

EFFECTO CURATIVO DE PIRIMETANIL Y FLUDIOXONIL EN EL CONTROL DE *PENICILLIUM EXPANSUM* (L.) EN MANZANA (*MALUS DOMESTICA*) CV. GRANNY SMITH UTILIZANDO CALDO DE RECIRCULADO DE PULVERIZACIÓN SOBRE LÍNEA DE EMPAQUE

Pisano, Leandro*; Prieto, Gladys; Gallardo, María; Minué, Carlos; Bachur, Nicolás

Tecnofresh SAS. Laboratorio poscosecha, Río Neuquén 991, Cipolletti, Río Negro, Argentina.

pisano@tecno-fresh.com.ar

RESUMEN: *Penicillium expansum* (L.) es uno de los principales patógenos causantes de grandes pérdidas durante la conservación de frutas frescas. Dentro de los fungicidas empleados para el control de patógenos durante la poscosecha de manzanas y peras, se resalta al pirimetanil de la familia anilino pirimidinas (FRAC 9) y al fludioxonil de la familia fenilpirroles (FRAC 12). Los sistemas de pulverización que permiten la aplicación de los tratamientos sanitarios sobre la línea de proceso, presentan una ineficiencia inherente a su diseño que modifica la eficacia de los productos utilizados. La mayoría de éstos, son del tipo hidráulico y deben garantizar la homogeneidad del caldo y de su pulverización durante toda la jornada de trabajo. Una de las mejoras que se han incorporado en estos sistemas es la posibilidad de reutilizar el caldo, lo que implica dos ventajas: una claramente económica al reducir la concentración de ingrediente activo por tonelada de fruta y la otra ambiental ya que se disminuye el desecho de caldo con residuos. En el presente estudio se utilizaron diferentes tipos de caldos recirculados antes de ser pulverizados sobre los frutos inoculados con *Penicillium expansum* (L.). Para ello los fungicidas pirimitanil y fludioxonil se recircularon por 12 horas en mezcla con concentraciones de hipoclorito de sodio (20 ml/hl) más ácido peracético (250 ml/hl) o dióxido de cloro (100 ml/hl) más ácido peracético (250 ml/hl) y 2,5 gr/hl de materia orgánica. El criterio de selección del tiempo de recirculado fue que las empresas suelen realizar el preparado de las mezclas al inicio del día y trabajar durante tres turnos continuos. Se seleccionaron 540 frutos, se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio 3,5 ml/hl durante 30 segundos. Una vez secos sobre las bandejas alveoladas se les realizó una herida en la zona ecuatorial con un punzón (2 × 3 mm). Luego se los inoculó con 20 µl de una solución de *Penicillium expansum* (L.) con una concentración del orden de 1×10³ conidios/ml. Los frutos se dejaron 12 horas a temperatura ambiente (20 °C), para permitir que las esporas comiencen el proceso de infección. Y luego se trataron por inmersión durante 30 segundos. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 9 tratamientos y 3 repeticiones de 20 frutos cada una. La variable respuesta fue el conteo de número de frutos con síntomas estimándose el porcentaje de incidencia y el porcentaje de eficacia relativa con la corrección de Abbot. Los datos se analizaron mediante un análisis de la varianza no paramétrica y la comparación de medias se realizó con el estadístico Kruskal-Wallis utilizándose el software Infostat versión 2020. Los porcentajes de eficacia relativa estuvieron entre un 96% y 100%, lo que permitió concluir que la presencia tanto de concentraciones elevadas de hipoclorito de sodio, de dióxido de cloro y de restos de materia orgánica en el agua que conforma el caldo no afecta la actividad de los fungicidas evaluados, lo que implica que son aptos para los sistemas de pulverización hidráulica con sistema de recirculado de caldo. Se observaron síntomas de fitotoxicidad en los caldos con dióxido de cloro, en todas sus repeticiones para ambos fungicidas.

PALABRAS CLAVE: tratamientos poscosecha, eficiencia aplicación, caldos recirculados.

