

EFEECTO DE LEVADURAS ANTAGÓNICAS
Y BICARBONATO DE SODIO SOBRE
Penicillium expansum Link EN
DOS VARIEDADES DE MANZANA

L. Soto-Muñoz; R. A. Martínez-Peniche
División de Estudios de Posgrado. Facultad de Química,
Universidad Autónoma de Querétaro,
Centro Universitario s/n, Colonia las Campanas,
Querétaro, Querétaro, C. P. 76010, MÉXICO. Tel y Fax +52 (442) 1-92-13-
04.
Correo-e: alvar@uaq.mx (Autor responsable)

RESUMEN

El uso de fungicidas químicos para el control de *Penicillium expansum* Link en manzanas en poscosecha no es del todo aceptado, por lo que se trabaja con microorganismos antagónicos como las levaduras que al tener una efectividad limitada se combinan con sustancias de origen natural para elevar su efecto antagónico. Con este propósito, se usaron cepas de levaduras, en combinación con bicarbonato de sodio (BCS) para el control de *P. expansum* en manzanas (*Malus domestica* Borkh) 'Golden Delicious' y 'Red Delicious'. Se trataron con tres concentraciones de BCS (0, 2 y 4 % p/v) y se inocularon con una concentración conocida de diez levaduras antagónicas, por separado, en heridas donde posteriormente se colocó una suspensión de esporas de *P. expansum* (1×10^4 UFC), midiéndose el diámetro de la lesión y la incidencia después de 10 días de incubación. 'Red Delicious' resultó menos sensible a *P. expansum* que 'Golden Delicious' (diámetro de lesión de 1.52 vs. 2.01 cm). Las levaduras con mayor poder antagónico sobre el hongo fueron 22-218, 8-121 y 26-224 (*Torulasporea* spp) que redujeron el desarrollo del hongo en 89, 81.8 y 84.3 %, respectivamente a los 10 días de incubación. El BCS 4 % no inhibió el crecimiento del hongo, pero a 2 % potenció el efecto antagónico de las levaduras 23-61 y 3-5241 en 26.4 y 23.1 %, respectivamente. La levadura 22-218 fue la más sobresaliente contra *P. expansum* en 'Golden Delicious' reduciendo 99.5 % el diámetro de la lesión; mientras que las levaduras 22-224 y 8-121 lo fueron en 'Red Delicious' disminuyendo un 91.7 y 91.0 %, respectivamente.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: *Malus domestica* Borkh, Pudrición azul, control biológico, 'Red Delicious', 'Golden Delicious'.

EFFECT OF ANTAGONIC YEASTS AND SODIUM BICARBONATE
ON *Penicillium expansum* Link IN TWO APPLE VARIETIES

ABSTRACT

As the use of chemical fungicides to control postharvest diseases of apple as *Penicillium expansum* Link is not entirely accepted, antagonist microorganisms as yeasts are employed. However, due to their limited effectiveness they are proposed to be combined

with substances of natural origin. To evaluate the efficacy of different strains of antagonistic yeasts in combination with sodium bicarbonate (SBC) to control *P. expansum*, 'Golden Delicious' and 'Red Delicious' apples were treated with three levels of SBC and inoculated with a given concentration of ten antagonistic yeasts separately in wounds where a spore suspension of *P. expansum* (1×10^4 UFC), was then placed. Lesion diameter and incidence were measured after ten days of incubation. 'Red Delicious' was less susceptible to *P. expansum* than 'Golden Delicious' (diameter lesion of 1.52 cm vs 2.01 cm). Yeasts with the highest antagonist capacity on *P. expansum* were 22-218, 8-121 y 26-224 (*Torulaspota* spp) reducing the development of fungus in 89, 81.8 y 84.3 % respectively. SBC did not reduce the development of fungus, but at 2 % it enhanced the antagonistic effect of yeasts 23-61 and 35241 in 26.4 y 23.1 % respectively. Yeast 22-218 showed the major antagonism against *P. expansum* in 'Golden Delicious' diminishing the lesion diameter at 0.1 cm, while yeasts 22-224 and 8-121 did in 'Red Delicious' diminishing injury in 91.7 and 91% respectively.

