser producible a gran escala utilizando productos de bajo coste y conseguir una formulación adecuada¹⁹.

BACTERIAS BIOCONTROLADORAS DE FITOPATÓGENOS EN CÍTRICOS

***Burkholderia cepacia* y *Pseudomonas cepacia*.** La inhibición producida por *B. cepacia* frente al patógeno aumenta a medida que transcurre el tiempo, acompañado de la destrucción del micelio fúngico.

Diversos autores han responsabilizado de la inhibición y destrucción del micelio de hongos patógenos a la acción de uno o varios antibióticos producidos por bacterias. Estos autores detectaron antibióticos con un amplio espectro antifúngico producidos por *B. cepacia*, como pirrolnitrina y pioluteorina²⁰.

Se demostró que cepas de las especies *B. cepacia* producen diferentes tipos de sideróforos, los que podrían estar involucrados en el antagonismo microbiano y en la resistencia sistémica inducida (RSI) en diferentes sistemas planta-patógeno²¹.

En frutos de limón, *Burkholderia cepacia* tiene la habilidad de disminuir el desarrollo de *Penicillium digitatum*²², que se reduce a medida que el fruto cambia de coloración verde a amarilla, parámetro fisiológico que indica un avance en la maduración²³. *Burkholderia cepacia* controla *Penicillium expansum* y *Penicillium digitatum*²⁴.

***Pseudomonas syringae*.** Este patógeno es capaz de persistir sobre semillas secas y restos vegetales, activándose durante el proceso de germinación. También puede sobrevivir en la superficie de las hojas o penetrar en ellas a través estomas o heridas y crecer activamente en el apoplasto, causando enfermedad. *P. syringae* se transmite por contacto directo entre plantas y a través del

agua de lluvia o riego. El modo de acción de *Pseudomonas syringae* para el control de mohos es principalmente a través de la competencia por nutrientes y espacio, aunque la producción de syringomicina E puede también jugar un rol en el proceso de biocontrol. Esta bacteria, que afecta la germinación de conidios de la cepa resistente, sería capaz de colonizar rápidamente las heridas, inhibiendo el establecimiento del patógeno y reduciendo las tasas de infección de la enfermedad⁴.

Pseudomonas syringae controla *Penicillium expansum* y *Penicillium digitatum*⁽²⁴⁾
***Pantoea agglomerans*.** Han sido satisfactorios en ensayos de efectividad del formulado del antagonista *Pantoea agglomerans* (CPA-2) solo y en combinación con soluciones de bicarbonatos y carbonatos para el control de *Penicillium digitatum* y *P. italicum* en naranjas y mandarinas en condiciones de 20°C y en condiciones de refrigeración (3°C). El antagonista, a la concentración de 2x10⁸ UFC/ml, controla a los patógenos *Penicillium digitatum* y *P. italicum* en naranjas²⁵. Es de resaltar que la concentración de antagonista necesaria para obtener un control satisfactorio es más baja que la recomendada para la aplicación comercial del Bio-save 1000 (producto ya registrado para cítricos y comercializado en EEUU) y por consiguiente puede ser considerado viable para este agente de biocontrol para su uso comercial. El control mejora hasta el 100% cuando se adiciona bicarbonato sódico al 3 % en condiciones de 20°C y de refrigeración a (3°C)²⁶.

Pantoea agglomerans controla *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea* y *Alternaria* spp.²⁴

HONGOS BIOCONTROLADORES DE FITOPATÓGENOS EN CÍTRICOS

***Aureobasidium pullulans*.** Reside en diferentes ambientes como la superficie de los frutos desde las primeras etapas de su desarrollo hasta su madurez o en tejidos y hojas leñosas muestran una actividad preventiva contra las enfermedades fúngica en el almacenamiento de frutas y en el campo como se ha informado ampliamente sobre manzana, sobre uvas de mesa y cítricos²⁷.