CURATIVE EFFECT OF PYRIMETHANIL AND FLUDIOXONIL IN THE CONTROL OF *PENICILLIUM EXPANSUM* (L.) ON APPLE (*MALUS DOMESTICA*) CV. GRANNY SMITH USING RECIRCULATED SPRAY BROTH ON PACKING LINE

ABSTRACT: *Penicillium expansum* (L.) is one of the main pathogens causing great losses during fresh fruit conservation. Among the fungicides used for pathogen control during postharvest of apples and pears, pyrimethanil of the anilino pyrimidine family (FRAC 9) and fludioxonil of the phenylpyrroles family (FRAC 12) stand out. The spraying systems that allow the application of sanitary treatments on the process line present an inherent inefficiency in their design that modifies the effectiveness of the products used. Most of them are of the hydraulic type and must guarantee the homogeneity of the spray liquid and its spraying during the whole working day. One of the improvements that have been incorporated in these systems is the possibility of reusing the broth, which implies two advantages: one clearly economic by reducing the concentration of active ingredient per ton of fruit, and the other environmental, since the disposal of broth with residues is reduced. In the present study, different types of recirculated broths were used before being sprayed on fruits inoculated with *Penicillium expansum* (L.). For this purpose, pyrimethanil and fludioxonil fungicides were recirculated for 12 hours in a

Recibido: 17/11/2023; Aceptado: 4/12/2023

mixture with concentrations of sodium hypochlorite (20 mg/hl) plus peracetic acid (250 ml/hl) or chlorine dioxide (100 ml/hl) plus peracetic acid (250 ml/hl) and 2.5 gr/hl of organic matter. A total of 540 fruits were selected and immersed in a 3.5 ml/hl sodium hypochlorite solution for 30 seconds. Once dried on the honeycombed trays, a wound was made in the equatorial zone with an awl (2 x 3 mm). Then they were inoculated with 20 µl of a solution of *Penicillium expansum* (L.) with a concentration of the order of 1x10³ conidia/ml. The fruits were left for 12 hours at room temperature (20 °C), to allow the spores to start the infection process. They were then treated by immersion for 30 seconds. A completely randomized design with 9 treatments and 3 replicates of 20 fruits each was used. The response variable was the count of the number of fruits with symptoms, estimating the percentage of incidence and the percentage of relative efficacy with Abbot's correction. The data were analyzed by nonparametric analysis of variance and the comparison of means was performed with the Kruskal-Wallis statistic using Infostat software version 2020. The percentages of relative efficacy were between 96% and 100%, which led to the conclusion that the presence of high concentrations of sodium hypochlorite, chlorine dioxide and organic matter in the water that makes up the broth does not affect the activity of the fungicides evaluated, which would imply that they are suitable for hydraulic spraying systems with a broth recirculation system. Phytotoxicity symptoms were observed in the broths with chlorine dioxide in all replicates for both fungicides.

KEYWORDS: postharvest treatments, application efficiency, recirculated broths.

INTRODUCCIÓN

La región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, localizada en las provincias respectivas de Argentina, tiene una producción frutícola muy importante, principalmente representada por manzanas (*Malus domestica*) y peras (*Pyrus communis*) para el consumo en fresco. En el proceso de conservación de estos frutos, *Penicillium expansum* (L.) es uno de los principales patógenos causantes de grandes pérdidas económicas para el sector agroindustrial [1, 2, 3].

Frente a este problema es común el uso de herramientas químicas en poscosecha para el control de patógenos y dentro de los fungicidas empleados se resalta al pirimetanil de la familia anilino pirimidinas (FRAC 9) y al fludioxonil de la familia fenilpirroles (FRAC 12) [4]. Ambos fungicidas poseen un efecto curativo y preventivo sobre algunos de los patógenos más comunes en la poscosecha de manzanas y peras [5, 6, 7, 8, 9, 10, 11].