ADDITIONAL KEY WORDS: *Malus domestica* Borkh, Blue mold, biological control, 'Red Delicious', 'Golden Delicious'

Recibido: 11 de marzo, 2009 Revista Chapingo Serie Horticultura 15(2): 211-216, 2009.

Aceptado: 24 de julio, 2009

INTRODUCCIÓN

Las principales variedades de manzana (*Malus domestica* Borkh) establecidas en el estado de Querétaro, México; 'Golden Delicious' y 'Red Delicious' (González-Orta et al., 2005), maduran cuando el mercado nacional se encuentra saturado, lo que provoca que se comercialicen a precios muy bajos (Mendoza-López et al., 2006). Una alternativa para el mejor aprovechamiento del producto es su almacenamiento en frío, pero puede sufrir daños causados por el hongo *Penicillium expansum* Link responsable de la pudrición azul (Hernández-Lauzardo et al., 2007). Este patógeno infecta al fruto a través de heridas causadas durante la cosecha y el empaque. Los frutos atacados presentan áreas con pudriciones blandas, acuosas y de color marrón claro. La superficie de las lesiones más antiguas puede estar cubierta por esporas de color verde-azulado, que inicialmente son de color blanco (Franck et al., 2005).

El principal método utilizado para reducir esta pudrición es el uso de fungicidas de síntesis química (Hernández-Lauzardo et al., 2007), alternativa no del todo aceptada debido a los daños al medio ambiente, a los riesgos en la salud humana (Francés et al., 2006) y a la formación de cepas resistentes al fungicida (Ghosoph et al., 2007). El control biológico constituye una alternativa eficaz al uso de fungicidas químicos para reducir las pudriciones de frutas y hortalizas en poscosecha, puesto que es un medio de lucha que respeta el medio ambiente. Además, los microorganismos antagónicos no son patógenos para el ser humano y pueden ser más persistentes durante el almacenamiento que los productos químicos (Spadaro y Gullino, 2004). Un gran número de bacterias y levaduras han sido aisladas y utilizadas como agentes antagonistas de diferentes patógenos de interés para controlar la pudrición azul en manzana (Qin et al., 2006; Torres et al., 2006). En México, Sánchez-Ventura et al. (2008) demostraron la capacidad antagónica contra *P. expansum* de cepas de *Candida incommunis*, *Cryptococcus albidus* y *Debaryomyces hansenii* aisladas de la superficie de manzanas provenientes de la Sierra de Querétaro. Sin embargo, la aplicación de microorganismos antagónicos por sí sola no proporciona un control comparable al de los fungicidas químicos (Droby et al., 2003), mientras que la combinación de agentes antagónicos con sustancias exógenas inocuas, como el quitosano, aminoácidos, antibióticos, sales de calcio o bicarbonato ha incrementado el nivel de protección contra *P. digitatum* y *P. italicum* en naranjas (Montesinos et al., 2006). Además de que son pocos los obstáculos para la regulación de su uso, la mayoría de estos aditivos se encuentran clasificados y reconocidos como seguros ("GRAS") por la Administración

de Alimentos y Drogas (FDA por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos (Dorria et al., 2007). Estudios previos muestran que la combinación de agentes antagónicos con bicarbonato de sodio (BCS) realza el efecto inhibitor sobre

P. digitatum y *P. italicum* en limón (Smilanick et al., 1999), naranja y mandarina (Torres et al., 2007) y de *P. expansum* en pera (Yao et al., 2004). Aparentemente no existe información bibliográfica sobre el control de podredumbres en poscosecha empleando levaduras antagonistas y BCS en función de la variedad de manzana. Por ello, el objetivo del presente estudio fue evaluar la eficacia de diferentes cepas de levaduras antagonistas en combinación con BCS contra *P. expansum* en dos variedades de manzana en poscosecha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se cosecharon manzanas 'Golden Delicious' y 'Red Delicious' en madurez fisiológica en un huerto semicomercial establecido en la comunidad de 'El Suspiro', Cadereyta, Querétaro, México, y fueron almacenadas a 4 °C y 90 % de humedad relativa (HR) durante una semana.

