



Estrategias de control de Monilinia fructicola en huerto y Planta de Proceso



**Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile**

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

Chile es el principal productor de este tipo de fruta
ALIMENTO SALUDABLE (alto contenido de antioxidantes, potasio y fibra)

Por lo que es esperable que la demanda vaya en aumento
Especie bastante sana, pocas enfermedades la afectan (Cáncer bacterial, plateado, algunos problemas virales y entre estos la Charka, roya) muy poco la afectaba *Monilinia laxa* (la nacional) pero se presentaba una situación como más problemática con la introducción al territorio nacional de una prima hermana, **MONILINIA FRUCTICOLA**,...



Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

Situación actual de *Monilinia fructicola* en Chile

- Primera identificación 2009; 2011, detección focos SAG en RM y VI R
- Según resolución SAG, N° 6412/2012, *M. fructicola* era una plaga cuarentenaria, con control obligatorio en el territorio nacional,
- Y, en 2013, 14

RM		O'Higgins		
79*	2**	63*	15** (3)	*: 2013
Maule		Valle del Elqui		** : 2014
6*	0**	---	1**	

- Actualmente según resolución exenta SAG, N°:7897/2014 se deroga la Resolución (6.412 de 2012), que declaraba control obligatorio para la plaga "Pudrición parda de los carozos" causada por *Monilinia fructicola*,...
- Pero eso es bueno y también malo,... la idea es ir temporada a temporada bajando la presión de selección del hongo en el campo,....



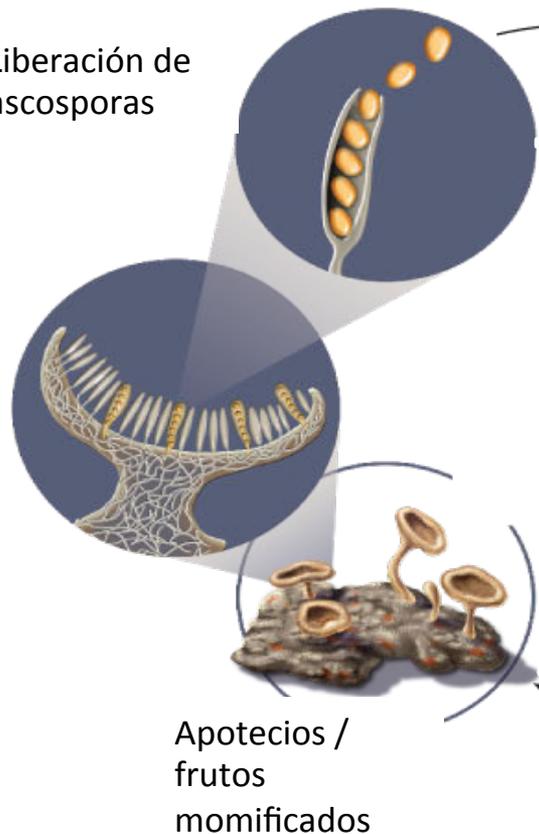
Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

Ciclo de vida de *M. fructicola*

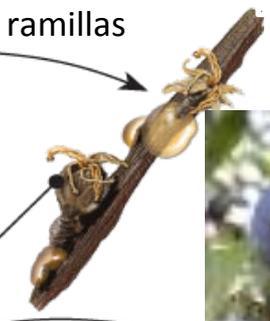
Liberación de ascosporas



Floración



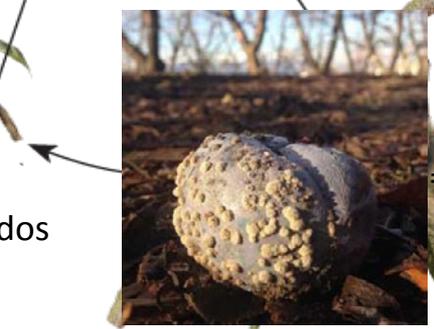
Atiznamientos de flores y canchros en ramillas