Los sistemas de pulverización que permiten la aplicación de los tratamientos sanitarios sobre la línea de empaque, presentan una ineficiencia inherente a su diseño que modifica la eficacia de los productos utilizados [5, 6, 7, 10, 11]. Frente a un fracaso en el control de una plaga o enfermedad, en la mayoría de los casos, lo primero que se cuestiona es al producto utilizado y no al sistema con el cual fue pulverizado [11]. La ineficiencia de los sistemas de pulverización reduce inevitablemente la eficacia de los tratamientos [10, 11, 12]. La mayoría de éstos, son del tipo hidráulico, por lo que requieren de una bomba que permita el movimiento del caldo preparado en el tanque hacia la zona de pulverización [11]. A su vez, deben garantizar la homogeneidad del caldo y de su pulverización durante toda la jornada de trabajo [6, 10, 11]. Dentro de las mejoras que se han incorporado en estos sistemas, está la posibilidad de reutilizar el caldo, denominados sistemas de pulverización hidráulicos con recirculado [6, 11]. Estos brindan dos ventajas: una económica debido a la utilización más eficiente de la concentración diaria de fungicida y otra ambiental por la disminución de residuo de químicos desechados con el agua del caldo [6, 11].

La mayoría de los estudios de eficacia de los fungicidas no contemplan el tiempo durante el cual éstos se mantienen en recirculado, lo que equivale a decir que no consideran el tiempo de contacto del producto formulado con el resto del caldo, el que a medida que pasa el tiempo de uso tendrá más contenido de materia orgánica y sales, modificaciones en el pH, conductividad eléctrica, diluciones por incorporación de agua con los

frutos lavados previamente, entre otros [11]. En este estudio se evaluó el efecto de la adición de desinfectantes a caldos de fludioxonil "Scholar 23SC" y pirimetanil "Pyritech 40SC" sobre la eficacia en el control de *Penicillium expansum* (L.) en manzana (*Malus domestica*) Granny Smith. Aplicados luego de permanecer en recirculación durante 12 horas.

METODOLOGÍA

Se utilizaron manzanas cv. Granny Smith con fecha de cosecha 10/03/2023, proveniente de la localidad de Lamarque, provincia de Río Negro. Los frutos se mantuvieron en almacenamiento a 0°C de pulpa, hasta su utilización.

Para la infección se utilizó una cepa de *Penicillium expansum* (L.) extraída de un fruto con los síntomas típicos de la pudrición azul, caracterizada morfológicamente en laboratorio [2, 3]. Se partió de una solución patrón con agua estéril y se realizaron diluciones hasta llegar a la concentración de conidio/ml deseada (1 x 10³ conidios/mL) evaluada en una cámara de Neubauer [5, 6, 9, 10, 11, 13].

Para simular el recirculado se fabricaron con tubos de PVC recipientes de 2 litros de capacidad con tapa, dentro del cual se colocó un aireador para permitir mantener el caldo en movimiento durante las 12 horas.

Los frutos fueron lavados con una solución de hipoclorito de sodio al 3,5% v/v durante 30 segundos. Una vez secos sobre las bandejas alveoladas se les realizó una herida en la zona ecuatorial con un punzón (2x3mm), simulando la herida de pedúnculo. Luego se los inoculó con 20 µl de una suspensión conidial de *Penicillium expansum* (L.) Los frutos se mantuvieron 12 horas a temperatura ambiente (20°C).

Los tratamientos fungicidas se aplicaron por inmersión de los frutos en los caldos durante 30 segundos, siguiendo la indicación del fabricante y se mantuvieron a 20°C de temperatura durante 10 días.

Los frutos se contabilizaron como infectados cuando en la zona de inoculación se observó alguno de los siguientes síntomas: cambio de color o de la consistencia de la pulpa, depresión de la zona y/o presencia de signos.