La cepa de *P. expansum* (CFNL2016) utilizada en el presente estudio fue aislada de manzana 'Golden Delicious' y seleccionada por su elevada virulencia (Sánchez-Ventura et al., 2008). Ésta se mantuvo en Agar Papa Dextrosa (APD) a 4 °C, y cada dos meses se multiplicó en jugo de manzana para mantener su virulencia (Usall et al., 2001).

Se utilizaron en el presente trabajo diez cepas de levadura (Cuadro 1) aisladas de la superficie de manzana cuya capacidad antagónica fue demostrada en estudios previos (Sánchez-Ventura et al., 2008). Los cultivos de levaduras se mantuvieron a 4 °C en medio NYDA (8 g de caldo nutritivo, 5 g de extracto de levadura, 10 g de glucosa, y 20 g de agar, en 1 litro de agua destilada) hasta su utilización.

Preparación de los inóculos

Las esporas de *P. expansum* fueron colectadas a partir de cultivos con dos semanas de incubación a 25 °C

CUADRO 1. Cepas de levaduras utilizadas como antagonistas para el control de *P. expansum*.

Cepa	Especie
5-vtt	<i>Candida incommunis</i>
38-432	<i>Debaryomyces hansenii</i>
35-111	<i>Cryptococcus albidus</i>
4-bco	<i>Pichia membranaefaciens</i>

26-224 *Torulaspora* spp.
22-211 *Pichia guillermoundii*
3-5241 *Saccharomyces boulardii*
22-218 No identificada
8-121 No identificada
23-61 No identificada

Fuente: Sánchez-Ventura et al. (2008).

Efecto de levaduras...

mediante inmersión del cultivo en agua destilada estéril conteniendo 5 mL·litro⁻¹ de Tween 80, posteriormente se filtró a través de dos capas de gasa de algodón esterilizada (Qin et al., 2006). El conteo de esporas se efectuó empleando la cámara de Neubauer, para ajustar la concentración de esporas a 10⁴ conidios·mL⁻¹ (Torres et al., 2007).

Las levaduras se activaron inoculando una asada proveniente de una colonia en matraces Erlenmeyer de 250 mL conteniendo 50 mL de caldo NYDB (NYDB: medio NYDA sin el agar). Los matraces fueron incubados a 26 ± 1 °C por 48 a 72 h en agitación constante a 200 rpm (Usall et al., 2001). Después de la incubación, las células fueron centrifugadas a 8,040 g por 10 min y lavadas dos veces con diluyente de peptona hasta remover el medio. Después del segundo lavado, las células se resuspendieron en 50 mL de agua destilada y se realizó un recuento en la cámara de Neubauer ajustando su concentración a 10⁷ UFC·mL⁻¹ (Nunes et al., 2002); el número de células viables se determinó mediante la técnica de extensión en superficie en medio NYDA a 26 ± 1 °C.

Bioensayo

Un total de 330 manzanas 'Golden Delicious' y 'Red Delicious' fueron desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio a 15 g·litro⁻¹ durante 30 segundos y se dejaron secar bajo flujo laminar. Éstas fueron heridas en su zona ecuatorial con cuatro perforaciones equidistantes (3 mm por lado). Los frutos fueron sumergidos en 0, 20 o 40 g·litro⁻¹ de solución de BCS (NaHCO₃ J. Baker Co., EE.UU.) durante (0, 2 y 4 %) 2 min a 20 ± 1 °C. Posteriormente, los frutos se secaron bajo flujo laminar y en cada herida se depositaron 25 µL de la suspensión de una u otra levadura (250,000 células) (Qin et al., 2006). Una hora más tarde las heridas se inocularon con 20 µL de la suspensión de esporas de *P. expansum* (200 esporas) y, después de secar las heridas, los frutos fueron colocados en frascos de plástico desinfectados con etanol a 700 mL·litro⁻¹ e incubados a 25 ± 1 °C con 90 ± 5 % HR.