La capacidad de *A. pullulans* para aumentar las actividades de β -1,3-glucanasa, quitinasa y peroxidasa, además de su capacidad conocida para competir contra el patógeno por nutrientes y espacio, puede ser la base de su actividad de biocontrol. La competencia por los nutrientes resulta ser el principal mecanismo al que se le atribuyó este efecto. Adicionalmente, también se dice que la actividad extracelular de la exoquitinasa y β -1,3-glucanasa se detectan en los principales sitios de penetración de los hongos patógenos, sugiriéndose que estas enzimas podrían estar involucradas en la actividad antagonista de este microorganismo³⁰.

Aureobasidium pullulans controla *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger* y *Penicillium digitatum*³¹.

***Trichoderma viride*.** Este hongo se destaca por ser el más utilizado para el biocontrol de patógenos fúngicos del suelo. Han mostrado potencial de biocontrol contra muchos patógenos incluyendo enfermedades causadas por *Sclerotinia minor*, *Botryosphaeria berengeriana* spp. Además, también han mostrado eficacia contra las enfermedades de *Rhizoctonia*

solani, *Pythium aphanidermatum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum*, *Gaeumannomyces graminis var. tritici*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora cactorum*, *Botrytis cinerea* y *Alternaria* spp.

Las especies del género *Trichoderma* presentan diferentes modos o mecanismos de acción que le permiten el control de los fitopatógenos. Entre estos mecanismos se encuentran la competencia por el sustrato, micoparasitismo, antibiosis, desactivación de enzimas del patógeno y resistencia inducida. Mientras mayor sea la probabilidad de que un aislamiento de *Trichoderma* manifieste varios modos de acción, más eficiente y duradero será el control sobre el patógeno, aspectos que no poseen los plaguicidas químicos³². En la acción biocontroladora de *Trichoderma viride* se han descrito diferentes mecanismos de acción que regulan el desarrollo de los hongos fitopatógenos dianas. Entre estos, los principales son la competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo y la antibiosis, los que tienen una acción directa frente al hongo fitopatógenos. Estos mecanismos se ven favorecidos por la habilidad de los aislamientos de *Trichoderma* para colonizar la rizosfera de las plantas. Otros autores han sugerido distintos mecanismos responsables de su actividad biocontroladora, que incluyen, además la secreción de enzimas y la producción de compuestos inhibidores. Además se conoce que *Trichoderma* presenta otros mecanismos, cuya acción biorreguladora es de forma indirecta³³.

Trichoderma viride controla a *Penicillium* spp y *Botrytis cinerea*³¹.

LEVADURAS BIOCONTROLADORAS DE FITOPATÓGENOS EN CÍTRICOS

Candida saitoana. Su mecanismo de acción es la competencia por espacio. En la mayoría de los reportes sobre control biológico se ha demostrado la relación entre la efectividad del antagonista aplicado y la concentración de éste. *Pichia guilliermondii*, *Debaromyces hanseii*, *Cryptococcus laurentii*, y *Candida spp* producen la formación de una red de células que cubren las células dañadas del hospedero, funcionando como una capa protectora²³.

La combinación de *Candida saitoana* con 0,2% de 2-desoxi-D-glucosa puede controlar la caries del limón y naranja. Cuando se aplica a las heridas de la fruta antes de la inoculación, la combinación de *C. saitoana* con 0,2% de 2-desoxi-D-glucosa es más eficaz para controlar la pudrición de manzana, naranja y limón causada por *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* y *P. digitatum* que Ya sea *C. saitoana* o la aplicación de una solución al 0,2% de 2-desoxi-D-glucosa sola. El aumento de la concentración de 2-desoxi-D-glucosa de 0,2 a 0,5% no mejora significativamente el control. La combinación de *C. saitoana* con 0,2% de 2-desoxi-D-glucosa es eficaz contra las infecciones establecidas hasta 24 h antes del tratamiento. Cuando se aplica dentro de las 24 h después de la inoculación, la combinación de *C. saitoana* con 0,2% de 2-desoxi-D-glucosa es muy eficaz para controlar el moho azul y el moho verde de naranja y limón. El nivel de control del moho verde fue equivalente al tratamiento con imazalil³⁴.

Candida saitoana controla *Penicillium expansum* *Botrytis cinérea*, y *Penicillium digitatum*³¹.