Los diferentes tratamientos se sortearon para seguir un diseño completamente aleatorizado (DCA), con 4 tratamientos y 3 repeticiones. Cada repetición constó de 20 frutos (una bandeja). La variable respuesta fue el conteo de número de frutos con síntomas, a partir de éstos se estimó el porcentaje de incidencia donde se utilizó la siguiente fórmula

[12]:

$$\% \text{ Incidencia} = \frac{\text{N}^\circ \text{ frutos con síntomas}}{\text{N}^\circ \text{ frutos totales}} \times 10$$

Para el cálculo de eficacia relativa se utilizó la fórmula ideada por Abbot [12]:

$$\% \text{ Eficacia} = \frac{\text{Testigo} - \text{Tratamiento}}{\text{Testigo}} \times 100$$

Donde:

- Testigo: Número de frutos con síntomas en el testigo
- Tratamiento: Número de frutos con síntomas en el tratamiento

Los datos se analizaron mediante un análisis de la varianza no paramétrica y la comparación entre medias se realizó con la prueba estadística de Kruskal-Wallis, la cual no asume normalidad, y propone como hipótesis nula que los datos provienen de la misma distribución. Para todo ello se utilizó el software InfoStat versión 2020 [14].

Tabla 1 - Tratamientos realizados.

Tratamientos	Concentraciones
T0	testigo: agua
PT1	pirimetanil 200 ml/hl
PT2	pirimetanil 200 ml/hl + dióxido de cloro 100 ml/hl + ácido peracético 250 ml/hl
PT3	pirimetanil 200 ml/hl + hipoclorito de sodio 20 mg/hl + ácido peracético 250 ml/hl
PT4	pirimetanil 200 ml/hl + materia orgánica 2,5 gr/hl
ST1	fludioxinil 200 ml/hl
ST2	fludioxinil 200 ml/hl + dióxido de cloro 100 ml/hl + ácido peracético 250 ml/hl
ST3	fludioxinil 200 ml/hl + hipoclorito de sodio 20 mg/hl + ácido peracético 250 ml/hl
ST4	fludioxinil 200 ml/hl + materia orgánica 2,5 gr/hl

RESULTADOS Y DISCUSION

Tabla2 - Número de frutos con síntomas, Incidencia y Eficacia, en el control de *Penicillium expansum (L.)* en frutos control o tratados con diferentes caldos recirculados.

Tratamiento	Nº frutos c/síntomas	%Incidencia	%Eficacia (Abbot)
1 PT0	20	100	- b
2 PT1	0,33	1,7	98,3 a
3 PT2	-	-	100,0 a
4 PT3	-	-	100,0 a
5 PT4	-	-	100,0 a
6 ST1	0,67	3,3	96,7 a
7 ST2	2,33	11,7	88,3 b
8 ST3	0,67	3,3	96,7 a
9 ST4	0,67	3,3	96,7 a

Letras diferentes indican diferencia significativa (p-level <0,05)

La cepa y la concentración de *Penicillium expansum (L.)* utilizada logró una incidencia del 100% en la fruta testigo, manifestando los síntomas típicos de la enfermedad [15].

La metodología utilizada permitió mostrar el efecto curativo con 12 horas de inoculación a 20°C, de los fungicidas Pirimetanil y Fludioxinil logrando porcentajes de eficacia entre el 96 y 100% con 12 horas de recirculado del caldo y 30 segundos de contacto entre los frutos y los tratamientos [5, 6, 8, 9, 11].

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos salvo en el ST2, el cual manifestó el menor de los porcentajes de eficacia 88,3%, no por ello despreciable. Este valor obtenido puede asociarse a que durante la preparación del caldo la mezcla formó abundante espuma y esto pudo reducir la cantidad de materia activa del tratamiento [5, 11].