Análisis estadísticos

El diseño experimental fue completamente al azar con cinco repeticiones en un arreglo trifactorial, siendo los factores de estudio el cultivar de manzana, la levadura y la concentración de BCS; la unidad experimental fue una manzana. Las variables evaluadas fueron: a) el diámetro de la lesión (severidad) después de 6, 8 y 10 días de incubación y, b) el porcentaje de heridas infectadas (incidencia) después de 10 días de incubación. Se realizó análisis de varianza y la prueba de medias de Tukey-Kramer, utilizando el

programa estadístico JMP (SAS Institute, versión 5.0.1, Cary N.C.) (Castaño y Domínguez, 2001).

CUADRO 2. Valores "F" y significancia estadística en el análisis de varianza para el diámetro de la lesión (severidad) y el porcentaje de heridas infectadas (incidencia) de los efectos principales (cultivar, levadura y BCS) y sus interacciones durante el desarrollo de *P. expansum* en manzanas 'Golden Delicious' y 'Red Delicious'

Factor	Diámetro de la lesión (cm)	6 días	8 días	10 días	Incidencia (%)			
A. Cultivar	82.81	**	94.0	**	53.3	**	122.9	**
B. Levadura	122.1	**	74.8	**	76.2	**	151.8	**
C. NaHCO ₃	12.1	**	10.2	**	14.1	**	9.9	**
Interacciones								
AxB	45.9	**	21.3	**	22.3	**	21.7	**
AxC	2.6	NS	2.2	NS	0.9	NS	0.7	NS
BxC	2.8	**	1.3	NS	1.8	*	2.8	**
AxBxC	3.7	**	2.0	**	2.3	**	3.6	**

NS, *, **; no significativo y significativo a una P = 0.05 y 0.01, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 2 se observa que el cultivar, la levadura y el BCS tienen un efecto significativo (P = 0.01) sobre el desarrollo de *P. expansum*. Además, se advierten interacciones significativas de la levadura con la variedad y el BCS.

Efectos principales

En el Cuadro 3 se observa una menor sensibilidad de 'Red Delicious' al ataque de *P. expansum* ya que desarrolló un diámetro (\emptyset) de 1.52 cm después de 10 días de incubación, mientras que en 'Golden Delicious' el valor fue de

2.01 cm. Asimismo, en 'Red Delicious' se obtuvo 17.91 % menos incidencia (41.78 vs. 59.69 % en 'Golden Delicious'). La menor sensibilidad de 'Red Delicious' puede atribuirse a que presenta mayor contenido de polifenoles que 'Golden Delicious' (2011.5 vs. 1265.2 mg·g⁻¹ en el epicarpio y 534.4 vs. 416.6 mg·g⁻¹) (Tsao et al., 2003). Se

CUADRO 3. Diámetro de la lesión (severidad) y porcentaje de heridas infectadas (incidencia) durante el desarrollo de *P. expansum* en manzanas 'Golden Delicious' y 'Red Delicious'. Valores promedio de 150 observaciones.

Cultivar	Diámetro de la lesión (cm)	Incidencia (%)
----------	----------------------------	----------------

6 días 8 días 10 días
'Red Delicious' 0.68 az 1.11 a 1.52 a 41.78 a
'Golden Delicious' 0.96 b 1.65 b 2.01 b 59.69 b
DMS 0.06 0.11 0.13 3.11

zValores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P = 0.05)

DMS: Diferencia mínima significativa

Revista Chapingo Serie Horticultura 15(2): 211-216, 2009.

sabe que los polifenoles pueden resultar en la pulpa altamente tóxicos para hongos patógenos (Thompson et al., 2007), su concentración depende del cultivar, de las condiciones ambientales y de la zona del fruto, siendo más abundantes en la epidermis (Tsao et al., 2003).