Canchros en ramillas



N ciclos asexuales/ conidias



Frutos momificados

Infecciones en frutos

Sobrevivencia

Temperatura	Horas HR Inf. flor
26 °C	2
21 °C	3
16 °C	4
7 °C	6-7
4 °C	11-12



Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

Manejo integrado

Dependiente de:

- Sistema de aplicación (canopia, cobertura,...) y del
- Nivel de sensibilidad de las poblaciones a nivel predial



Manejo Cultural:

- Cortar y remover tejido viejo infectado, ramillas con canchros y eliminar frutos momificados de la parte aérea y frutos en descomposición presentes en el piso del huerto
 - Fertilización nitrogenada balanceada...
- Evitar fertilizaciones tardías / poscosecha, ...
- Uso de var. Menos susceptibles en zonas más riesgosas y menor densidad de plantas
 - Evitar riego por aspersión
 - Tratar de no mover aire en sectores muy contaminados, primero aplicar y luego eliminar



- ***Cuándo aplicar?***

Fundamental floración, proteger desde inicio a término : inicio, 50% y plena flor Y EN PRECOSECHA CON ALGUNA MOLÉCULA BLANDA AMIGABLE,.. En general n° de aplicaciones dependerá de condición de infección en temporada previa

- ***Cómo lograr que una fruta aparentemente sana se mantenga durante y posterior al proceso de deshidratado?***



Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

Poscosecha?

- *Proceso de DESHIDRATADO,....*
- Elimina o no, el eventual inóculo que lleve la fruta?
- *Proceso de TIERNIZADO,...*
- Produce o no, algún efecto de control sobre infecciones existentes en la fruta?

Esto último fue el principal Objetivo del estudio que efectuamos en conjunto



Laboratorio de
Fitopatología Frutal y
Molecular
Universidad de Chile



Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

- Evaluar el efecto del proceso de tiernizado, como herramienta de poscosecha para el control de *Monilinia fructicola*, bajo las condiciones presentes en Chile.



- a. Determinar los niveles de infección de *Monilinia fructicola* en los diferentes tratamientos.
- b. Identificación fenotípica de todos los aislados de *Monilinia* spp., e identificación genética de un 10% de los aislados de *Monilinia* spp. recuperados posterior al proceso de tiernizado.



Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

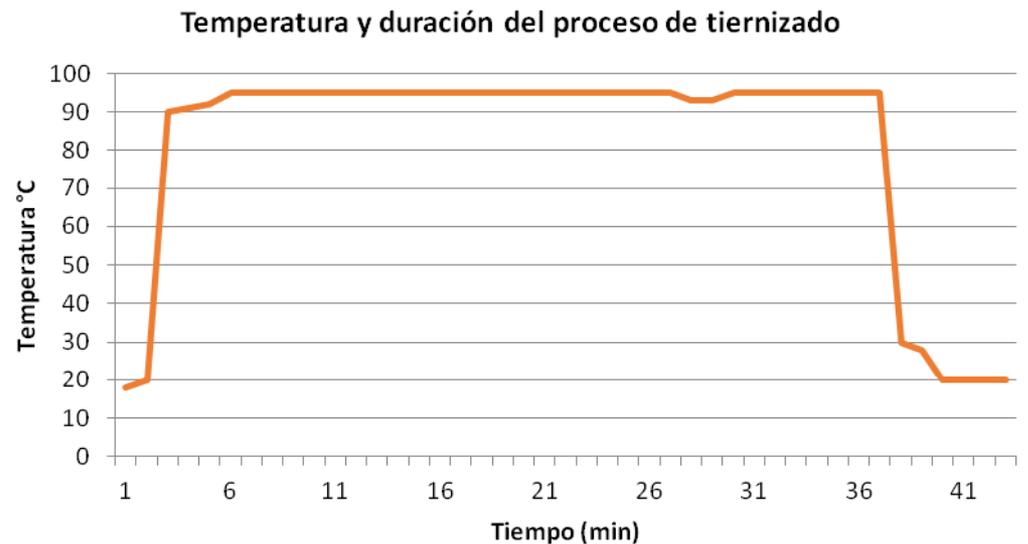
En qué consiste el TIERNIZADO?