Pichia guilliermondii. La competencia por nutrientes y espacio, son los principales componentes en el modo de acción de las levaduras antagonistas. En cítricos el control potencial de la levadura *Pichia guilliermondii* en el sitio de infección se revierte mediante la adición de nutrientes exógenos²³.

En un estudio realizado a *P. guilliermondii* está compite por el material nutricional y el espacio vital, y no parece secretar antibióticos. Los autores concluyeron que la competencia por los nutrientes y el espacio parece ser el modo putativo de acción de esta cepa. Reportaron un resultado contradictorio al hipotetizar la participación de enzimas degradantes de la pared celular tales como b-1, 3-glucanasa en la actividad de biocontrol de *P. guilliermondii* y *P. anomala*³⁵.

Cryptococcus laurentii. *C. laurentii* es seleccionado como un antagonista debido a su rápida propagación en las heridas de la fruta y Competitividad con patógenos para la nutrición y el espacio Los estudios anteriores informaron que *C. laurentii*, por tratamiento podría reducir la incidencia de moho verde y el moho azul de naranjas. La eficacia de *C. laurentii* se asoció con la capacidad colonizar rápidamente en sitios de heridas³⁶.

C. laurentii fue seleccionado como antagonista biológico debido a su rápida propagación en heridas de frutas y competitividad con patógenos para la nutrición y el espacio. Estudios anteriores

informaron que *C. laurentii* como un tratamiento independiente podría reducir la incidencia de moho verde y el molde azul de naranjas. La eficacia de *C. laurentii* se asoció con la capacidad de colonizar rápidamente en sitios de heridas. En este estudio, la población de *C. laurentii* se incrementó considerablemente por combinación con *MeJA*, y nuestros resultados indicaron que la mejora de la resistencia a la enfermedad se asoció positivamente con la rápida propagación de *C. laurentii*³⁶.

Cryptococcus laurentii controla *Penicillium spp.* y *Botrytis cinerea*³¹.

CONCLUSIONES

En los últimos años el control biológico de plagas y enfermedades en la agricultura ha adquirido gran importancia frente a los problemas fitosanitarios ocurridos por el uso indiscriminado de plaguicidas químicos en la agricultura, lo cual ha traído como consecuencia severos problemas de contaminación al medio ambiente y ha generado la resistencia de plagas y enfermedades, así como la presencia de nuevas especies de microorganismos fitopatógenos con un grado de afectación más virulento³⁷.

El control biológico nos ofrece un enfoque alternativo para el control de enfermedades en plantas y frutas³⁸. Porque además de no dejar residuos prohibidos por la mayoría de los mercados de destino de nuestras exportaciones, los biocontroladores pueden ayudar a eliminar patógenos que muchas veces no pueden ser controlados por químicos³⁹.

La mayoría de los agentes de control biológico. Son, regularmente, más difíciles de manejar y aplicar que los antimicrobianos químicos comunes, especialmente cuando es necesaria la conjunción de varios factores para que sean eficaces o ecológicamente competentes. Sin embargo, la complejidad de los modos de acción de muchos agentes de control biológico representa una ventaja sobre los productos químicos, pues el patógeno tendrá mayor dificultad para desarrollar resistencia hacia ellos⁴⁰.