P. expansum se desarrolló rápidamente en el testigo (sin levadura) produciendo un diámetro de lesión de 2.53 cm después de 8 días (Cuadro 4), valor que resulta ligeramente menor al obtenido por Sánchez-Ventura et al. (2008) (2.92 cm al mismo tiempo de incubación). Nueve de las diez levaduras evaluadas presentaron diámetros de la lesión inferiores al testigo ($P=0.05$) después de seis días de incubación a 25 °C (Cuadro 4). Las levaduras 26-224, 22-218 y 8-121 redujeron el desarrollo del hongo en 84.3, 89.0 y 81.8 %, respectivamente después de 10 días de incubación. La levadura 26-224 correspondiente al género *Torulaspora* spp, en un estudio realizado por Sánchez-Ventura et al. (2008) inhibió en sólo 45 % el crecimiento de *P. expansum* después de ocho días de incubación a 25 °C. Por otro lado, Teixidó et al. (1999) obtuvieron una disminución de hasta 80 % en el diámetro de la lesión producido por *P. expansum* con una cepa de *Candida sake* en 'Golden Delicious'. Este resultado es muy similar al obtenido con las levaduras 26224, 22-218 y 8-121.

BCS 4 % presentó una respuesta desfavorable para el control de *P. expansum*. Además, incrementó el diámetro de la lesión en 24 % y la incidencia en 11 % con relación al testigo sin BCS después de 10 días de incubación a 25 °C (Cuadro 5). En tanto que BCS 2 % resultó similar al testigo al mismo tiempo de incubación ($P=0.05$). Los resultados

CUADRO 4. Diámetro de la lesión (severidad) y porcentaje de heridas infectadas (incidencia) durante el desarrollo de *P. expansum* en función de diferentes levaduras antagonicas en manzanas 'Golden Delicious' y 'Red Delicious'. Valores promedio de 30 observaciones

Levadura	Diámetro de la lesión (cm) 6 días	Diámetro de la lesión (cm) 8 días	Diámetro de la lesión (cm) 10 días	Incidencia (%)
8-121	0.03	0.34	0.58	15.0
22-218	0.07	0.21	0.35	9.2
26-224	0.10	0.31	0.50	7.5
3-5241	0.70	1.52	1.83	35.0
35-111	0.71	1.16	1.42	43.3
38-427	0.77	1.51	1.94	40.0
5-vtt	1.04	1.54	1.87	77.5
4-bco	1.22	1.75	2.08	80.0
23-61	1.26	1.92	2.64	56.7
22-111	1.55	2.37	2.99	96.5
Testigo	1.56	2.53	3.19	97.5
DMS	0.23	0.42	0.51	12.03

zValores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P=0.05)

DMS: Diferencia mínima significativa

CUADRO 5. Diámetro de la lesión (severidad) y porcentaje de heridas infectadas (incidencia) durante el desarrollo de *P. expansum* en función de la concentración de bicarbonato de sodio en manzanas 'Golden Delicious' y 'Red Delicious'. Valores promedio de 100 observaciones.

NaHCO ₃	Diámetro de la lesión (cm)	Incidencia (%)
6 días	8 días	10 días
Testigo	0.74 aZ	1.30 a 1.63 a 50 a
2%	0.80 a	1.29 a 1.61 a 46.8 a
4%	0.92 b	1.58 b 2.02 b 55.5 b
DMS	0.08	0.16 0.19 4.56

zValores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P=0.05)

DMS: Diferencia mínima significativa.

aquí obtenidos coinciden con Yao et al. (2004) quienes encontraron que BCS 2 % no fue efectivo en controlar la pudrición azul en pera, debido a la baja sensibilidad de *P. expansum* a este compuesto.

Interacciones

La actividad antagónica de las levaduras estudiadas varió en gran medida en función del cultivar, como se muestra en la Figura 1. En ésta podemos observar que las levaduras 35-111 y 38-427, inhibieron el crecimiento del hongo en 'Red Delicious' (diámetro de la lesión de 0.45 cm en ambas levaduras); no inhibieron apreciablemente el diámetro de la lesión en 'Golden Delicious' mostrando 1.19 y 2.57 cm, respectivamente. Situación similar se presentó con la levadura 22-224 la cual inhibió en 91.7 y 83.0 % el diámetro de lesión en 'Red Delicious' y en 'Golden Delicious', respectivamente; mientras que la 8-121 inhibió en 91 % el crecimiento del hongo en 'Red Delicious' y tan sólo en 84.0 % en 'Golden Delicious'.