El objetivo es rehidratar la fruta deshidratada mediante uso de vapor para obtener una humedad final entre 28 - 32% suavizando la pulpa, facilitando el descarozado y haciéndola más agradable al paladar del consumidor.

El proceso dura generalmente entre 30 y 50 minutos, la fruta alcanza luego de 3 min. 90°C.

En este ensayo se empleó un tiempo de 30 min y temperaturas fluctuantes entre 90-95°C.

Tiempo y temperaturas reales medidos mediante termocupla durante proceso



Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

Tiernizador



T. interior : 92-94°C



Tiernizado
Descarozador
Selección
Embalaje



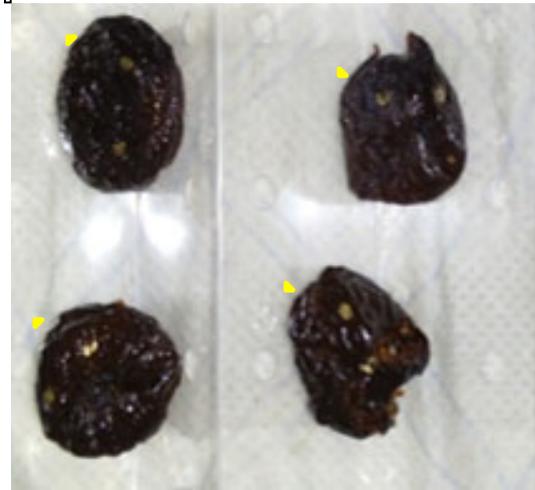
Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

- **Aislado *Monilinia fructicola* Clave: 4748-11335 caracterizado y secuenciado molecularmente por Servicio Agrícola y Ganadero (SAG)**

Primero se efectuaron varias pruebas para verificar si el hongo era capaz de desarrollarse posterior al deshidratado,...



Y no logramos que las inoculaciones prosperaran,...



Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

Por ello decidimos hacer una segunda prueba preliminar,... considerando frutos con distinta condición inicial

1. **Deshidratada (comercial, PrunESCO®):** Fruta rango 18-20% de humedad / 50-70 °Brix / con carozo
2. **Tiernizada (comercial, stand-up pouch, doypack 250 grs PrunESCO®):** Fruta con 28-30% humedad/ 50-70°Brix / descarozada.
3. **Fresca (campo):** fruta con humedad cercana al 85% y con 22-24 °Brix . Buen aspecto y condición.

Proceso a evaluar	Inoculación <i>M. fructicola</i>	Condición inicial	Tratamientos	
Pre-ensayo: Virulencia <i>M. fructicola</i> en distinta condición de frutos de ciruelo	+++	Deshidratada	T1	
		Tiernizada	T2	
		Fruta fresca	T3	
			Fruta fresca + inoc + deshidr. horno	T4
	--- (No Inoc) (NIVEL NATURAL DE CONTAMINACIÓN)		Deshidratada	T5
			Tiernizada	T6
			Fruta fresca	T7

(N= 54 frutos)