CONCLUSIONES

La presencia tanto de concentraciones de hipoclorito de sodio, de dióxido de cloro, de ácido peracético y de materia orgánica en el agua que conforman el caldo no pone en riesgo la actividad de los fungicidas evaluados, bajo la metodología utilizada. Lo cual implicaría que son aptos para los sistemas de pulverización hidráulica con recirculado de caldo. Esto no coincide con una publicación de Adaskaveg [6] donde menciona que la eficacia del Pirimetanil se ve disminuida por la presencia de cloro. Un aspecto que debería reevaluarse es el tiempo de contacto de los frutos con el caldo y el método de aplicación [7, 9, 10, 11]. Las recomendaciones de marbete deberían contemplar los tiempos de contacto que ocurren en la práctica, los cuales no suelen ser mayores a los 10 segundos [11].

A los 7 días de estar a temperatura ambiente se observaron síntomas de fitotoxicidad en los tratamientos con dióxido de cloro, manifestándose unas pequeñas manchas de color marrón claro, que con el tiempo se deprimieron.

REFERENCIAS

[1] Di Masi, S.; Dobra, A. 1999. Enfermedades de poscosecha. Fruticultura Moderna. 121-125.

[2] Dobra, A.; Rossini, M. 1993. Patógenos de postcosecha: Aspectos epidemiológicos, resistencia a fungicidas y su control. Curso internacional de sanidad en frutales de pepita / INTA EEA Alto Valle. Cap. 11:22.

[3] R. Murray, A.P. Candan, D. Vazquez. *Manual de poscosecha de frutas: Manejo integrado de patógenos. INTA Ediciones.2019.*

[4] Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). <https://www.frac.info/fungicide-resistance-management/by-frac-mode-of-action-group>. Consultado 05 de Mayo 2023.

[5] J.E. Adaskaveg y H. Förster. "New developments in postharvest fungicide registrations for edible horticultural crops and use strategies in the United States". *Postharvest pathology*. 2010. pp 107-117.

[6] J.E. Adaskaveg, H. Förster y D. Chen. "Progress on chemical management of postharvest diseases of subtropical and tropical fruits". *Postharvest Pathology: Next Generation Solutions to Reducing Losses and Enhancing Safety*. 2021. pp 141-152.

[7] Colodner, A. 2011. Optimización de las técnicas de aplicación de productos fitosanitarios en la línea de empaque de manzanas (*Malus domestica*, Borkh). Tesis de Maestría, Universidad de Bologna.

[8] Colodner, A.; Candan, A.P. 2011. Control de podredumbres poscosecha

en cerezas. *Revista Fruticultura & Diversificación* Nº 66, 40-45.

[9] Colodner, A.; Di Masi, S. 2010. Determinación de la efectividad de Penbotec TM 40 SC (pyrimethanil) frente a *Penicillium expansum* y *Botrytis cinerea*, en tratamientos de poscosecha de fruta de pepita. Informe técnico INTA Alto Valle. 100 pp.

[10] A. Colodner y P. Plaza. “Efectividad de control de enfermedades mediante un sistema de ducha de bins”. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 2012.

[11] L. Pisano, M. Gallardo, C. Minué y N. Bachur. “Evaluación de la eficiencia de pirimetanil aplicado con un sistema de pulverización hidráulico sobre la línea de proceso con recirculado de caldo”. Eje temático VI: Biotecnología. Pág. 62. VI Jornadas de divulgación investigación y extensión “Investigar y enseñar para la agroindustria”. 2023.

[12] J.J. Costa, A.E. Margheritis y O.J. Marisco. “Introducción a la Terapéutica Vegetal”. Argentina, Hemisferio Sur. 1979

[13] O. Bastidas. “Conteo celular con hematócrito: uso elemental del hematócrito”.

<https://www.scribd.com/document/105937668/Conteo-Camara-Neubauer> Consultado 05 de mayo de 2023.

[14] J.A. Di Rienzo, F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada y C.W. Robledo. “Software INFOSTAT versión 2020”. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

[15] L.S. King. “Dr. Koch’s Postulates”. *Journal of the History of Medicine and Allied Sciences*, vol.7, no.4, pp.350–361. *JSTOR*, <http://www.jstor.org/stable/24620063>. Consultado 05 de Mayo 2023.