3.0

'Golden Delicious'
'Red Delicious'

2.5

2.0

1.5

1.0

0.5

0.0

22-111 22-218 22-224 23-61 3-5241 35-111 38-427 4-bco 5-vtt 8-121 Testigo
Levaduras

FIGURA 1. Diámetro de la lesión producida en frutos de manzana por *Penicillium expansum* Link en presencia de distintas levaduras antagonistas en manzana 'Golden Delicious' y 'Red Delicious' después de 10 días de incubación a 25 °C valores promedio de 15 observaciones.

Efecto de levaduras...

Por el contrario, la levadura 23-61 resultó ser mucho menos efectiva en 'Red Delicious' ($\varnothing = 2.30$ cm) que en 'Golden Delicious' ($\varnothing = 1.52$ cm). Por otro lado, la levadura 22-218 mostró poder antagónico sobre los dos cultivares ($\varnothing = 0.3$ cm en 'Red Delicious' y $\varnothing = 0.1$ cm en 'Golden Delicious').

En la Figura 2 se aprecia que las levaduras 22-118 y 8-121, que habían mostrado el mejor comportamiento sobre

P. expansum, reducen significativamente su efecto antagónico cuando se combinan con BCS 4 % (de 0.14 a 0.80 y de 0.21 a 1.12 cm de diámetro de la lesión, respectivamente). Según Barre et al. (1998), valores de pH próximos a la neutralidad, ocasionados por el ion bicarbonato, pueden inhibir fuertemente el metabolismo de *Sacharomyces cerevisiae* cuando la concentración intracelular sobrepasa el intervalo de 10 a 20 mM. Por otra parte, el desarrollo de las levaduras 23-61 y 3-5241 se vio potenciado con BCS 2 %, logrando reducir, comparado con la ausencia de BCS, 26.4 y 23.1 % el diámetro de la lesión. Estas levaduras no fueron las que mejor comportamiento tuvieron contra la pudrición azul. El hecho de que ciertas levaduras se hayan visto potenciadas por BCS 2 % pudiera atribuirse a que esta sal aumenta el pH en la herida y esto les confiere un ambiente propicio para que puedan colonizar y multiplicarse rápidamente en la superficie de la misma y, subsecuentemente, inhibir al patógeno por la falta de espacio y nutrientes (Droby et al., 2002). Aquellas levaduras que no se vieron favorecidas por el incremento en el pH necesitan adaptarse al medio, manifestando una tasa de crecimiento lenta, lo cual repercute en darle mayor oportunidad al hongo de desarrollarse. Es posible que el BCS afecte directamente la viabilidad de la levadura, como en el caso de *Pantoea agglomerans*, bacteria que, al estar en contacto con BCS 2 %, redujo en más de 1,000 veces su viabilidad (Teixidó et al., 2001).

Levaduras	22-111	22-118	22-224	23-61	3-5241	35-111	38-427	4-bco	5-vtt	8-121	Testigo
Diámetro de lesión (cm)											
0											
1											
2											
3											
4											
0%											
2%											
4%											

FIGURA 2. Diámetro de la lesión producida en frutos de manzana por *Penicillium expansum* Link en presencia de distintas cepas de levadura y tres concentraciones

de bicarbonato de sodio después de 10 días de incubación a 25 °C promedio de 10 observaciones.

Los resultados aquí obtenidos con las levaduras 2361 y 3-5241 coinciden con Yao et al. (2004), quienes observaron que la actividad de *Cryptococcus laurentii* o *Trichosporon pullulans* contra pudriciones en poscosecha causadas por *P. expansum* y *Alternaria alternata* en peras se incrementó cuando las levaduras se combinaron con BCS 2 %.