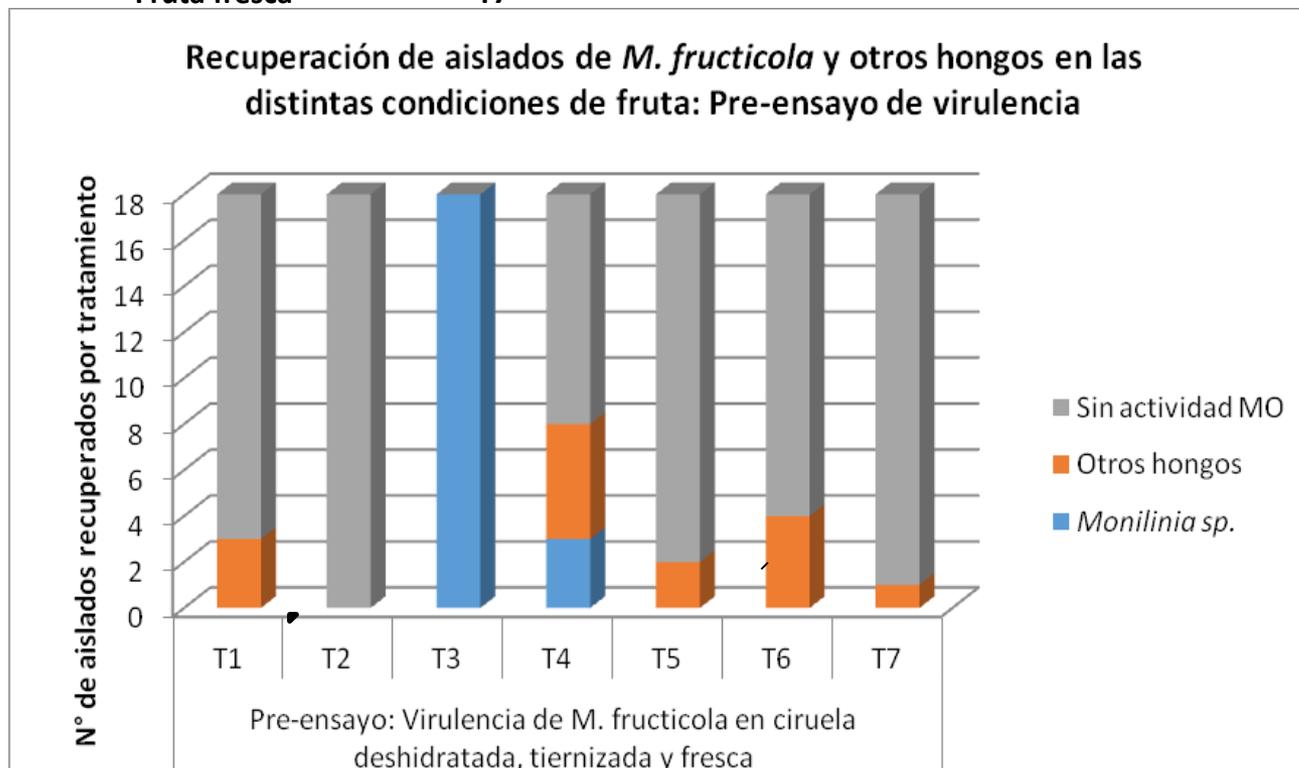
Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

Inoculación	Condición inicial	Trats.
+++	Deshidratada	T1
	Tiernizada	T2
	Fruta fresca	T3
---	FF + Inoc + Desh. Horno	T4
	Deshidratada	T5
	Tiernizada	T6
	Fruta fresca	T7
No Inoc.		

Posterior a los tratamientos la fruta se mantuvo en incubación en cámaras húmedas a 21-25°C, por un máx. de 10 días, lo que queríamos saber era sí *M. fructicola* podría prosperar en frutos de distinta condición inicial



➤ 16,6%

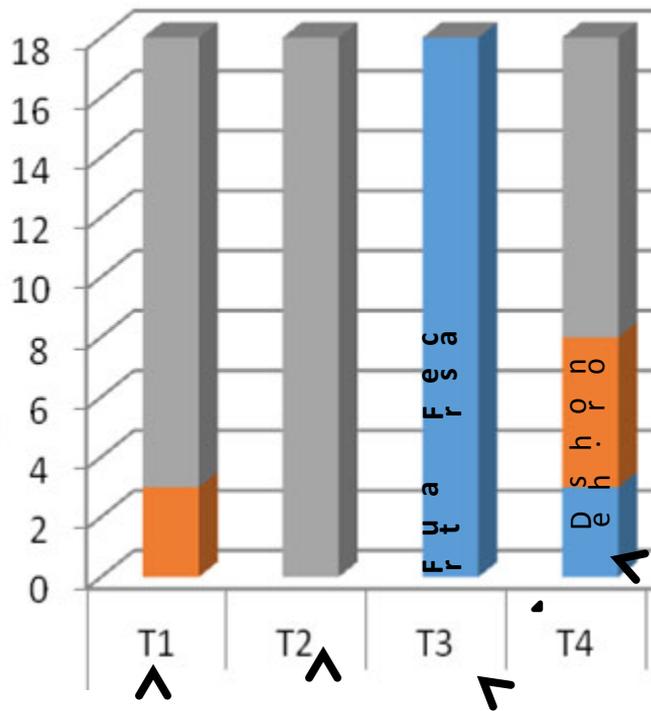
Ⓞ *Penicillium,*
Cladosporium,
Alternaria
Rhizopus



Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

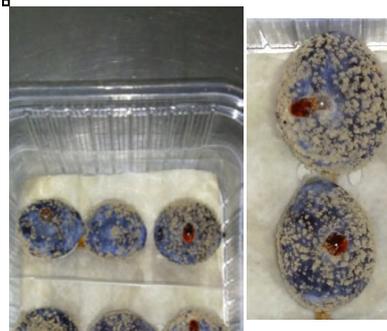
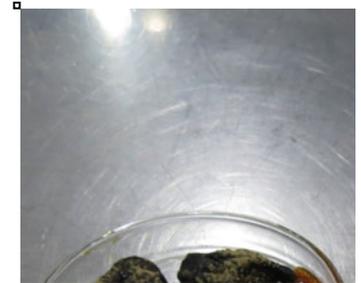
M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro



T4: fruta inoculada y deshidratada en horno, resultados previos descritos en la literatura, han mostrado que las células vegetativas y las conidias de la mayoría de los hongos son inactivados cuando son expuestos a una temperatura de 60°C por 5-10 min, siendo el fundamento para muchos de los controles térmicos empleados para inhibir el desarrollo de patógenos en fruta fresca.

Sin embargo, los resultados obtenidos difieren de lo anterior ya que luego de 36 hrs. a 65°C se logró recuperar el patógeno.



Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

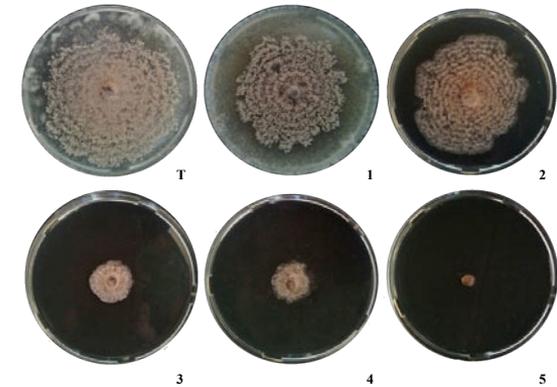
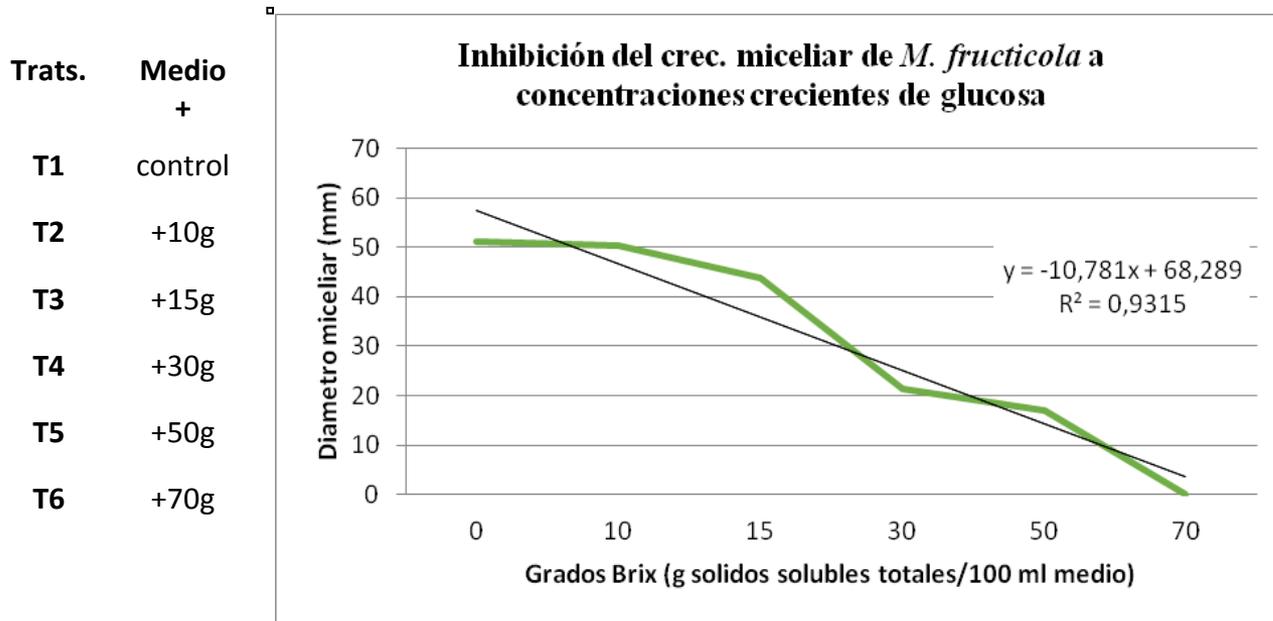
M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