En Colombia, no se han realizado estudios suficientes al respecto, por lo que decidimos enfocarnos en post-cosecha de cítricos porque es una manera de contribuir a la economía del país para disminuir las pérdidas y obtener un producto inocuo gracias a la acción de estos microorganismos biocontroladores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kyanko, M. Russo, M. Fernández, M. Pose, G. Efectividad del Ácido Peracético sobre la reducción de la carga de Esporas de Mohos causantes de Pudrición Poscosecha de Frutas y Hortalizas. *Información Tecnológica* Vol. 21(4), 125-130 (2010).
2. Universitaria Lasallista. CÍTRICOS: CULTIVO, POSCOSECHA E INDUSTRIALIZACIÓN. 2012. Disponible en: http://www.asohofrucol.com.co/archivos/biblioteca/biblioteca_211_Publicacion-CitricosCultivoPoscosechaeIndustrializacion.pdf
3. Visintin, G., Fálco, L., García, B. Manejo de mohos poscosecha de cítricos mediante antagonistas microbianos. 2010. *CIENCIA, DOCENCIA Y TECNOLOGÍA*. XXI (40): 187-214.
4. Hernández, A. N., Bautista, S., Velázquez, M., & Hernández, A. Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades postcosecha en frutos. (2007). *Revista mexicana de fitopatología*, 25(1), 66-74.
5. Consejo Nacional de Política Económica y Social (Internet). Conpes 3514: Política Nacional Fitosanitaria Y De Inocuidad Para Las Cadenas De Frutas Y De Otros Vegetales. 2008.
6. Ghaouth, A., Wilson, C., Wisniewski, M., Droby, S., Smilanick, J., Korsten, L. *Biological Control of Postharvest Diseases of Citrus Fruits*. 2002. 1.
7. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. *MANUAL TÉCNICO BUENAS PRÁCTICAS AGRÍCOLAS-BPA*. 2007.
8. García, C., Cury, K., Dussán, S. Comportamiento Poscosecha y Evaluación de Calidad de Fruta Fresca de Guayaba en Diferentes Condiciones de Almacenamiento. 2011. *Rev.Fac.Nal. Agr.Medellín* 64(2): 6207-6212.
9. Icontec. Norma Técnica Colombiana 4087, Limón Tahití. 1997.
10. Nucci, S. Análisis de prefactibilidad para el procesamiento de frutas tropicales en el Atlántico. *Revista Económicas CUC*. 2013; Vol. 34, No. 1: 153-182.

11. Zea, L. Cítricos (Internet). 2012. (Citado 20 de Oct. de 2016) disponible en: <http://tecnicitrico.blogspot.com.co/>
12. Técnico del Instituto Agronómico Nacional (IAN) (internet), Caacupé TECNICAS Y CUIDADOS APROPIADOS ASEGURAN LA PRODUCCION. (Citado 20 de Oct. de 2016) disponible en: <http://www.lni.unipi.it/stevia/Suplemento/PAG36006.HTM>
13. Montealegre, J. Control Biológico de Enfermedades de Plantas en América Latina y el Caribe. University of Chile. 2014.
14. Borrás, A.D and Aguilar, R.V. Biological control of *Penicillium digitatum* by *Trichoderma viride* on postharvest citrus fruits. International Journal of Food Microbiology 1990.
15. Salvador, A. Navarro, P. Martínez, J. Tecnología poscosecha de cítricos. México. 2007. Disponible en: http://www.concitver.com/XI%20simposium/MEMORIAS/7%20Alejandra%20Salvador_IVIA_ESPA%C3%91A/TEXTO_MEXICO_07.pdf
16. Tafur Reyes, R. Toro Mesa, J.C. Jiménez, J. Barrios, D.C. Solano, O. Plan Frutícola Nacional: Desarrollo de la Fruticultura en el Atlántico. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. 2006. 10-11.
17. Trujillo, I., Díaz, A., Hernández, A., & Heydrich, M. Antagonismo de cepas de *Pseudomonas fluorescens* y *Burkholderia cepacia* contra hongos fitopatógenos del arroz y el maíz. (2007). *Revista de Protección Vegetal*, 22(1), 41-46.
18. Ezziyyani, M., Sánchez, C. P., Requena, M. E., Ahmed, A. S., & Castillo, M. E. C. Evaluación del biocontrol de *Phytophthora capsici* en pimiento (*Capsicum annum* L.) por tratamiento con *Burkholderia cepacia*. In *Anales de Biología*. (2004). (No. 26, pp. 47-59).
19. Bautista, S. El control biológico en la reducción de enfermedades poscosecha en productos hortofrutícolas: uso de microorganismos antagonico. (2006). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 8, núm. 1: 1-6. .
20. Lara Rodríguez, E. Aislamiento y caracterización de levaduras antagonistas de hongos fitopatógenos post-cosecha de cítricos (Doctoral dissertation). (2008).
21. Hernández-Montiel, L. G., Holguín-Peña, J., López-Aburto, M. G., & Troyo-Diéguez, E. Control poscosecha de *Geotrichum citri-aurantii* en el limón mexicano. (2011). (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) mediante levaduras marinas y epífitas. *Universidad y ciencia*, 27(2), 191-198.
22. Viñas, I. Teixidó, N. Abadías, M. Torres, R. Usall, J. Alternativas a los fungicidas de síntesis en el control de las enfermedades de poscosecha de frutas. (2006) Usall Área de Poscosecha, CeRTA, Centro UdL-IRTA, Rovira Roure 191, 25198- Lleida.
23. Muñoz M, Moline M, Libkind D comparación de técnicas para el aislamiento y recuento de levaduras