CONCLUSIONES

Las manzanas 'Red Delicious' resultaron menos sensibles a *P. expansum* con relación a 'Golden Delicious'. Las levaduras con mayor poder antagónico sobre *P. expansum* fueron 8-121, 22-218 y 26-224 (*Torulaspota* spp). El BCS 4 % aumentó el desarrollo del hongo y redujo el efecto antagónico en las levaduras 22-218 y 8-121, sin embargo, BCS 2 % potenció el efecto antagónico de las levaduras 23-61 y 3-5241. Las levaduras 22-218 y 23-61 obtuvieron el mayor poder antagónico contra *P. expansum* en 'Golden Delicious', mientras que las levaduras 22-224 y 8-121 lo obtuvieron en 'Red Delicious'.

LITERATURA CITADA

- BARRE, P.; BLONDIN, B.; DEQUIN, S.; FEUILLAT, J. M.; SABLAYROLLES, J. M.; SALMON, J. M. 1998. La levure de fermentation alcoolique, pp. 414-481. In: OEnologie. Fondements Scientifiques et Technologiques. FLANZY, C. (ed.). Lavoisier, Paris Francia.
- CASTAÑO, T. E.; DOMINGUEZ, D. J. 2001. Diseño de Experimentos para el Desarrollo Tecnológico y Mejora Industrial. Jit. Press. D.F., México. 312 p.
- DORRIA, M. A.; OMAIMA, M. H.; AMIRA, A. F. 2007. Sodium bicarbonate application as an alternative control of postharvest decay of blood orange fruits. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 3(6): 753-759.
- DROBY, S.; VINOKUR, V.; WEISS, B.; COHEN, L.; DAUS, A.; GOLDSCHMIDT, E. E.; PORAT, R. 2002. Induction of resistance to *Penicillium digitatum* in grapefruit by the yeast biocontrol agent *Candida oleophila*. Phytopathology 92: 393-399.
- DROBY, S.; WISNIEWSKI, M. E.; EL-GHAOUTH, A.; WILSON, C. L. 2003. Influence of food additives on the control of postharvest rots of apple and peach and efficacy of the yeast-based biocontrol product aspire. Postharvest Biology and Technology 27(2): 127-135.

FRANCÉS, J.; BONATERRA, A.; MORENO, M. C.; CABREFIGA, J.;
BADOSA, E.; MONTESINOS, E. 2006. Pathogens
aggressiveness and postharvest biocontrol efficiency in
Pantoea agglomerans. *Postharvest Biology and
Technology* 39(3): 299-307.

FRANCK, J.; LATORRE, B. A.; TORRES, R.; ZOFFOLI, J. P. 2005. The
effect of preharvest fungicide and postharvest sulfur
dioxide use on postharvest decay of table grapes caused
by *Penicillium expansum*. *Postharvest Biology and
Technology* 37(1): 20-30.

GHOSOPH, J. M.; SCHIMIDT, L. S.; MARGOSAN, D. A.; SMILANICK, J. L.
2007. Imazilil resistance linked to a unique insertion sequen-
ce in the PdCYP51 promoter region of *Penicillium digitatum*.
Postharvest Biology and Technology 44(1): 9-18.

Revista Chapingo Serie Horticultura 15(2): 211-216, 2009.

GONZÁLEZ-HORTA, A. C.; FERNÁNDEZ-MONTES, M. R.; RUMAYORFLORES, A.; CASTAÑO-TOSTADO, E.; MARTÍNEZ-PENICHE,

R. A. 2005. Diversidad genética en poblaciones de manzano en Querétaro, México revelada por marcadores RAPD. Revista Fitotecnia Mexicana 28(2): 83-91.

HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A. N.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; VELÁZQUEZDEL VALLE, M. G.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, A. 2007. Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades postcosecha en frutos. Revista Mexicana de Fitopatología 25(1): 66-74.

MENDOZA-LÓPEZ, A. A.; KUSHAD, M.; ZAVALA-DEL ÁNGEL, I.; MARTÍNEZ-PENICHE, R. A. 2006. Efecto del número de frutos por racimo y fecha de corte en la calidad de la manzana 'Rayada'. Revista Fitotecnia Mexicana (Número especial 2): 45-50.