A > concentración de SS ?

Ensayo en concentraciones crecientes de glucosa

< PROGRESIVA DEL CRECIMIENTO MICELIAR y casi completa al 70% / efecto similar ocurre producto del incremento de concentración de azúcares posterior al deshidratado.



Correlación lineal negativa entre concentración de azúcares (grados Brix) y diámetro de crecimiento del patógeno



Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

Con estos resultados implementamos el ensayo de eficacia del proceso de TIERNIZADO definitivo:

∴

Proceso a evaluar	Inoculación <i>M. fructicola</i>	Condición inicial	Tratamiento
Tiernizado	++++	Deshidratada (comercial)	T8
		Tiernizada (comercial)	T9
		FF + Inoc + Deshidr. horno	T10
	N.A	Micelio puro <i>M. fructicola</i>	T11
	----- No Inoc. (H ₂ O dest. Est.)	Deshidratada (comercial)	T12
		Tiernizada (comercial)	T13
		FF + Deshidr. horno	T14

54 frutos/ tratamiento; 28 fueron inoculados con *M. fructicola* y 28 con H₂O de Post-tratamiento incubación en cámaras húmedas (21±2°C / 7 días).

Verificación de sobrevivencia del patógeno (*Mf*) recuperación de inóculo en medio de cultivo puro (PDA).



Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro



Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

Inoculación con *M. fructicola*

Condición inicial

Tratamiento

Inoculada

Deshidratada (comercial)

T8

Tiernizada (comercial)

T9

FF + Inoc + Deshidr. horno

T10

N.A

Micelio puro *M. fructicola*

T11

Sin inocular

Deshidratada (comercial)

T12

Tiernizada (comercial)