- y hongos dimórficos del filoplano de *nothofaguspumilio*.(2013).Laboratoriode Microbiología Aplicada y Biotecnología, INIBIOMA: Universidad Nacional Del Comahue – CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas). Bariloche, Argentina.
24. Houben, M. Ballester, M. de la Fuente, A. Harries, B. Marcos, E. González, J. Gabaldón, L. «Genome sequence of the necrotrophic fungus *Penicillium digitatum*, the main post-harvest pathogen of citrus». (2012). BMC genomics. 13: 646
 25. Tecnicoagrilo.es. Enfermedades o patógenos más importantes en postcosecha de cítricos. (2012). tomado de: <http://www.tecnicoagrilo.es/etiqueta/citricos-penicillium-digitatum-moho-verde/>.
 26. Infante, D. Martínez, B. González, N. Reyes, Y. MECANISMOS DE ACCIÓN DE Trichoderma FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS, 2009.
 27. El-Ghaouth, A., Smilanick, J. L., Wisniewski, M., and Wilson, C. L. 2000. Improved control of apple and citrus fruit decay with a combination of *Candida saitoana* and 2-deoxy-D-glucose. Plant Dis. 84-249-253.
 28. Lahlali, R. Hamadi, Y. El guilli, M. Haissam, M. Efficacy assessment of *Pichia guilliermondii* strain Z1, a new biocontrol agent, against citrus blue mould in Morocco under the influence of temperature and relative humidity. ELSEVIER. (2011). Biological Control 56 217–224.
 29. Guoa, J., Fang, W., Lua, H., Zhua, R., Lua, L., Zhenga, X. Inhibition of green mold disease in mandarins by preventive applications of methyl jasmonate and antagonistic yeast *Cryptococcus laurentii*. (2014). Postharvest Biology and Technology. Vol 88 (72-78).
 30. Carrión, Á. R. R. Uso de microorganismos antagonistas y sustancias naturales como una alternativa ecológica en el control de enfermedades en cultivos. (2012). *centro de biotecnologia*, 32.
 31. Hernandez, A. Ruíz, Y. Guerrero, Miguélez, Y. Heydrich, M. Antagonistas microbianos para el manejo de la pudrición negra del fruto en *Theobroma cacao L*: estado actual y perspectivas de uso en Cuba. (2011). Revista de Protección Vegetal, 29 (1), 11-19.
 32. Fernández, X. Ortega, A. Uso de biocontroladores, una tendencia al alza. 2013. Rev. Mercurio. Disponible en: <http://www.elmercurio.com/Campo/Noticias/Noticias/2013/05/29/Uso-de-biocontroladores-una-tendencia-al-alza.aspx>
 33. Villamil, J. Viteri, S. Villegas, W. Aplicación de antagonistas microbianos para el control biológico de *Miniliophthora roreri* Cif & Par en *Theobroma cacao L*. Bajo condiciones de campo. (2015). Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín, 68 (1): 7441-7450.

Anexo 1.

Tabla 1. Patógeno con su porcentaje de perdida en poscosecha de cítricos

Patógeno	Porcentaje de pérdida.
<i>Penicillium digitatum</i>	55-80%
<i>Penicillium italicum</i>	2-30%
<i>Geotrichum citriauranti</i>	2-3%

Fuente: Salvador, A. Navarro, P. Martínez, J. Tecnología poscosecha de cítricos. 2007.