MONTESINOS, H. E.; PALOU, L.; PASTOR, C.; DEL RÍO, M. A. 2006. Evaluación preliminar de aditivos alimentarios para el control de las podredumbres verde y azul en postcosecha de naranja. Actas VII Simposio Nacional y V Ibérico de Maduración y Post-recolección. Innovaciones fisiológicas y tecnológicas de la maduración y post-recolección de frutas y hortalizas. Alicante, España. pp. 409-412.

NUNES, C.; USALL, J.; TEIXIDÓ, N.; ABADIAS, M.; VIÑAS, I. 2002. Improved control of postharvest decay of pears by the combination of *Candida sake* (CPA-1) and ammonium molybdate. Phytopathology 92: 281-287.

QIN, G. Z.; TIAN, S. P.; XU, Y.; CHAN Z. L.; LI, B. Q. 2006. Combination of antagonistic yeasts with two food additives for control of brown rot caused by *Monilinia fructicola* on sweet cherry fruit. Journal of Applied Microbiology 100(3): 508-515.

SÁNCHEZ-VENTURA, E.; MARTÍNEZ-PENICHE, R. A.; CASTILLO-TOVAR, J.; FERNÁNDEZ-ESCARTÍN, E. 2008. Antagonismo de levaduras nativas contra la pudrición azul (*Penicillium expansum* Link) en frutos de manzana. Revista Fitotecnia Mexicana 31(4): 359-366.

SMILANICK, J. L.; MARGOSAN, D. A.; MLIKOTA, F.; USALL, J.; MICHAEL,

I. F. 1999. Control of citrus green mold by carbonate and bicarbonate salts and the influence of commercial postharvest practices on their efficacy. Plant Disease 83(2): 139-145.

SPADARO, D.; GULLINO, M. L. 2004. State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. International Journal of Food Microbiology 91(2):185-194.

THOMPSON, F. J.; MITCHAM, J. E.; GORDO, F. M. 2007. Preparación para el Mercado en Fresco. pp. 77- 92. In: Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas. KADER, A. (ed.). 3er Ed. Universidad de California, Davis, Estados Unidos.

TEIXIDÓ, N.; USALL, J.; PALOU, L.; ASENSIO, A.; NUNES, C.; VIÑAS, I. 2001. Improving control of green and blue molds of oranges by combining *Pantoea agglomerans* CPA-2 and sodium bicarbonate. *European Journal of Plant Pathology*

107: 685-694.

TEIXIDÓ, N.; USALL, J.; VIÑAS, I. 1999. Efficacy of preharvest and postharvest *Candida sake* biocontrol treatments to prevent blue mould on apples during cold storage. *International Journal of Food Microbiology* 50(3): 203-210.

TORRES, R.; NUNES, C.; GARCÍA, J. M.; ALBADIAS, M.; VIÑAS, I.; MANSO, T.; OLMO, M.; USALL J. 2007. Application of *Pantoea agglomerans* CPA-2 in combination with heated sodium bicarbonate solutions to control the major postharvest diseases affecting citrus fruit at several mediterranean locations. *European Journal of Plant Pathology* 118: 73-83.

TORRES, R.; TEIXIDÓ, N.; VIÑAS, I.; MARI, M.; CASALINI, L.; GIRAUND, M.; USALL, J. 2006. Efficacy of *Candida sake* CPA-1 formulation for controlling *Penicillium expansum* decay on pome fruit from different Mediterranean regions. *Journal of Food Protection* 69(11): 2703-2711.

TSAO, R.; YANG, R.; YOUNG, J. C.; ZHU, H. 2003. Polyphenolic Profiles in Eight Apple Cultivars Using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51(21): 6347-6353.

USALL, J.; TEIXIDÓ, N.; TORRES, R.; DE ERIBE, X. O.; VIÑAS, I. 2001. Pilot tests of *Candida sake* (CPA-1) applications to control postharvest blue mold on apple fruit. *Postharvest Biology and Technology* 21(2): 147-156.

YAO, H.; TIAN, S.; WANG, Y. 2004. Sodium bicarbonate enhances biocontrol efficacy of yeasts on fungal spoilage of pears. *International Journal of Food Microbiology* 93(3): 297-304.

Efecto de levaduras...