T13

FF + Deshidr. horno

T14

**Todos sometidos a
proceso de Tiernizado**

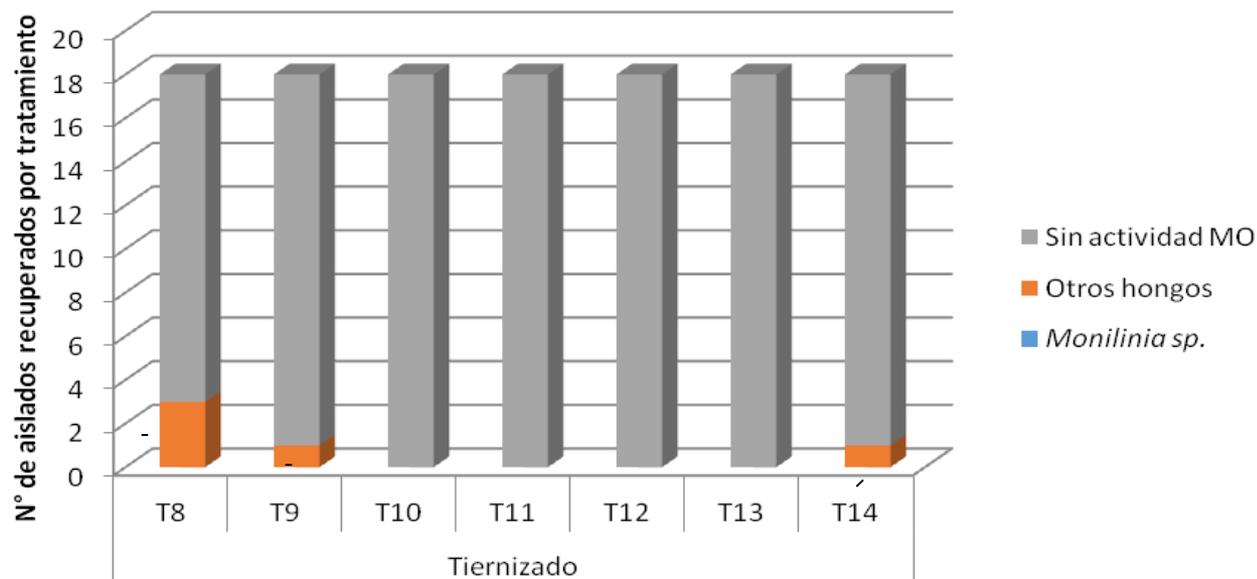
De ninguno de los
tratamientos evaluados (T8,
T9, T10, T11, T12, T13 y T14)
se recuperó micelio viable
de *M. fructicola*



Penicillium,
Cladosporium,
Alternaria,
Rhizopus



Recuperación de aislados de *M. fructicola* y otros hongos por
tratamiento post-tiernizado



M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com



Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

Consideraciones generales:

- ***POST-TIERNIZADO: Monilinia fructicola no se desarrolla en frutos deshidratados SOMETIDOS A ESTE PROCESO (evaluación efectuada hasta 10 días post-procesos)***

.... Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores que relacionan una disminución en la actividad de agua (aw) y el aumento de sólidos solubles (°Brix) con una baja en la actividad microbiológica, siendo esto uno de los fundamentos de conservación de alimentos.



**Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile**

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

- El TIERNIZADO, altas temperaturas (90-95°C) por 30 min., eliminó la viabilidad del hongo en todos los tratamientos. A la temperatura en que se realiza el proceso (90-95°C) la mayoría de las proteínas y enzimas del hongo se desnaturalizan o se inactivan, se suma a esto la pérdida de permeabilidad selectiva de membrana

→ colapso celular fúngico.

- Ni siquiera los hongos xerofílicos resistentes a altas temperaturas, soportan más de 15 min a 80°C, por lo que no existe posibilidad alguna de sobrevivencia de *Mf* posterior al proceso de tiernizado.



Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

**SEGÚN LO YA PRESENTADO, EL PROCESO DE TIERNIZADO SE PRESENTA COMO
UNA EXCELENTE HERRAMIENTA DE CONTROL DE INFECCIONES POR
Monilia fructicola PARA CIRUELA DESHIDRATADA**



Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro

Pero para lograr un control exitoso se sugiere mantener el uso de programas de control de campo que involucren moléculas eficaces (fuertes) al inicio en floración y de amplio espectro de acción hacia la precosecha, involucrando alternativas de menor efecto residual pero no por ello menos interesantes,... considerando también prácticas de sanitización de las líneas de proceso post-tiernizado que permitan eliminar los otros agentes contaminantes,....



**Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile**

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro



Gracias

4° Congreso Expo Ciruelas Secas 2014

Noviembre, 19 de 2014

M. Esterio / marcela.esterio@gmail.com



Lab. de Fitopatología Frutal y Molecular
Universidad de Chile

Un laboratorio de Investigación y Docencia al Servicio del Agro